



N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

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

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Appliquée et Environnement

Option : Biochimie et Microbiologie Appliquées

Thème :

**Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques
de *Klebsiella pneumoniae* selon la nature du
prélèvement dans l'hôpital de Mila.**

Présentée par : BOUDJEMAI Chahrazad

BOUTINE Housna

Devant le jury composé de :

M^{lle} RABHI Nour El-Houda

M^{lle} HADEF Sawsen

Mr. BOUBENDIR Abdelhafid

Maitre Assistantes A

Maitre Assistantes A

Maitre de Conférences B

Présidente

Examinatrice

Promoteur

Année Universitaire: 2015/2016

Remerciements

*Avant tout, nous remercions le grand **Dieu** tout puissant qui nous a donné la santé, la force, le courage et la volonté pour réaliser ce travail*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et nos profondes gratitudee à notre encadreur, Monsieur **BOUBENDIR Abdelhafid** Maître de Conférences B au Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila, Nous le remercions pour la confiance qu'il a placé en nous, pour effectuer ce travail. Sa simplicité, sa disponibilité, ses précieux conseils scientifiques qui ont guidé très efficacement notre travail, dont nous avons bénéficié tout au long de notre recherche.*

Nous tenons aussi à remercier profondément les membres du jury :

*M^{elle} **RABHI Nour El-Houda** Maître Assistantes A au Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila, pour avoir accepté de présider le jury.*

*M^{elle} **HADEF Sawsen** Maître Assistantes A au Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nous remercions également les Ingénieurs et les Techniciens du Laboratoire du Département des Sciences de la Nature et de la Vie.

Enfin nous exprimons nos plus profonds remerciements à toutes les personnes qui nous ont apporté leur soutien et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mon très cher père El-Hachmi, qui ma toujours aidé et guidé vers le chemin de la réussite

A ma très chère mère Hasina, Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ; je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale

Mes chers frères Bilal, Housin, Nourddin et Hakime, Merci pour tous les efforts auxquels tu as toujours consentis pour moi voir réussir. Merci pour tes encouragements et tes conseils. Vous restez dans mes pensées et dans mon cœur

Je dédie cette travaille aussi

A mes chères amies : Ahlam, Alima, Bouchra, Houria, Iman et Yamina

A Tous mes amies et mes collègues de promotion 2016

Housna

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mon très cher père

A ma très chère mère

A mes chers frères

A mes chères sœurs

Je dédie cette travaille aussi

A toute ma famille

A Tous mes amies et mes collègues de promotion 2016

Chahrazad



Sommaire

Liste des Abréviations.....	I
Liste des Tableaux.....	V
Liste des Figures.....	VIII
Introduction.....	1

Partie I : Recherche Bibliographique

Chapitre 1 : Caractères généraux de genre <i>Klebsiella</i> spp.....	4
1. Historique.....	4
2. Classification.....	5
3. Caractères généraux.....	6
3.1. Caractères morphologiques.....	6
3.2. Caractères culturels.....	7
3.3. Caractères biochimiques.....	8
3.4. Ecologie et habitat.....	10
4. Pouvoir pathogène et épidémiologie.....	10
5. Facteurs de virulence.....	15
Chapitre 2 : Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques.....	18
1. Classification des antibiotiques.....	18
2. La résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> dans le monde.....	22
2.1. La résistance aux β -lactamines.....	22
2.1.1. La résistance à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique.....	23
2.1.2. La résistance à l'Imipénème.....	25
2.1.3. La résistance à l'Ertapénème.....	28
2.1.4. La résistance à Méropénème.....	29
2.1.5. La résistance à Céfazoline.....	30
2.1.6. La résistance à Céfotaxime.....	31
2.2. La résistance aux Aminosides.....	32
2.3. La résistance aux Phénicolés.....	33

2.4. La résistance aux Cyclines.....	34
2.5. La résistance aux Quinolones.....	35
2.6. La résistance aux Sulfamides (Triméthoprim/Sulfaméthoxazole).....	36
2.7. La résistance aux Polypeptides (Colistine).....	37

Chapitre 3 : La résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques selon la nature de prélèvement.....	39
1. Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques dans le Vagin.....	39
2. Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques dans le Pus.....	41
3. Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques dans les Urines.....	43
4. Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques dans le Sang.....	46

Chapitre 4 : Supports génétiques de la résistance aux antibiotiques chez <i>Klebsiella pneumoniae</i>.....	48
1. Notions de la résistance bactérienne.....	48
2. Types de résistance.....	49
2.1. Résistance naturelle.....	49
2.2. Résistance acquise.....	50
3. Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	50
4. Mécanismes génétiques de la résistance acquise aux antibiotiques chez <i>Klebsiella pneumoniae</i>.....	52
4.1. Résistance par mutation chromosomique.....	52
4.2. Résistance extrachromosomique.....	52
4.2.1. Les plasmides.....	53
4.2.2. Les éléments transposables et les intégrons.....	58
4.2.2.1. Les transposons.....	58
4.2.2.2. Les intégrons.....	58

Partie II : Recherche Expérimentale

1. Matériel.....	63
1.1. Présentation du lieu d'étude.....	63
1.2. Souches bactériennes.....	65

2. Méthodes	66
2.1. Culture et isolement des souches.....	66
2.2. Tests biochimiques d'identification.....	67
2.3. Réalisation pratique de l'antibiogramme.....	69
2.4. Détermination du phénotype de résistance des BLSE.....	76
2.5. Conservation des souches.....	77
2.6. Analyse statistique.....	77
3. Résultats et Discussion	81
3.1. Incidence de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées à l'hôpital de Mila de 2015 à 2016..	92
3.1.1. Incidence de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon l'origine hospitalière ou communautaire.....	92
3.1.2. Incidence de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon le sexe.....	93
3.1.3. Incidence de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon la nature du prélèvement.....	94
3.1.4. Incidence de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon les services hospitaliers.....	95
3.2. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella</i> spp. isolées à l'hôpital de Mila en Algérie de 2007 à 2013.....	97
3.3. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées à l'hôpital de Mila en Algérie de 2015 à 2016.....	109
3.4. Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées à l'hôpital de Mila, de 2014 à 2016 selon la nature de prélèvement : AFC.....	114
3.4.1. Résistance aux antibiotiques dans le Vagin : Cluster I.....	117
3.4.2. Résistance aux antibiotiques dans le Pus : Cluster II.....	118
3.4.3. Résistance aux antibiotiques dans l'Urine: Cluster III.....	121
Conclusion et Perspectives	123
Références	126
Annexes	

Liste des Abréviations

> : Supérieur

≤ : Inférieur ou égal

≥ : Supérieur ou égal

% : Pourcentage

μg : Microgramme

μl : Microlitre

μm : Micromètre

16S : Svedberg (vitesse de sédimentation)

30S : Ribosome bactérien (la petite sous unité)

50S : Ribosome bactérien (la grande sous unité)

AAC : Aminoglycoside Acétyltransferase

AAD : Aminoglycoside Adenyltransferase

ADH : Arginine déshydrogénase

ADN : Acide désoxyrébonucléotide

AFC : Analyse Factorielle des Correspondances

AmpC : Bêta-lactamase chromosomique

Arm : Aminoglycoside resistance methylase

ARNm : Acide Rébonucléotide Messenger

ARNr : Acide ribonucléique ribosomique

BLSE : β-lactamase à spectre étendu

°C : Degrés Celsius

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CC : Citrate Christensen

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CR-KP : Carbapénème-résistant *Klebsiella pneumoniae*

CS : Clinical samples

CS : Citrate de Simmons

CTX-M : Céfoximase-Munich

C3G : Céphalosporines de 3^{ème} génération

DHA : Gène codant pour une Céphalosporinase

DO : Densité optique

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

E. coli : *Escherichia coli*

EMB : Eosine-bleu de méthylène

EPH : Etablissement Public Hospitalier non universitaire

Fos : Gène codant pour les Fosfomycines

GEL : Gélatinase

GLU : Glucose

H₂S : Sulfure d'hydrogène

Inc : Groupe d'incompatibilité du plasmide

IMP : Imipéménase (carbapénémase)

IND : Indole

IS : Séquence d'insertion ou «insertion sequence»

IVU : Infection des voies urinaires

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae*

KPC : *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

KP-CP : *Klebsiella pneumoniae* produisant carbapénémases

Kb : Kilo bases

LAC : Lactose

LCR : Liquide céphalorachidien

LDC : Lysine-Décarboxylase

LPS : Lipopolysaccharide

MAL : Malonate

MBL : Métallo- β -lactamase

mm : Millimètre

Mph2 : 2-Phosphotransférase

NCBI : National Center for Biotechnology Information

NDM : New Delhi metallo- β -lactamase

NIT : Nitrate réductase

NJ : Neighbour-Joining

nm : Nanomètre

ODC : Ornithine-décarboxylase

ONPG : Orthonitrophényl- β -D-galactopyranoside

ORF : Open Reading Frame

ORL : L'Oto-Rhino-Laryngologie

OXA-1 : Oxacillinase

pb : Paire de base

PDA : Phényle alanine désaminase

PDP : Prélèvement distale protégé

PLP : Protéines de liaison aux pénicillines

QepA : Pompe d'efflux Fluoroquinolones

qnr : Quinolone resistance gene

Rmt : ARNr 16S méthyltransférase

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SHV : Sulfhydryl variable

Site A : Site de liaison de l'acide aminé

Site P : Site de liaison de peptide

Spp. : Espèce

SRS : Surveillance rectal swabs

Str : Stréptomycine

Subsp : Sous-espèce

Sul : Gène codant pour les sulfamides

TDA : Tryptophane désaminase

TEM : Temoniera : nom du malade chez qui la première souche a été isolée

TSI : Triple Sugar Iron

UMC : Urgences Médico-chirurgicale

USI : Unités de soins intensifs

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VIM : Verona Imipéménase (Carbapénémase)

VP : Vogues-Proskauer (recherche de l'acétoïne)

Liste des Tableaux

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 1	Caractères biochimiques de l'espèce type <i>K. pneumoniae</i> (Lobril 1998 ; Edler 2001 ; Flaudrois 2004).	9
Tableau 2	Les caractères d'identification du genre <i>Klebsiella</i> spp. et des autres Entérobactéries les plus fréquemment rencontrés (Djelouat 2009).	9
Tableau 3	Le pouvoir pathogène de différentes espèces de <i>Klebsiella</i> spp. (Janda 2006).	13
Tableau 4	Description des épisodes de <i>Klebsiella</i> spp. dans la circulation sanguine (Ortega et al., 2011).	14
Tableau 5	Résumé de facteurs de virulence de <i>K. pneumoniae</i> (Cryz et al., 1984 ; Podschun et Ullmann, 1998 ; Sebghati et al., 1998 ; Spicer 2000 ; Joly et Reynaud, 2002 ; Struve et al., 2008 ; Djelouat 2011; Claudia et al., 2014).	16
Tableau 6	La classification des antibiotiques (Mammeri 2009).	18
Tableau 7	Les principaux antibiotiques utilisés en Algérie (Anonyme 2, 2014).	20
Tableau 8	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition (Anonyme 2, 2014).	21
Tableau 9	Classification des antibiotiques Céphalosporines (Khezar 2013).	21
Tableau 10	Les pourcentages de la résistance aux antibiotiques des souches de <i>K. pneumoniae</i> productrices et non productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées à partir des échantillons d'urine entre Janvier 2010 à Décembre 2012 au Maroc (El Bouamri et al., 2015).	25
Tableau 11	Les pourcentages de la résistance aux antibiotiques des souches de <i>Klebsiella</i> spp. productrices et non productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) en Tunisie (Ben Haj Khalifa et Khedher, 2012).	26
Tableau 12	Sensibilité in vitro aux antibiotiques des Entérobactéries BLSE (Kabbaj et al., 2012).	28
Tableau 13	Profils de sensibilité aux antibiotiques chez les isolat Gram négatif Signifier (Kumar et al., 2014).	40
Tableau 14	Description de la première détection d'une souche résistante à	41

	Colistine dans des échantillons cliniques (CS) en 2012, 2013 et 2014 (Parisi et al., 2015).	
Tableau 15	Les Taux de la sensibilité aux antibiotiques des <i>K. pneumoniae</i> isolées à partir d'échantillons d'urine et de pus contre les antibiotiques de première ligne testés (Shahid et al., 2008).	42
Tableau 16	Modèle de résistance de <i>K. pneumoniae</i> (n=104) à Méropénème et l'Imipénème (Shraddha et al., 2014).	43
Tableau 17	Profils de résistance aux antimicrobiens des isolats cliniques de <i>K. pneumoniae</i> dans l'urine, de deux hôpitaux, dans les années 2007 et 2008, de la ville de Recife, Etat de Pernambuco, Brésil (Cabral et al., 2012).	45
Tableau 18	Profils de résistance aux antimicrobiens de deux souches de <i>K. pneumoniae</i> présent dans le sang (2007 et 2008) de la ville de Recife, Etat de Pernambuco, Brésil (Cabral et al., 2012).	47
Tableau 19	Résistance naturelle chez les Entérobactéries (CA-SFM 2015).	49
Tableau 20	Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (Carle et al., 2009 ; Muylaert et Mainil, 2012).	51
Tableau 21	Résumé des gènes de résistances aux antibiotiques, leurs fonctions, localisation et le phénotype de résistance.	60
Tableau 22	Matériel et produits.	65
Tableau 23	Fréquences d'isolement de 56 souches de <i>K. pneumoniae</i> dans l'hôpital de Mila (2015/2016).	65
Tableau 24	Tests utilisés pour l'identification biochimique de <i>K. pneumoniae</i> (Garnier et Denis, 2007 ; Kouta 2009).	67
Tableau 25	Les étapes de l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) par le logiciel Xlstat 2014.	78
Tableau 26	Résultats de l'identification phénotypique et antibiogramme.	81
Tableau 27	Résultats de l'identification biochimique de <i>K. pneumoniae</i> .	88
Tableau 28	Résultats de l'antibiogramme de 56 souches de <i>K. pneumoniae</i> isolées à l'hôpital de Mila « Sept frères Meghlaoui », de Janvier 2015 à Février 2016. Selon le sexe, l'âge, la nature du prélèvement et le service.	90
Tableau 29	Incidence des souches de <i>K. pneumoniae</i> selon leur origine	93

	hospitalière ou communautaire à l'hôpital de Mila (2015/2016).	
Tableau 30	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon le sexe à l'hôpital de Mila (2015/2016).	94
Tableau 31	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon la nature du prélèvement à l'hôpital de Mila (2015/2016).	95
Tableau 32	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon les services hospitaliers à l'hôpital de Mila (2015/2016).	96
Tableau 33	Antibiorésistance totale de 172 souches de <i>Klebsiella</i> spp. isolées à l'hôpital de Mila en Algérie de 2007 à 2013 (Boubendir 2015).	97
Tableau 34	Antibiorésistance totale de 56 souches de <i>K. pneumoniae</i> isolées à l'hôpital de Mila de 2015 à 2016.	109
Tableau 35	Comparaison des résultats du pourcentage de résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> de 2015-2016 avec les résultats de nos collègues des promotions Master 2007-2013 et 2014-2015 à l'hôpital de Mila.	111
Tableau 36	Antibiorésistance totale de 82 souches de <i>K. pneumoniae</i> isolées à l'hôpital de Mila de 2014 à 2016 (26 : 2014/2015 et 56 : 2015/2016), selon la nature de prélèvement.	114
Tableau 37	Les pourcentages d'évolution de l'antibiorésistance de <i>K. pneumoniae</i> isolées à l'hôpital de Mila, de 2014 à 2016.	115

Liste des Figures

Numéro	Intitulé	Page
Figure 1	Arbre phylogénétique de la famille des Entérobactéries déterminée par méthode neighbour-joining (NJ) avec test bootstrap (Drancourts et al., 2001).	6
Figure 2	Image microscopique de <i>K. pneumoniae</i> (Anonyme 1, 2016).	7
Figure 3	Aspect des colonies de <i>K. pneumoniae</i> sur milieu gélosé (Gueye 2007).	8
Figure 4	Représentation schématique des facteurs de virulences de <i>Klebsiella</i> spp. (Podschun et Ullmann, 1998).	16
Figure 5	Les pourcentages de la résistance de <i>Klebsiella</i> spp. aux différents antibiotiques testés (Tlamçani et al., 2009).	24
Figure 6	Les taux de résistance aux antibiotiques des souches de <i>K. pneumoniae</i> BLSE au Sénégal (Camara et al., 2013).	27
Figure 7	Profil de résistance aux antibiotiques des souches <i>K. pneumoniae</i> productrices de BLSE isolées d'hémoculture (Labid A. 2015).	31
Figure 8	Nombre de souches de <i>K. pneumoniae</i> résistantes et sensibles à Colistine identifiées en 2012, 2013 et 2014. CoR : résistance à Colistine. CoS : sensibilité à Colistine (Parisi et al., 2015).	38
Figure 9	Représentation schématique des différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (Mammeri 2009).	50
Figure 10	Diffusent des gènes de résistance aux antibiotiques (Doublet et al., 2012).	53
Figure 11	La carte génétique circulaire du plasmide pKP048 multi-résistant chez une souche hospitalière <i>K. pneumoniae</i> (pKP048) (Yan et al., 2010).	54
Figure 12	La carte génétique circulaire du plasmide pK245 de <i>K. pneumoniae</i> (Chen et al., 2006).	55
Figure 13	Représentation schématique du plasmide (pKOX-R1) (Huang et al., 2013).	56
Figure 14	Représentation schématique du plasmide PNDM-US (Hudson et al., 2014).	57

Figure 15	Le génome complet du plasmide pKpn2146b (Hudson et al., 2014).	58
Figure 16	Structures d'Integron associés aux gènes <i>bla_{CTX-M}</i> (Eduardo et al., 2010).	59
Figure 17	(a) : Aperçu de la paillasse avant la manipulation ; (b) : Méthode d'ensemencement de <i>K. pneumoniae</i> par stries sur le milieu Hektoen ; (c) : Incubation de <i>K. pneumoniae</i> à l'étuve à 37°C/24h (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).	66
Figure 18	Coulage du milieu Mueller-Hinton en boîtes de Pétri (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).	70
Figure 19	(a, b et c) : Préparation de l'inoculum de <i>K. pneumoniae</i> pour l'antibiogramme (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).	70
Figure 20	(a et b) : Méthode d'ensemencement de <i>K. pneumoniae</i> par strie sur le milieu Mueller-Hinton par l'écouvillon ; (c et d) : Méthode d'ensemencement par inondation, le surplus de l'inoculum est éliminé (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).	71
Figure 21	(a et b) : Méthode d'ensemencement de <i>K. pneumoniae</i> par strie sur le milieu Mueller-Hinton par l'écouvillon ; (c et d) : Méthode d'ensemencement par inondation, le surplus de l'inoculum est éliminé (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).	73
Figure 22	Incubation de <i>K. pneumoniae</i> à l'étuve à 37°C pendant 16 à 24h (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).	74
Figure 23	Les étapes de l'antibiogramme.	75
Figure 24	Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie (Benmesmoudi 2015).	76
Figure 25	(a et b) : Conservation de <i>K. pneumoniae</i> dans le bouillon glycérolé (20%) au congélateur à -20°C (Photos réalisées dans le laboratoire	77

	de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).	
Figure 26	Incidence des souches de <i>K. pneumoniae</i> selon leur origine hospitalière ou communautaire à l'hôpital de Mila (2015-2016).	93
Figure 27	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon le sexe à l'hôpital de Mila (2015/2016).	94
Figure 28	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon la nature du prélèvement à l'hôpital de Mila (2015/2016).	95
Figure 29	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon le service hospitalier à l'hôpital de Mila (2015/2016).	96
Figure 30	Antibiorésistance de <i>Klebsiella</i> spp. isolées à l'hôpital de Mila de 2007 à 2013.	98
Figure 31	Antibiorésistance de <i>K. pneumoniae</i> isolées à l'hôpital de Mila de 2015 à 2016.	110
Figure 32	Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> selon la nature de prélèvement (AFC) à l'hôpital de Mila de 2014/2016.	116

Introduction

Partie I :
Recherche Bibliographique

Partie II :
Recherche Expérimentale

Matériel et Méthodes

Résultats et Discussion

Conclusion et Perspectives

Références

Annexes

Sommaire

Introduction

La résistance des bactéries aux antibiotiques est un phénomène désormais globalisé, touchant l'ensemble des espèces bactériennes d'importance médicale et la totalité des classes d'antibiotiques disponibles. L'apparition de bactéries pathogènes devenues résistantes aux antibiotiques et leur diffusion dans les populations humaines constituent l'un des phénomènes émergents majeurs de ces trente dernières années. Cette évolution se concrétise par des taux élevés de multirésistance de certaines espèces bactériennes qui étaient sensibles il y a cinquante ans. Dans un contexte de décalage croissant entre la progression de la résistance bactérienne vers la multirésistance et les perspectives réduites de découvertes de nouvelles classes d'antibiotiques, la résistance bactérienne est apparue comme une menace pour la santé et donc un enjeu de sécurité sanitaire (HCSP 2010).

Klebsiella est un agent pathogène humain important qui a été associé au cours des dernières décennies, avec des flambées nosocomiales. *Klebsiella* spp. attaque principalement les individus immunodéprimés qui sont hospitalisés et souffrent de maladies sous-jacentes graves telles que le diabète sucré, l'obstruction pulmonaire chronique, infections des voies urinaires, la pneumonie et les infections intra-abdominales. Les infections nosocomiales à *Klebsiella* sont causées principalement par *Klebsiella pneumoniae*, l'espèce médicalement la plus importante (Mohamudha Parveen et al., 2010).

La résistance aux antibiotiques touche surtout les β -lactamines qui sont le pilier majeur de l'antibiothérapie des infections à Entérobactéries. Ces dernières années, de nouvelles résistances ont émergé au sein des Entérobactéries, soit par production de β -lactamases à spectre étendu, en particulier chez *Escherichia coli* à l'hôpital comme en communauté ; soit par production de carbapénémase, en particulier chez *K. pneumoniae* (HCSP 2010)

Ces 20 dernières années, *K. pneumoniae* a démontré des particularités d'acquisition de plasmides exprimant les β -lactamases à spectre élargi (BLSE). Les données de la littérature ont montré une augmentation de la prévalence ainsi qu'un changement dans l'épidémiologie des BLSE chez *K. pneumoniae* durant la dernière décennie (Elhani et al., 2011). Plus de 200 BLSE ont maintenant été décrites et leur diffusion à travers le monde pose un véritable problème de santé publique (Grall et al., 2011). De nombreuses études témoignent de la dissémination quasi-mondiale de ces souches multirésistantes.

Néanmoins, l'incidence varie considérablement selon les pays, les hôpitaux, et les lieux de prélèvements. Les souches d'Entérobactéries sécrétrices de BLSE étaient plus souvent retrouvées en milieu hospitalier. Cependant, on assiste de plus en plus à l'augmentation de la fréquence de ces souches au niveau communautaire. Aux Etats-Unis, la prévalence des Entérobactéries productrices des BLSE varie de 0 à 25% avec une moyenne nationale de 3%. Au Canada, la prévalence de production de BLSE est faible de l'ordre de 0,25% pour *E. coli* et 0,8% pour *Klebsiella* spp. En Europe, la prévalence des BLSE chez les Entérobactéries varie d'un pays à un autre, une étude récente portant sur *E. coli*, *K. pneumoniae* et *Enterobacter* spp. a montré que la prévalence de BLSE est de 4,7% en Europe du Nord contre 13,5% au Sud de l'Europe. Au Japon, le pourcentage de résistance aux β -lactamines par production de BLSE chez *E. coli* et *K. pneumoniae* est assez faible, les travaux ont montré que ce pourcentage est supérieur à 1% pour *E. coli* et 0,3% pour *K. pneumoniae*. Dans d'autres régions d'Asie, la proportion de *E. coli* et *K. pneumoniae* productrices de BLSE varie de 4,8% en Corée à 8,5% à Taiwan et supérieur à 12% à Hong Kong (Labid 2014). De nombreux facteurs ont été cités dans l'augmentation de la fréquence de ces résistances dans les pays en développement. Parmi ces facteurs, nous pouvons citer la mauvaise qualité des médicaments ou une posologie inadéquate, les traitements à long cours, l'usage abusif des antibiotiques par les professionnels de la santé, l'automédication et les mauvaises conditions d'hygiène (Camara et al., 2013). L'Afrique est certainement une des parties du monde où les BLSE ont été décrites depuis le début de l'apparition de cette résistance. La première BLSE décrite en Afrique a été isolée en 1984 en Tunisie. Parmi les pays d'Afrique du Nord, l'Égypte semble avoir la prévalence de *K. pneumoniae* BLSE la plus élevée. L'incidence des BLSE parmi les souches de *K. pneumoniae* en Égypte varient entre 58 et 67%. *K. pneumoniae* semble être l'espèce prédominante en Tunisie avec une prévalence variant de 10 à 32,4% pouvant atteindre 87,5% dans les unités de soins intensifs pédiatriques. La prévalence des souches de *K. pneumoniae* BLSE est de 19,9% en Algérie (Elhani et al., 2011).

Pour évaluer et contrôler la dissémination de la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques dans l'hôpital « Sept Frères Meghlaoui » de Mila, nous avons manipulé 5 souches parmi 56 isolats de *K. pneumoniae* isolées et testées à l'hôpital de Mila de Janvier 2015 à Février 2016. Afin de mieux observer le phénomène de résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* pour une longue durée, notre étude est complétée par celle réalisée par

nos collègues de Master de la promotion 2013/2014 et 2014/2015, de ce fait leurs résultats de 2007 à 2015 sont utilisés, discutés et enrichis.

Les objectifs du présent travail sont :

- Evaluation de l'état du phénomène de la résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* dans l'hôpital de Mila.
- Etude de l'évolution de la résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* par rapports aux études menées les années précédentes.
- Corrélation des profils de résistance aux antibiotiques avec la nature du prélèvement par analyse spatiale en utilisant l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC). Pour améliorer le nombre des répétitions des tests de l'antibiogramme, et mieux observer le phénomène de résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* nous avons décider à renforcer nos résultats de 2015-2016 avec ceux de nos collègues de Master de 2014-2015.

Chapitre 1 : Caractères généraux de genre *Klebsiella* spp.

1. Historique

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

Friedländer (1982) à découvert une bactérie dans les poumons d'un patient décédé d'une pneumonie. Cette bactérie a été nommée *Hyalococcus pneumoniae* (et *K. pneumoniae*).

En 1886 Flügge a isolé une bactérie dite *Bacillus oxytocus perniciosus* à partir du lait. Cette bactérie était nommée *Oxytocom aerobacter* et *Klebsiella oxytoca*.

Cowan et al. (1960) ont subdivisé *K. pneumoniae* sensu lato en *K. pneumoniae (stricto Sensu)*, *K. aerogenes*, *K. edwards* subsp. *Edwards* et *K. edwards* subsp. *atlantae*. Ainsi *K. ozaenae* et *K. rhinoscleromatis* ont été traitées comme des sous-espèces de *K. pneumoniae* dans le Manuel de systématique Bactériologique de Bergey.

Abel (1893) a observé un bacille encapsulé, *Bacillus mucosus ozaenae* dans la sécrétion nasale des patients atteints d'ozène. D'après Bergey et al. (1925) la bactérie a été plus tard transférée au genre *Klebsiella* (*K. ozaenae*).

Sakazaki et al. (1989), ont proposé le nom «*K. ornithinolytica* " pour ornithine-positif, des souches indole-positives de *Klebsiella*.

Calymmatobacterium granulomatis a été proposé pour être transféré au genre *Klebsiella* comme *K. granulomatis* (Sylvain et al., 2006).

2. Classification

La classification phylogénique de *Klebsiella* spp. Selon Bergey en 2004 (Delarras 2007), est la suivante :

Règne : Bactéria

Embranchement : Protéobactéria

Classe : Gamma Protéobactéria

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Klebsiella*

On distingue sept espèces : *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*, *K. planticola*, *K. terrigena*, *K. ornitholytica* (Fauchere et Avril, 2002).

Le genre *Klebsiella* comporte actuellement cinq espèces, *K. pneumoniae* (comportant 3 sous espèces : *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp. *ozanae* et *K. pneumoniae* subsp. *Rhinoscleromatis*), *K. oxytoca*, *K. ornithinolytica*, *K. terrigena* et *K. planticola* (Farah et Boutefnouchet, 2007).

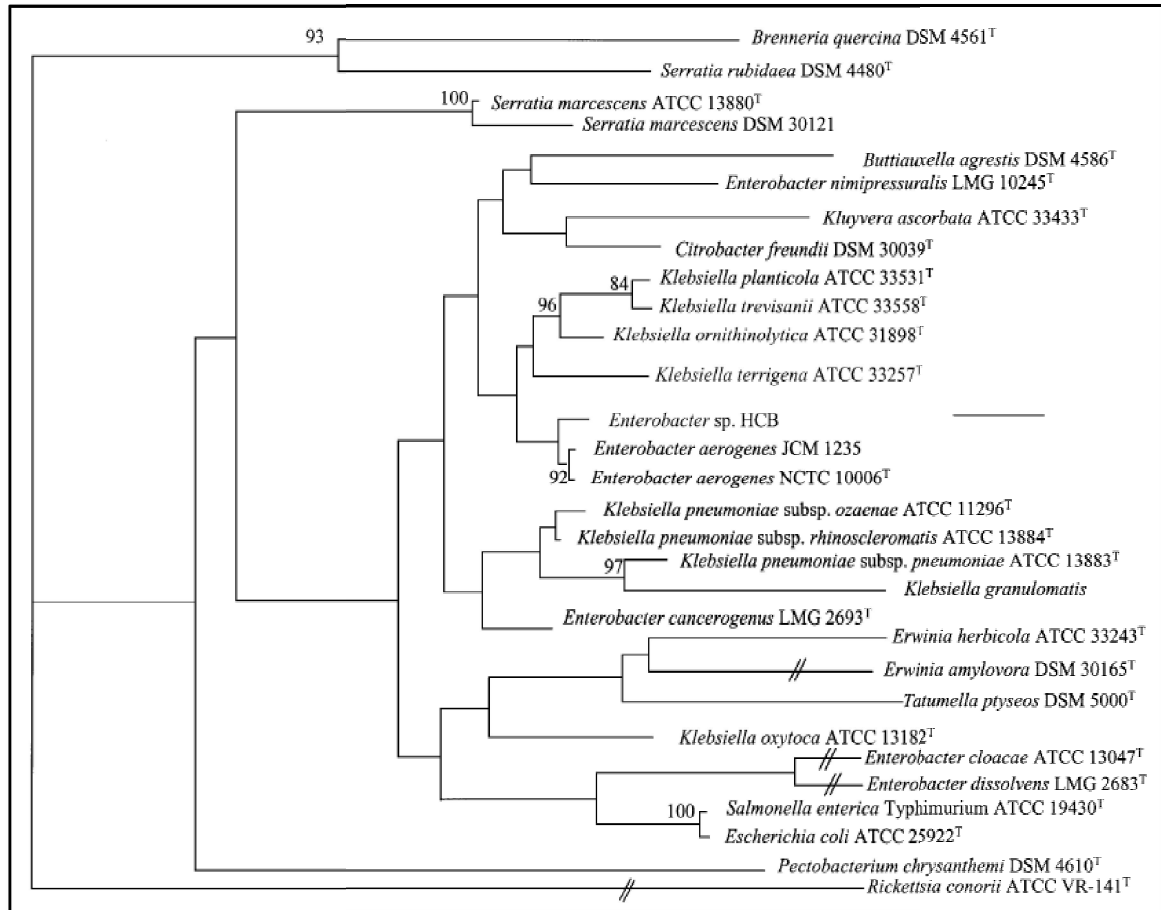


Figure 1 : Arbre phylogénétique de la famille des Entérobactéries déterminée par méthode neighbour-joining (NJ) avec test bootstrap (Drancourts et al., 2001).

3. Caractères généraux

3.1. Caractères morphologiques

Le genre *Klebsiella* rassemble des bacilles à Gram négatif de 0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 0,6 à 6 µm de longueur, se présentant de manière isolés, ou groupés par deux ou en courtes chaînes et présentant les caractères généraux de la famille des *Enterobacteriaceae* (Ayan 2003 ; Jonas et al., 2004).

Ce sont des bactéries immobiles, non sporulées, aéro-anaérobies et très souvent encapsulées, cette capsule de nature polysaccharidique contient des acides glycuroniques et galacturoniques, et de 2 à 4 sucres (galactose, glucose, mannose, fucose et rhamnose) (Diallo 2010).



Figure 2 : Image microscopique de *K. pneumoniae* (Anonyme 1, 2016).

3.2. Caractères cultureux

K. pneumoniae se développe en aéro-anaérobiose. Sur les milieux classiques d'isolement pour Entérobactéries (Drigalski, Hektoen, Mac Conkey, l'agar-éosine-bleu de méthylène «EMB»), après une incubation de 18 à 24h à 30 ou à 37°C, les colonies sont d'un diamètre de 3 à 4 mm, lisses, lactose positives, bombées, brillantes, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine.

En milieu liquide (bouillon nutritif, eau peptonée), la culture est rapide (quelques heures) à 30 et 37°C pour *K. pneumoniae* avec parfois dépôt muqueux et collerette visqueuse en surface.

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



Figure 3 : Aspect des colonies de *K. pneumoniae* sur milieu gélosé (Gueye 2007).

3.3. Caractères biochimiques

K. pneumoniae est une Entérobactérie appartenant au genre *Klebsiella*. Il s'agit d'un bacille à Gram négatif toujours immobile et très souvent capsulé poussant sur milieu ordinaire en atmosphère aéro-anaérobie, oxydase négative, fermentant le glucose et le lactose en produisant du gaz, produisant de l'indole et une uréase et fermentant l'acétone (réaction de Voges-Proskauer), réduisant les nitrates en nitrites (Naas et al., 2008).

L'identification phénotypique de *K. pneumoniae* repose essentiellement sur les caractères biochimiques différentiels illustrés dans le Tableau 1 (Lobril 1998 ; Edler 2001 ; Flaudrois 2004).

Tableau 1 : Caractères biochimiques de l'espèce type *K. pneumoniae* (Lobril 1998 ; Edler 2001 ; Flaudois 2004).

TESTS	ADH	ONPG	CC	CS	GEL	H ₂ S	IND	MAL	PDA	LDC	ODC	TDA	UREE	NIT	GLU	LAC	VP
RESULTAT	-	+	+	+	-	-	+	+/-	+/-	+	-	-	+	-	+	+	+

(+) : Caractère positif ; (-) : Caractère négatif ; (+/-) : Caractère inconstant.

Les caractères d'identification du genre *Klebsiella* spp. et des autres Entérobactéries les plus fréquemment rencontrés sont illustrés dans le Tableau 2 (Djelouat 2009).

Tableau 2 : Les caractères d'identification du genre *Klebsiella* spp. et des autres Entérobactéries les plus fréquemment rencontrés (Djelouat 2009).

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP (Acétoïne)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
PDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H ₂ S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

* à 20°C seulement, (+) : Résultat positif, (-) : Résultat négatif, (+/-) : Résultat variable.

3.4. Ecologie et habitat

K. pneumoniae subsp. *pneumoniae* est une espèce isolée dans l'environnement à partir d'échantillons de sol, d'eaux de surface, d'eaux usées, de végétaux (Kumar 2011), et de muqueuses des mammifères, en particulier de la flore fécale (Bagley 1985 ; Brisse et Duijkeren, 2005). Chez l'homme, cette espèce végète sur la peau, les muqueuses, les voies respiratoires supérieures et elle est isolée des selles chez 30% des individus. Pour ce qui est des infections nosocomiales, le tube digestif des patients hospitalisés et les mains du personnel sont les deux sources principales (Haverkorn et Michel, 1979). Les deux sous-espèces *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* et *K. pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis* n'ont été isolées qu'en situation pathogène de l'arbre respiratoire de l'homme (Dancourt et al., 2001).

4. Pouvoir pathogène et épidémiologie

L'infection nosocomiale se définit par l'envahissement de l'organisme par un agent étranger, comme une bactérie ou un virus, provoquant un état pathologique par une lésion des cellules locales, une libération de substances toxiques ou par une réaction intracellulaire germe-anticorps (Abesaid et al., 1999 ; Kaoutar et al., 2004 ; RAISIN 2009).

Une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si elle était absente à l'admission à l'hôpital. Ce critère est applicable à toute infection. Lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire. Toutefois, il est recommandé d'apprécier, dans chaque cas douteux, la pertinence du lien causal entre hospitalisation et infection (Reinert 2010).

K. pneumoniae a été isolée pour la première fois dans les poumons. Plus tard, elle a été décrite comme un microorganisme saprophyte, non seulement la colonisation du tractus gastro-intestinal humain, de la peau et du nasopharynx, mais aussi capable de causer des infections des voies urinaires et biliaires, ostéomyélite et la bactériémie. A partir du début des années 1970, l'épidémiologie de *K. pneumoniae* et son spectre d'infection ont changé de manière significative. Lorsque ce micro-organisme a été isolé dans le milieu hospitalier, il est devenu une des principales causes d'infections nosocomiales, en particulier dans les pays occidentaux développés. Les infections nosocomiales les plus fréquentes causées par

cet agent impliquent les voies urinaires, les plaies, les poumons, cavité abdominale, les dispositifs intra-vasculaires, des sites chirurgicaux, des tissus mous et de bactériémie ultérieure (Claudia et al., 2014).

Klebsiella est la deuxième après *E. coli* impliquée dans les infections nosocomiales à Gram-négatif, ainsi que dans les infections des voies urinaires (IVU) et affectant les patients cathétérisés (16% et 70% respectivement).

Un taux élevé de *K. pneumoniae* dans les infections urinaires (de 6% à 17%) a été signalé dans des études antérieures menées dans des groupes spécifiques de patients à risque, par exemple, les patients atteints de diabète sucré ou avec des vessies neuropathiques.

En ce qui concerne la bactériémie associée à cathéters intravasculaires, une étude épidémiologique sur les infections sanguines effectuée en Israël (Palestine) a révélé que *S. aureus* sont les espèces les plus communes (30%), suivi par *K. pneumoniae* (10%).

En 2013, l'incidence de *K. pneumoniae* dans les infections cliniques a été estimée aux États-Unis à être plus élevée dans les hôpitaux de soins actifs à long terme, par rapport à de courts séjours hospitaliers unités de soins intensifs.

Dans une étude prospective sur les infections nosocomiales réalisée à Rome dans la période Janvier 2002 à Décembre 2004, *K. pneumoniae* a été signalée comme la deuxième espèce Gram-négatif la plus fréquente (11%) après *Pseudomonas* (25%).

Dans des études récentes de méta-analyse (2000-2010), les infections de plaies à Gram négatif chez l'adulte hospitalisé patients brûlés, *K. pneumoniae* a été rapportée comme un des agents pathogènes Gram-négatif les plus courants après *P. aeruginosa* (Claudia et al., 2014).

Les espèces du genre *Klebsiella* sont d'importantes pathogène communes, 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%).

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 elles peuvent survivre quelques mois, comparativement à quelques jours ou semaines chez l'adulte. Le risque d'infection et le taux de portage de *Klebsiella* augmentent avec la durée du séjour à l'hôpital ; d'après une étude, le taux de portage augmente de 11 à 42% en 14 jours d'hospitalisation (Janda 2006).

Par ailleurs, les taux d'infection et de portage augmentent avec l'utilisation d'agents antimicrobiens, ce qui conduit en général à l'apparition de bêtalactamases à large spectre qui confèrent une résistance aux antibiotiques. *K. pneumoniae* est l'espèce du genre *Klebsiella* la plus pathogène pour l'humain, suivie de *K. oxytoca* (Podschun et Ullmann, 1998).

Classiquement, les Klebsielles ne sont pas considérées comme agents de toxi-infections alimentaires. Toutefois, lors d'une toxi-infection alimentaire, une souche de *K. pneumoniae* du type capsulaire 15 et capable de produire une exotoxine de type thermolabile a été isolée de la viande et des selles des malades (Guiraud 1998).

Récemment, *K. pneumoniae* devient une cause de plus en plus fréquente de diarrhée chronique chez les adultes infectés par le VIH en Afrique. *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont des agents étiologiques importants des abcès cérébraux et de la méningite d'origine communautaire en Asie, principalement à Taïwan. D'après certains rapports, les espèces du genre *Klebsiella* sont responsables de 16 à 43% des abcès cérébraux et des infections du système nerveux central. Il a été démontré que les souches de *K. pneumoniae* présentes dans l'environnement sont aussi virulentes que les souches cliniques ; toutefois, il reste à déterminer si cela est également vrai pour les autres espèces du genre *Klebsiella* (Podschun et al., 2001).

Tableau 3 : Le pouvoir pathogène de différentes espèces de *Klebsiella* spp. (Janda 2006).

Infections	L'espèce
Maladies respiratoire	<p>-<i>K. pneumoniae</i> : est une cause importante de pneumonie et d'abcès pulmonaires d'origine communautaire ou nosocomiale. L'infection du lobe supérieur est plus fréquente. Les principaux symptômes sont la fièvre, les frissons, la leucocytose et les crachats de type « gelée de groseille ». Les complications rares sont notamment l'infection pulmonaire évoluant en nécrose et en désagrégation touchant l'ensemble du lobe.</p> <p>-<i>K. ozaenae</i> : provoque l'ozène, une rhinite atrophique primaire caractérisée par une inflammation chronique du nez.</p> <p>-<i>K. rhinoscleromatis</i> : cause le rhinosclérome, une infection granulomateuse chronique qui touche surtout la cavité nasale.</p>
Infections du système nerveux central	<p>-<i>K. pneumoniae</i> et <i>K. oxytoca</i> : sont une cause de méningite et d'abcès cérébral d'origine communautaire. Les symptômes cliniques incluent les suivants : céphalées, fièvre, altération de l'état de conscience, crises convulsives et choc septique.</p> <p>-<i>K. ozaenae</i> : est associée à de rares cas d'abcès cérébral et de méningite.</p>
Infections urinaires	<p>Les espèces du genre <i>Klebsiella</i> sont une cause fréquente d'infections urinaires. On fait état de cas graves de bactériurie imputables à <i>K. ozaenae</i>.</p>
Maladie hépatique	<p>-<i>K. pneumoniae</i> : est un agent étiologique important des abcès pyogènes du foie, dont les symptômes incluent de la fièvre, des douleurs au niveau du quadrant supérieur droit, des nausées, des vomissements, de la diarrhée ou des douleurs abdominales, et une leucocytose. Les abcès surviennent surtout dans le lobe droit et sont solitaires.</p>

Autres infections	- <i>K. granulomatis</i> : cause la donovanose ou le granulome, une affection chronique ulcéreuse qui touche principalement les organes génitaux. Les principaux symptômes sont l'apparition de petites papules ou d'ulcères au point d'inoculation qui se transforment ensuite en ulcères rouges de grande taille (lésions) bordant les replis humides des organes génitaux.
--------------------------	---

Tableau 4 : Description des épisodes de *Klebsiella* spp. dans la circulation sanguine (Ortega et al., 2011).

Démographie, détails cliniques et les résultats	les valeurs, n (%) (Total N = 910)
Age en années (moyenne ± écart type)	64 ± 17
Sexes (homme)	498 (55)
Co –morbidité	
Cancer d'organes solides	216 (24)
Le diabète sucré	188 (21)
Maladies cardiaques chronique	120 (13)
Cancer hématologique	96 (11)
La cirrhose du foie	97 (11)
Insuffisance rénale chronique	75 (8)
Trasplantation solide d'organes	76 (8)
Neutropénie	61 (7)
Les maladies de poumons chronique	63 (7)
Infection par le VIH	19 (2)
Hématopoïétique trasplantation de cellules	20 (2)
Sans comorbidité	201 (22)
Pronostic de la maladie sous-jacente	
En fin de compte, rapidement mortelle	382 (42)
Origine de la bactériémie	
Nosocomiales acquises	540 (59)
Les corticostéroïdes	163 (18)
Source de bactériémie	
Infection des voies urinaires	281 (31)
Source Inconnu	186 (20)
Accent biliaire	139 (15)
Infection liée au cathéter de sang	134 (15)
Pneumonie	66 (7)
Accent abdominale	58 (6)
L'infection de la peau et des tissus mous	19 (2)

Choc	157 (17)
Mortalité	96 (11)

5. Facteurs de virulence

Les facteurs de pathogénicité des espèces du genre *Klebsiella* comprennent des adhésines, des sidérophores, des polysaccharides capsulaires, des lipopolysaccharides de surface cellulaire (LSP) et des toxines, qui jouent chacun un rôle particulier dans la pathogénèse associée à ces espèces. Selon le type d'infection et le mode d'infectivité, les bactéries du genre *Klebsiella* peuvent, en vue de les attaquer, adhérer aux cellules épithéliales des voies respiratoires supérieures, aux cellules du tractus gastro-intestinal, aux cellules endothéliales ou aux cellules uroépithéliales, avant de coloniser les muqueuses (Janda 2006).

Les Entérobactéries dont *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* sont naturellement résistants, le plus souvent à bas niveau, aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (Pénicilline G, Macrolides, Rifampicine, Acide Fusidique, Novobiocine et Vancomycine) car ces antibiotiques ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi. *K. pneumoniae* est naturellement résistante à l'Amoxicilline, Ampicilline et Ticarcilline, grâce à une β -lactamase chromosomique naturelle (Pina et al., 2000).

Les plasmides sont des ADN circulaires extra chromosomiques. Ils codent pour des mécanismes de résistances aux antibiotiques, pour des caractères métaboliques et des facteurs de virulence (Nicklin et al., 2000 ; Galani et al., 2002).

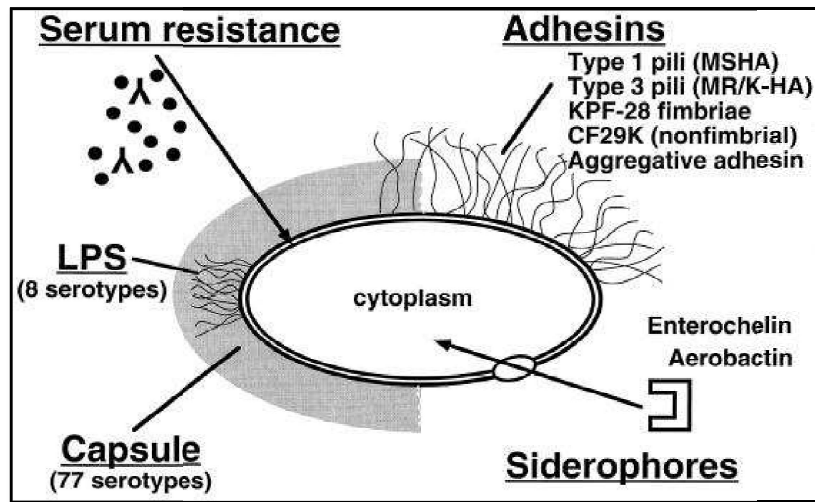


Figure 4 : Représentation schématique des facteurs de virulences de *Klebsiella* spp. (Podschun et Ullmann, 1998).

Les facteurs de virulence de *K. pneumoniae* sont résumés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Résumé de facteurs de virulence de *K. pneumoniae* (Cryz et al., 1984 ; Podschun et Ullmann, 1998 ; Sebghati et al., 1998 ; Spicer 2000 ; Joly et Reynaud, 2002 ; Struve et al., 2008 ; Djelouat 2011 ; Claudia et al., 2014).

<p>La capsule</p>	<p>La majorité des souches de <i>K. pneumoniae</i> produisent une capsule de nature Polysaccharidique. La taille des capsules et leur spécificité (type antigénique capsulaire) sont des facteurs de pathogénicité. Les capsules protègent les bactéries contre la phagocytose, contre l'action bactéricide du sérum et elles s'opposent à la pénétration des antibiotiques.</p> <p>Parmi les 77 sérotypes capsulaires K1, K2, K21 et K55 sont associés aux souches les plus virulentes.</p>
<p>Pili (Fimbriae)</p>	<p>Différentes adhésines ont été mises en évidence chez <i>K. pneumoniae</i>. Le terme d'adhésine est utilisé pour la dénomination de molécules variées impliquées dans l'adhésion des bactéries aux cellules de l'hôte.</p> <p>Ces molécules jouent un rôle essentiel dans la première étape du processus infectieux. Les propriétés d'adhésion des <i>Enterobacteriaceae</i> sont généralement médiées par différents types de pili ou fimbriae (fimbriae pour l'adhésion aux cellules et pili pour les appendices formes lors de la</p>

	conjugaison). Les deux types de fimbriae les plus rencontrés chez <i>K. pneumoniae</i> sont le type 1 et le type 3.	
	Les fimbriae de type 1	Les fimbriae de type 3
	sont les mieux connus et sont présents chez la majorité des Entérobactéries. Ils ont la plus grande capacité d'adhésion. Ils sont impliqués dans la colonisation des tractus respiratoire et urinaire.	Les propriétés des fimbriae de type 3 sont moins bien connues. Ils sont impliqués dans l'adhésion de <i>K. pneumoniae</i> à différents types cellulaires, par exemple aux épithéliums urinaire et respiratoire. Ces structures semblent faciliter l'adhésion à des supports inertes et avoir un rôle dans la formation de biofilm, elles pourraient participer à la physiopathologie des infections urinaires sur sonde.
Sidérophores	Les souches de <i>K. pneumoniae</i> sont aptes à synthétiser des sidérophores (systèmes de chélation du fer) de type aérobactine (hydroxamate) et entérochéline (phénolate) qui favorisent la multiplication bactérienne dans les tissus.	
Lipopolysaccharides	Les micro-organismes pathogènes ont développé des stratégies pour lutter contre l'effet bactéricide du sérum. En raison de leurs propriétés endotoxiques, LPS sont considérés comme importants dans la pathologie de la septicémie. Les LPS du <i>Klebsiella</i> spp. ont été généralement considérés comme masqués par les polysaccharides de la capsule et donc de ne pas être exposés sur surface. Les chaînes polysaccharidiques terminales (chaînes O spécifiques) du lipopolysaccharide protègent les bactéries de l'activation du complément et des anticorps spécifiques.	
la formation de biofilm	La résistance intrinsèque aux agents antimicrobiens augmente considérablement lorsque des souches de <i>K. pneumoniae</i> se développent comme un biofilm.	

Chapitre 2 : Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

1. Classification des antibiotiques

Sur base de l'étymologie du mot « antimicrobien » (du grec *anti* : contre, *mikros* : petit et *bios* : vie), on définit un composé de ce type comme toute substance capable d'agir contre la vie des microorganismes. L'adjectif antibiotique (du grec *anti* : contre, *biotikos* : concernant la vie) utilisé pour la première fois en 1889, en référence à une substance synthétisée par un organisme pour en détruire un autre, se précisera plus tard, comme une substance chimique produite par un microorganisme et disposant en solution diluée de la capacité d'inhiber sélectivement la croissance voir même de détruire d'autres microorganismes (Muylaert et Mainil, 2012).

Les antibiotiques sont des substances chimiques élaborées naturellement par les microorganismes, semi-synthétiques ou synthétiques (Lavigne 2007). Ces substances d'origine naturelle exercent une toxicité sélective à des concentrations très faibles, non toxique pour l'hôte lors de traitement d'infections bactériennes. Les antibiotiques peuvent avoir un effet bactéricide (destruction des bactéries) ou bactériostatique (inhibition de la croissance bactérienne). La spécificité d'action des antibiotiques s'appuie sur les différences métaboliques et structurales existantes entre les cellules procaryotes et eucaryotes. L'ensemble des bactéries affecté par un antibiotique donné est appelé le spectre d'activité de cet antibiotique. Les antibiotiques efficaces contre de nombreuses bactéries à Gram positif et négatif sont dits à "large spectre", tandis que ceux actifs uniquement contre certaines bactéries à Gram positif ou bien à Gram négatif sont dits à "spectre étroit" (Walsh 2003).

Le Tableau 6 résume la classification des antibiotiques selon leur cible, leur mode d'action et leur spectre d'action et enfin leur type d'action.

Tableau 6 : La classification des antibiotiques (Mammeri 2009).

Cible	Classe	Exemple	Type d'action	Mode d'action	Spectre d'action
Paroi cellulaire	Fosfomycines	Fosfomycine	Bactéricide	Inhibition de la Pyruvyl transférase	Gram ⁺ Gram ⁻
	Glycopeptides	Vancomycine	Bactéricide	Blocage de la synthèse du peptidoglycane	Gram ⁺

Partie I : Recherche Bibliographique

	β -lactamines	Pénicilline	Bactéricide	Fixation et inhibition des PLP	Gram ⁺
	Céphalosporines	Céfotaxime	Bactéricide	Fixation et inhibition des PLP	Gram ⁺ Gram ⁻
Membrane plasmique	Polymyxines	Polymexine B (Colistine)	Bactéricide	Interaction avec les Phospholipides membranaires	Gram ⁻
	Lipopeptides	Daptomycine	Bactéricide	Formation des canaux ioniques	Gram ⁺ Gram ⁻
Synthèse des acides nucléiques	Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	Bactéricide	Inhibition des topoisomérases II et IV	Gram ⁺ Gram ⁻
	Quinolones	Acide Nalidixique	Bactéricide	Inhibition des topoisomérases II et IV	Gram ⁺ Gram ⁻
	Imidazolés	Métronidazole	Bactéricide	Fixent sur l'ADN et provoquent l'oxydation et coupures des brins d'ADN	Gram ⁺ Gram ⁻
	Rifamycines	Rifampicine	Bactéricide	Blocage de la transcription par l'inhibition de l'ARN polymérase	Gram ⁺ Gram ⁻
	Nitrofuranes	Nifuroxazide	Bactéricide ou Bactériostatique Selon la dose	Fixent sur l'ADN et provoquent l'oxydation et coupures des brins d'ADN	Gram ⁺ Gram ⁻
	Ansamycines	Rifamicine	Bactéricide	Empêchent l'initiation de la synthèse des ARNm	Gram ⁺ Gram ⁻
Synthèse des protéines	Aminosides	Gentamicine	Bactéricides	Fixation sur la sous-unité 30S du ribosome	Gram ⁺ Gram ⁻
	Tétracyclines	Doxycycline Minocycline	Bactériostatique	Inhibition de la fixation de l'ARN de transfert aminoacylé à la sous unité 30S	Gram ⁺ Gram ⁻
	Glycylcyclines	Tigécycline	Bactériostatique	Inhibition de la fixation de l'ARN de transfert aminoacylé à la sous unité 30S	Gram ⁺ Gram ⁻
	Macrolides	Erythromycine	Bactériostatiques sauf la Pristinamycine	Inhibition de l'élongation de la chaîne peptidique par fixation au site P de la sous-unité 50S	Gram ⁺ Gram ⁻
	Kétolides	Télithromycine	Bactériostatique	Fixation sur un site supplémentaire de la sous-unité 50S par rapport aux Macrolides	Gram ⁺ Gram ⁻
	Streptogramines (ou Synergistines)	Pristinamycine	Bactériostatique	Fixation sur la sous-unité 50S ; augmentent l'affinité entre le ribosome et le dernier antibiotique	Gram ⁺ Gram ⁻
	Oxazolidinones	Linézolide	Bactériostatique	Fixation sur un site du ribosome 50S empêchant l'assemblage ultérieur avec la sous unité 30S	Gram ⁺
	Phénicolés	Chloramphénicol	Bactériostatique	Fixation préférentiellement sur le site A de la sous-unité 50S par rapport au Macrolides	Gram ⁺ Gram ⁻
	Acide Fusidique	Acide Fusidique	Bactéricide ou Bactériostatique Selon la dose	stabilisant le complexe ribosome-facteur d'élongation.	Gram ⁺
Métabolisme de l'Acide Folique	Sulfamides	Sulfaméthoxazole	Bactériostatique	inhibition de la dihydroptéroate synthétase	Gram ⁺ Gram ⁻
	Diaminopyrimidine	Triméthoprime	Bactériostatique	Inhibition de la dihydrofolate réductase	Gram ⁺ Gram ⁻

Le tableau 7 illustré les principaux antibiotiques utilisés en Algérie.

Tableau 7: Les principaux antibiotiques utilisés en Algérie (Anonyme 2, 2014).

Famille	Exemple	Abréviation
β-lactamines	Pénicilline	PEN
	Oxacilline	OX
	Cloxacilline	CLOX
	Ampicilline	AM
	Amoxicilline	AMX
	Amoxicilline/Acide Clavulanique	AMC
	Ticarcilline	TIC
	Ticarcilline/Acide Clavulanique	TCC
	Pipéracilline	PIP
	Céfalexine	LEX
	Céfazoline	CZO
	Céfalotine	CEF
	Céfprome	CPO
	Céfoxitine	FOX
	Céfotaxime	CTX
	Céfotétan	CTT
	Céfotétan+400µg Acide boronique	CTT+bor
	Céftiofur	TIO
	Céftriaxone	CRO
	Céftazidime	CAZ
	Aztréonam	ATM
	Imipénème	IPM
	Céfuroxime	CXM
Pipéracilline/tazobactam	TAZ	
Acide Clavulanique	AC	
Céftazidime/Acide Clavulanique	CAZ CLAV	
Imipénème/EDTA	IM+ED	
Méropénème	MER	
Ertapénème	ERT	
Aminosides	Gentamicine	GEN
	Gentamicine Haut niveau	GEH
	Streptomycine	STR
	Streptomycine Haut niveau	STH
	Kanamycine	KAN
	Amikacine	AMK
	Tobramycine	TOB
	Nétilmicine	NET
	Spectinomycine	SPT
	Néomycine	NEO
Cyclines	Tétracycline	TCY
	Doxycycline	DOX
Macrolides	Erythromycine	ERY
	Azithromycine	AZM
	Clindamycine	CLI
	Pristinamycine	PRI
	Spiramycine	SPI
	Tilmicosine	TIL
Phénicolés	Chloramphénicol	CHL
Polypeptides	Colistine	COL
Glycopeptides	Vancomycine	VAN
	Teicoplanine	TEC
Sulfamides et associés	Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	SXT
	Triméthoprim	TMP

Quinolones	Acide Nalidixique Ciprofloxacine Ofloxacine	NAL CIP OFX
Nitrofurantoïnes	Furanes	NIT
Autres	Acide Fusidique Rifampicine Fosfomycine	FUS RIF FOS

Le Tableau 8 résume les normes de la résistance aux antibiotiques.

Tableau 8 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition (Anonyme 2, 2014).

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Ampicilline	10µg	≤13	14-16	≥17
Amoxicilline/Ac.Clavulanique	20 /10µg	≤13	14-17	≥18
Céfazoline	30µg	≤19	20-22	≥23
Céfalotine	30µg	≤14	15-17	≥18
Céfoxitine	30µg	≤14	15-17	≥18
Céfotaxime	30µg	≤22	23-25	≥26
Céftazidime	30µg	≤17	18-20	≥21
Aztréonam	30µg	≤17	18-20	≥21
Imipénème	10µg	≤19	20-22	≥23
Ertapénème	10µg	≤19	20-22	≥23
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15
Acide Nalidixique	30µg	≤13	14-18	≥19
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥21
Chloramphénicol	30µg	≤12	13-17	≥18
Colistine	10 µg	≤10	-	≥11
Furanes	300µg	≤14	15-16	≥17
Fosfomycine	200µg	≤12	13-15	≥16
Triméthoprime/Sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	≤10	11-15	≥16
Vancomycine	30 µg	≤14	15-16	≥17
Pristinamycine	15 µg	≥15	16-18	≥19

Tableau 9 résume la classification des antibiotiques Céphalosporines.

Tableau 9 : Classification des antibiotiques Céphalosporines (Khezar 2013).

Céphalosporines	Spectre
1^{ère} Génération	
Céfazoline	<i>Streptocoques b, Staphylococcus aureus.</i>
Céfalotine	<i>c</i>

Céfapirine	
Céfalexine	
Céfadroxil	
Céfradine	
2^{ème} génération	
Céfamandole	<i>Escherichia coli, Klebsiella, Proteus, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis</i>
Céfuroxime	
Céfoxitine	
Céfotétan	
Cefmetazole	
Céfaclor	
Cefprozile	
Cefpodoxime	
Loracarbef	
3^{ème} génération	
Céfotaxime	<i>Pseudomonas aeruginosa, Serratia, Neisseria gonorrhoeae, activité pour S. aureus, Streptococcus pneumoniae, entérobactéries</i>
Céftriaxone	
Céftizoxime	
Céftazidime	
Céfopérazone	
Céfixime	
4^{ème} génération	
Cefepime	Leurs spectres est comparable à 3 ^{ème} génération, mais ils montrent plus de résistance à bêtalactamases
5^{ème} génération	
Ceftaroline	La pneumonie, des infections cutanées et des tissus mous
Ceftobiprole	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline

2. La résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* dans le monde

Pour déterminer les profils de résistance aux antibiotiques des souches de *K. pneumoniae* dans le monde, différents chercheurs ont réalisé des tests de sensibilité aux antibiotiques. Les résultats de ces recherches sont illustrés dans ce chapitre.

2.1. La résistance aux β -lactamines

Les β -lactamines (Pénicillines, Céphalosporines, Carbapénèmes et Monobactams), constituent la famille d'antibiotiques la plus prescrite dans le monde. Dès le début de leur utilisation extensive, dans les années 1940, ces antibiotiques ont été confrontés au contrepoint de la résistance, avec l'apparition dès 1942 de la première souche de *S. aureus*

résistante à la Pénicilline par production de pénicillinase. Dès lors, s'est engagée une course permanente entre résistance bactérienne d'une part, et développement de nouvelles molécules d'autre part.

Les Céphalosporines sont considérées comme le groupe le plus important des antibiotiques aujourd'hui, qui sont sûrs, pas chères et très efficaces pour lutter contre les infections bactériennes causées par la variété des bactéries, y compris *K. pneumoniae*. Les bactéries Gram négatif causant des infections nosocomiales de l'appareil respiratoire, tractus gastro-intestinal, des voies urinaires, du sang et de la peau sont la cible principale de Céphalosporines (Hussain et al., 2014).

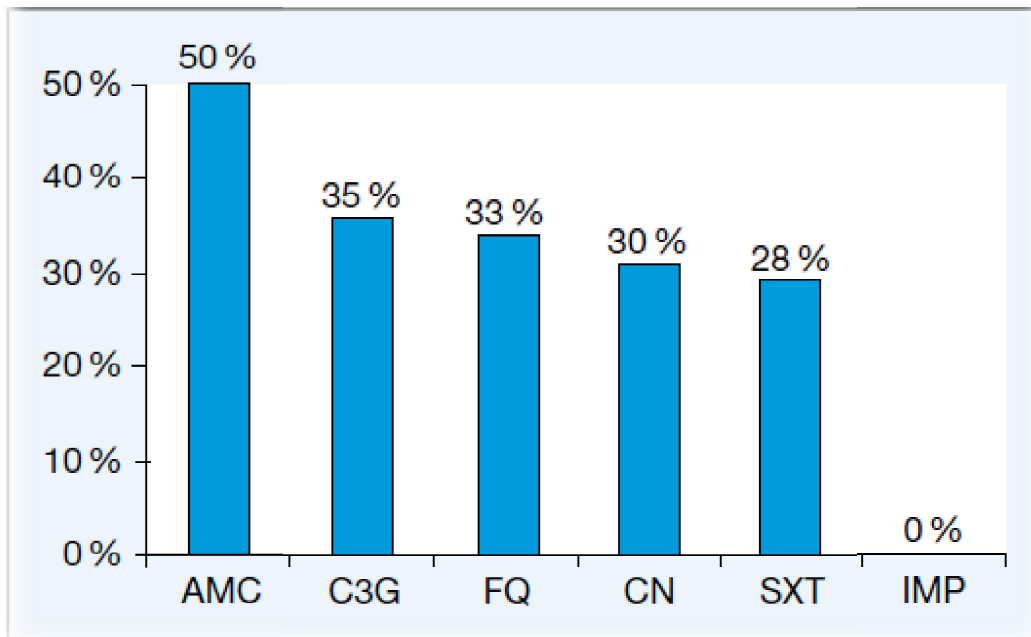
L'introduction des céphalosporines de troisième génération (C3G) en pratique clinique au début des années 1980, permettant de lutter contre les infections à germes producteurs de pénicillinases, a été suivi, dès 1983, de la description de la première β -lactamase à spectre élargi (BLSE) chez *K. pneumoniae* en Allemagne (Grall et al., 2011).

Les Carbapénèmes, derniers Antibiotiques de la classe des β -lactamines, ont un très large spectre antibactérien et possèdent une grande stabilité vis-à-vis de la quasi-totalité des β -lactamases. Quatre molécules sont actuellement disponibles sur le marché : l'Imipénème depuis 1986, le Méropénème depuis 1997, l'Ertapénème depuis 2002, et tout récemment le Doripénème commercialisé en France en Mars 2009. Les quatre molécules restent en particulier actives sur les Entérobactéries productrices de BLSE et/ou de Céphalosporinases de haut niveau. Comme pour toutes les β -lactamines mises sur le marché, des souches résistantes sont rapidement apparues (Grall et al., 2011).

2.1.1. La résistance à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique

Selon une étude rétrospective menée par Tlamçani et al. (2009) au Maroc, sur une période de trois années (du 1 janvier 2006 à 31 décembre 2008), portant sur 253 patients consultants et hospitalisés présentant une infection urinaire confirmée par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital des spécialités de Rabat. *Klebsiella* spp. a été impliquée dans 28% de l'ensemble des cas (72/253). Les souches isolées étaient résistantes dans 50% des cas à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique. Le résultat est indiqué dans la Figure 5.

Figure 5 : Les pourcentages de la résistance de *Klebsiella* spp. aux différents antibiotiques testés (Tlamçani et al., 2009).



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

Romanus et Egwu. (2011), ont enregistré que parmi 390 échantillons cliniques analysés, 16 souches (17,7%) de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir de prélèvements de pus dans l'hôpital de Nigeria. Une sensibilité de 100% à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique a été enregistrée.

Selon une étude menée par Ejikeugwu et al. (2012), ont déclaré que parmi 39 *K. pneumoniae* collectées à partir d'un hôpital Nigérian provenant de prélèvements urinaires de deux patients hospitalisés et d'autres externes, 6 souches étaient résistantes à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique avec 15,4%.

Une autre étude menée par Belbel (2014) en Algérie, sur une période de 2 ans (2010 à 2011), 100 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir des patients hospitalisés à l'hôpital de Annaba provenant des différents type de prélèvements bactériologiques (urinaire, sang, LCR, pus et PDP) reçus au laboratoire central de Microbiologie du CHU

Dorban de Annaba, et elle est trouvée une résistance très élevée à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique de 78%.

Selon une étude menée par El Bouamri et al. (2015), de Janvier 2010 à Décembre 2012, (Tableau 10), 22% des souches de *K. pneumoniae* (parmi les entérobactéries) ont été isolées à partir des échantillons d'urine analysés au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Avicenne Enseignement, Marrakech, le Maroc, l'Afrique du Nord, la résistance était 51% à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique pour les souches de *K. pneumoniae* non BLSE. Cependant, toutes les *K. pneumoniae* BLSE étaient résistantes à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique.

Tableau 10 : Les pourcentages de la résistance aux antibiotiques des souches de *K. pneumoniae* productrices et non productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées à partir des échantillons d'urine entre Janvier 2010 à Décembre 2012 au Maroc (El Bouamri et al., 2015).

Tested antibiotic	ESBL producing <i>K. pneumoniae</i> strains (%)	Non-ESBL producing <i>K. pneumoniae</i> strains (%)
Aug	100	51
T/S	89	61
Gm	89	21
Cp	84	32
Ak	50	11
Fd	24	13
Fos	6	8
Etp	7	0
Imp	7	0

Aug: amoxicillin/clavulanate; T/S: trimethoprim/sulfamethoxazole; Gm: gentamicin; Cp: ciprofloxacin; Ak: amikacin; Fd: nitrofurantoin; Fos: fosfomicin; Etp: ertapenem; Imp: imipenem.

2.1.2. La résistance à l'Imipénème

Patricia et al. (1997), ont remarqué que parmi 18 souches de *K. pneumoniae* collectées à partir du center médicale de l'hôpital de New York de Queens, 3 souches sont résistantes à l'Imipénème (16,66%).

Jarlier et al. (2004) au France, pendant 2/12/2003 à 30/05/2004, ont isolé une souche de *K. pneumoniae* résistante à toutes les β -lactamines, y compris l'Imipénème, chez 6 patients d'un service de chirurgie en région parisienne, 3 patients sont décédés dont 1 de sepsis.

Fred et al. (2006), ont remarqué que parmi 15 souches de *K. pneumoniae* collectées à partir de 4 hôpitaux différents à New York, les isolats provenant d'une variété de corps sites (sang, le crachat et l'urine), 13 souches sont résistantes à l'Imipénème c'est-à-dire un taux de résistance de 86,66%.

Tlamçani et al. (2009), ont observé que toutes les souches étaient sensibles à l'Imipénème (Figure 5).

Aucune résistance à l'Imipénème n'été enregistrée dans l'étude de Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie, sur 198 souches de *Klebsiella* spp. collectées dans l'hôpital universitaire de Mahdia sur 3564 patients consultants et hospitalisés présentant une infection urinaire, Tableau 11.

Tableau 11 : Les pourcentages de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella* spp. productrices et non productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) en Tunisie (Ben Haj Khalifa et Khedher, 2012).

Antibiotiques testés	<i>Klebsiella</i> spp. (BLSE) (n= 40)	<i>Klebsiella</i> spp. (non BLSE) (n= 158)	p
AMC	100	25,1	0,01
CTX	100	17	0,02
IMP	0	0	-
G	92,5	15,6	0,023
TM	90	14,7	0,04
AN	10	1	0,5
NA	80	44,2	0,04
OFX	67,5	16,7	0,034
CIP	67,5	15,2	0,034
SXT	72,5	36,3	0,04
FOS	17,5	24,6	0,6
FT	52,5	27,4	0,55

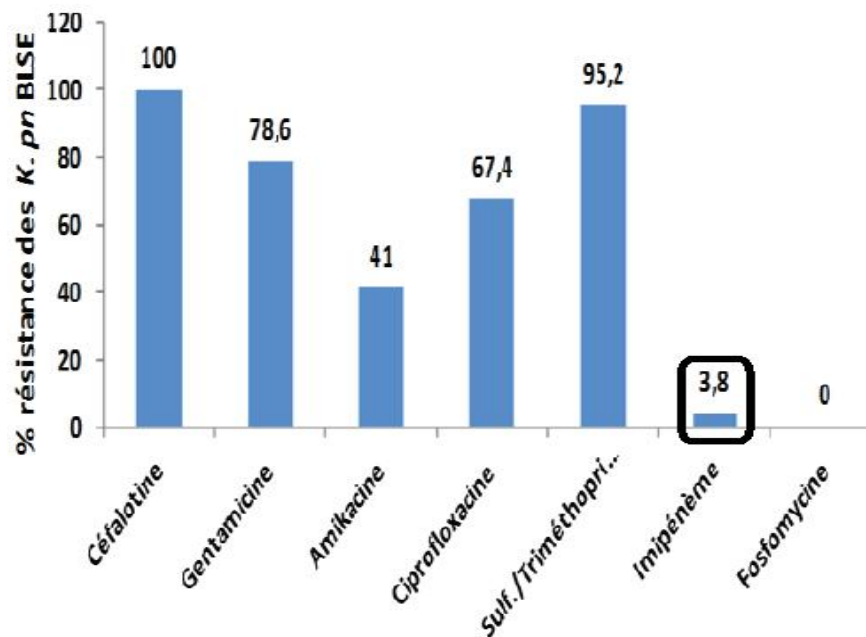
AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; CTX : céfotaxime ; IMP : imipénème ; G : gentamicine ; TM : tobramycine ; AN : amikacine ; NA : acide nalixidique ; OFX : ofloxacin ; CIP : ciprofloxacine ; SXT : sulfaméthoxazole + triméthoprime ; FOS : fosfomicine ; FT : nitrofurane.

Essayagh et al. (2012) au Maroc, ont enregistré une sensibilité de 100% à l'Imipénème sur un total de 211 souches de *K. pneumoniae* isolées dans le laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat.

Ejikeugwu et al. (2012), ont déclaré que parmi 39 *K. pneumoniae* collectées à partir d'un hôpital Nigérian, 5 souches étaient résistantes à l'Imipénème (12,8%).

Selon l'étude de Camara et al. (2013) au Sénégal, sur 44 souches de *K. pneumoniae* BLSE isolées dans un hôpital universitaire parmi 139 patients hospitalisés ou non, elles étaient très sensibles à l'Imipénème (exceptée une souche), le résultat est indiqué dans la Figure 6.

Figure 6 : Les taux de résistance aux antibiotiques des souches de *K. pneumoniae* BLSE au Sénégal (Camara et al., 2013).



D'après Giani et al. (2013) en Italie, vingt-cinq grands laboratoires cliniques de microbiologie, de 23 villes Italiennes, ont participé à une étude menée du 15 Mai à 30 Juin 2011, pour enquêter sur la diffusion des Entérobactéries Résistantes aux Carbapénèmes, et pour caractériser les mécanismes de résistance les plus courants et leurs modes de diffusion. Parmi 234 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir des patients ambulatoires et hospitalisés, ils ont enregistré un taux de résistance beaucoup très élevé à l'Imipénème de 83%.

Cherkaoui et al. (2014) en Suisse, ont déclaré que parmi 899 souches de *K. pneumoniae* isolées durant l'année 2013 aux hôpitaux universitaires de Genève, 99% étaient sensibles à l'Imipénème.

El Bouamri et al. (2015), avaient noté que pour la première fois, l'émergence des souches de *K. pneumoniae* résistantes à l'Imipénème qui représentaient 7% de l'ensemble des *K. pneumoniae* productrices de BLSE et aucune résistance remarquée chez toutes les souches de *K. pneumoniae* non BLSE, Tableau 10.

2.1.3. La résistance à l'Ertapénème

Selon une étude réalisée par Essayagh et al. (2012) au Maroc, Ils ont enregistré une résistance de 3 souches parmi un total de 211 souches de *K. pneumoniae* à l'Ertapénème (1,42%).

Une autre étude menée par Kabbaj et al. (2012) au Maroc, sur une période de 3ans (2009 à 2011), 25 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir des patients hospitalisés à l'hôpital des spécialités de Rabat provenant des différents type de prélèvements pathologiques (urinaire, hémoculture, LCR, pus et PDP), les services concernés sont réanimation, la neurochirurgie et la neurologie. Ils ont trouvé que tous les isolats testés étaient sensible 100% à l'Ertapénème. Le résultat est indiqué dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Sensibilité in vitro aux antibiotiques des Entérobactéries BLSE (Kabbaj et al., 2012).

Antibiotique	<i>E. coli</i> n(%)	<i>Klebsiella sp</i> n(%)	<i>E. cloacae</i> n(%)	Total n(%) Entérobactéries BLSE
Tigécycline	25(100)	21(84)	9(100)	56(93,3)
Tétracycline	2(8)	5(20)	1(11,1)	8(13,3)
Céfoxitine	25(100)	25(100)	0(0)	50(83,3%)
Imipénème	25(100)	25(100)	9(100)	60(100)
Ertapénème	25(100)	25(100)	9(100)	60(100)
Gentamicine	10(40)	6(24)	1(11)	17(28, 3)
Amikacine	24(96)	24(96)	8(88,9)	57(95)
Ciprofloxacine et Norfloxacine	4(16)	8(32)	2(22,2)	14(23,3)
SXT	0(0)	2(9,9)	0(0)	2(4,1)
Colistine	25(100)	25(100)	9(100)	60(100)

Giani et al. (2013) en Italie, ont enregistré un taux de résistance de *K. pneumoniae* à l'Ertapénème beaucoup très élevé, presque tous les isolats prélevés étant non sensibles à l'Ertapénème (99% des souches de *K. pneumoniae* parmi 234 étaient résistantes).

Cherkaoui et al. (2014) en Suisse, ont enregistré une sensibilité de 98% à l'Ertapénème sur un total de 899 souches de *K. pneumoniae* isolées durant l'année 2013 aux hôpitaux universitaires de Genève.

El Bouamri et al. (2015) au Maroc, ont remarqué que pour la première fois dans cette région l'émergence des souches de *K. pneumoniae* résistantes à l'Ertapénème, 7% sont résistantes de l'ensemble des *K. pneumoniae* urinaire productrices de BLSE et aucune résistance n'a été remarquée pour l'ensemble des *K. pneumoniae* urinaire non BLSE, Tableau 10.

2.1.4. La résistance à Méropénème

Dans l'étude de Fred et al. (2006), la résistance aux Carbapénèmes de *K. pneumoniae* non détectées par le test de sensibilité de Fred automatisé. Ils ont remarqué que parmi 15 souches de *K. pneumoniae* collectées à partir de 4 hôpitaux différents à New York, 14 souches étaient résistantes à Méropénème c'est-à-dire 93,33% des souches sont résistantes.

Un taux de résistance faible a été déclaré par Toroglu et Keskin (2011). Dans le laboratoire de Microbiologie, de différents hôpitaux à Kahramanmaras en Turquie, entre 2006-2007, parmi un totale de 22 souches de *K. pneumoniae* isolées 9% sont résistantes à Méropénème.

Une étude menée par Capone et al. (2012), sur une période de Décembre 2010 à Mai 2011, les souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir des patients hospitalisés dans neuf hôpitaux de Rome, en Italie, provenant de différents échantillons (urine, sang, voies respiratoires inférieures, une plaie chirurgicale, fluide intra-abdominale, écouvillon rectal et liquide céphalo-rachidien), les services sont réanimation, médicale et les services de

chirurgie. Ils ont enregistré un taux de résistance très élevé des souches de *K. pneumoniae* à Méropénème de 89,8%.

Ejikeugwu et al. (2012), ont déclaré que parmi 39 *K. pneumoniae* collectées à partir d'un hôpital Nigérian, 5 souches étaient résistantes à Méropénème (12,8%).

Giani et al. (2013) en Italie, ont remarqué que 82% des souches de *K. pneumoniae* étaient résistantes à Méropénème parmi 234 souches isolées.

Cherkaoui et al. (2014) en Suisse, ont observé que parmi 899 souches de *K. pneumoniae* collectées durant l'année 2013 aux hôpitaux universitaires de Genève, 99% étaient sensibles à Méropénème.

2.1.5. La résistance à Céfazoline

Une résistance élevée à été enregistrée pour Céfazoline de 77% par Toroglu et Keskin. (2011), sur 22 souches de *K. pneumoniae* dans le laboratoire de Microbiologie des différents hôpitaux à Kahramanmaras en Turquie entre 2006-2007.

Une étude menée par Sarathbabu et al. (2012) en Inde, sur une période de 3 ans (de 2008 à 2010), ont déclaré que parmi 254 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir des prélèvements urinaire, 130 sont résistantes à Céfazoline avec 51,18%.

Selon Labid (2015), un travail a consisté à collecter des prélèvements issus de l'hôpital pédiatrique Sainte-Thérèse et ont été soumis aux diverses analyses au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital Dorban de Annaba. Durant de Mars 2010 à juillet 2011, 42 épisodes septicémiques ont été diagnostiqués sur une population d'âge comprise entre 2 mois et 14 ans, elle a remarqué une résistance très élevée des souches de *K. pneumoniae* à Céfazoline de 87,5%, Figure 7.

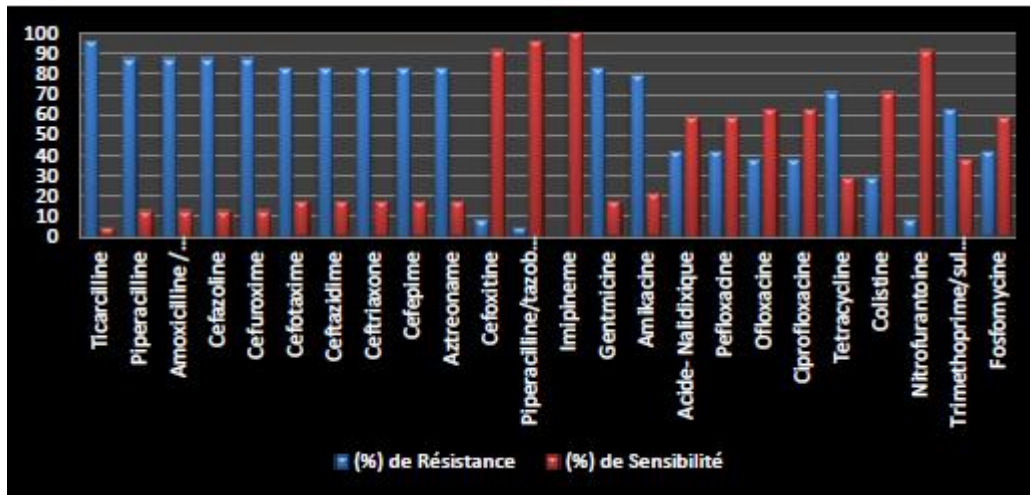


Figure 7 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *K. pneumoniae* productrices de BLSE isolées d'hémoculture (Labid A. 2015).

2.1.6. La résistance à Céfotaxime

Tlamçani et al. (2009) au Maroc, ont déclaré que parmi 72 souches de *Klebsiella* spp. collectées à partir 253 patients consultants et hospitalisés présentant une infection urinaire confirmée par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital des spécialités de Rabat, la résistance était de 35% aux Céphalosporines de troisième génération, (Figure 5).

Ortega et al. (2011) en Espagne, ont déclaré que parmi 910 des *K. pneumoniae* collectées à partir d'un hôpital clinique de Barcelone provenant de prélèvements sanguins, 112 souches étaient résistantes à Céfotaxime (12%).

Romanus et Egwu. (2011), ont enregistré que parmi 390 échantillons cliniques analysés, 12 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir d'échantillons vaginaux dans un hôpital Nigérian. Ils ont déclaré que 91,6% des *K. pneumoniae* étaient sensibles à Céfotaxime.

Ejikeugwu et al. (2012), ont enregistré un taux de résistance à Céfotaxime très élevé de *K. pneumoniae* avec 53,8%, dans un hôpital Nigérian.

Selon l'étude de Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie, dans un hôpital universitaire de Mahdia, ils ont isolé 198 souches de *Klebsiella* spp., le taux de résistance de *Klebsiella* spp. à Céfotaxime était 100% pour les 40 souches BLSE et 17% pour les 158 souches non BLSE, Tableau 11.

Kumar (2013) en Inde, a déclaré que 30 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir d'échantillons de pus des patients hospitalisés sont résistantes à Céfotaxime avec 88,8%.

Une étude menée par Hussain et al. (2014) en Pakistan, sur une période de Mars 2012 jusqu'à Mars 2013, 43 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir d'échantillons de pus des patients intérieurs et extérieurs, ils ont trouvé que 50% des isolats sont résistants à Céfotaxime.

D'après Labid (2015) en Algérie, au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital Dorban de Annaba, elle a enregistré un taux de résistance des souches de *K. pneumoniae* à Céfotaxime très élevé de 83,33%, Figure 7.

2.2. La résistance aux Aminosides

D'après l'étude de Tlamçani et al. (2009) au Maroc, sur 72 souches de *Klebsiella* spp. isolées à partir 253 patients consultants et hospitalisés, la résistance aux Aminosides était 30%, Figure 5.

Toroglu et Keskin. (2011) en Turquie, ont observé que parmi 22 souches de *K. pneumoniae* la résistance était 46% et 23% à Gentamicine et Streptomycine respectivement.

Capone et al. (2012) en Italie, ont enregistré un taux de résistance des souches de *K. pneumoniae* à Gentamicine très élevé de 79,6%.

Kabbaj et al. (2012) au Maroc, ont déclaré que parmi 25 *Klebsiella* spp., 6 souches étaient résistantes à Gentamicine (24%), Tableau 12.

D'après Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie, les taux de résistance aux Gentamicine des souches de *Klebsiella* spp. BLSE et non BLSE étaient de 92,5% et 15,6% respectivement. Cependant, les taux de résistance pour l'Amikacine étaient de 10% pour les *Klebsiella* spp. BLSE et 1% pour les non BLSE, Tableau 11.

Ejikeugwu et al. (2012) dans un hôpital Nigérian, ont enregistré un taux de résistance de *K. pneumoniae* à l'Amikacine très élevé avec 71,8%, et pour la résistance à Gentamicine ont déclaré que 12 souches parmi un total de 39 souches sont résistantes (30,8%).

Par contre, Kabbaj et al. (2012) au Maroc, ont observé que 96% des souches de *Klebsiella* spp. sont sensibles à l'Amikacine (Tableau 12).

Camara et al. (2013) au Sénégal, ont remarqué que parmi 44 souches de *K. pneumoniae* BLSE, 78,6% sont résistantes à Gentamicine et 41% à l'Amikacine (Figure 6).

D'après Cherkaoui et al. (2014) au Suisse, ont enregistré des taux de sensibilité aux Aminocyclitolés des souches de *K. pneumoniae* de 98% et 94% pour l'Amikacine et Gentamicine respectivement.

El Bouamri et al. (2015) au Maroc, ont enregistré une résistance de 21% à Gentamicine et 11% à l'Amikacine pour les *K. pneumoniae* non BLSE, et des taux de résistance beaucoup plus élevés pour les *K. pneumoniae* BLSE de 89% à Gentamicine et 50% à l'Amikacine (Tableau 10).

2.3. La résistance aux Phénicolés

Romanus et Egbu. (2011) dans un hôpital Nigérian, ont déclaré que parmi 390 échantillons cliniques analysés 72, 16 et 12 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir d'échantillons d'urine, de pus et de vagin respectivement. Ils ont enregistré une

sensibilité à Chloramphénicol de 13,8% dans l'urine, 12,5% dans le pus et 25% dans le vagin.

Kumar (2013) en Inde, sur un total de 30 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir d'échantillons de pus des patients hospitalisés, il a enregistré un taux de résistance à Chloramphénicol de 43,7%.

Selon une étude réalisée par Al-Jebouri et Mdish. (2013) en Irak, sur une période de Novembre 2011 jusqu'à Juillet 2012, dans le département d'urologie à l'hôpital de Tikrit enseignement dans le cadre des programmes de recherche pour des études supérieures à College of Medicine, Université de Tikrit, 160 patients ont été inclus dans cette étude. Seulement 45 ont une culture d'urine positive, *K. pneumoniae* est l'organisme qui a été isolé à partir de 6 patients avec pourcentage de 13,3%. Ils ont enregistré une sensibilité à Chloramphénicol de 20%.

2.4. La résistance aux Cyclines

Toroglu et Keskin. (2011) en Turquie, ont testé 22 souches de *K. pneumoniae* et ont enregistré un taux de résistance de 59% aux Tétracyclines.

Sarathbabu et al. (2012) en Inde, ont remarqué que parmi 191 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir des prélèvements de crachat, 106 sont résistantes à Tétracycline avec un taux de 55,49%.

Kabbaj et al. (2012) au Maroc, ont déclaré que parmi 25 *Klebsiella* spp. isolées à partir des patients hospitalisés à l'hôpital des spécialités de Rabat, 5 souches étaient résistantes à Tétracycline (20%) (Tableau 12).

Kumar (2013) en Inde, a enregistré une résistance de 100 % de *K. pneumoniae* à Tétracycline.

Cherkaoui et al. (2014) au Suisse, ont remarqué que parmi 899 souches de *K. pneumoniae*, 93% étaient sensibles à Tigécycline.

2.5. La résistance aux Quinolones

Tlamçani et al. (2009) au Maroc, ont déclaré un taux moyen de résistance aux Fleuroquinolones des souches de *Klebsiella* spp avec 33%, Figure 5.

Toroglu et Keskin. (2011) en Turquie, ont mentionné que parmi 22 souches de *K. pneumoniae*, 27% étaient résistantes aux Quinolones (Ofloxacin).

Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie, ont remarqué des taux de résistance de 80% et 44,2% à l'Acide Nalidixique pour *Klebsiella* spp. BLSE et non BLSE respectivement (Tableau 11).

Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie, ont enregistré des taux de résistance à Ciprofloxacine de 67,5% pour les 40 souches de *Klebsiella* spp. BLSE et 15,2% pour les 158 souches non BLSE, Tableau 11.

Ejikeugwu et al. (2012), ont enregistré un taux de résistance à Ciprofloxacine très élevé pour *K. pneumoniae* avec 59%, dans un hôpital Nigérian.

Kabbaj et al. (2012) au Maroc, ont enregistré un taux de sensibilité à Ciprofloxacine de 32% de *Klebsiella* spp, Tableau 12.

Kumar (2013) en Inde, a enregistré un taux de résistance très élevé à l'Acide Nalidixique de *K. pneumoniae* avec 71,7 %.

D'après Camara et al. (2013) au Sénégal, parmi 44 souches de *K. pneumoniae* BLSE, la résistance à la Ciprofloxacine était 67,4%, Figure 6.

Cherkaoui et al. (2014) au Suisse, ont enregistré un taux de sensibilité de 89% des souches de *K. pneumoniae* aux Quinolones (Ciprofloxacine et Norfloxacine).

El Bouamri et al. (2015) au Maroc, ont enregistré que 32% des souches de *K. pneumoniae* non BLSE étaient résistantes à Ciprofloxacine ; toutefois, un taux de résistance très élevé à Ciprofloxacine a été enregistré pour les *K. pneumoniae* BLSE de 84%, Tableau 10.

2.6. La résistance aux Sulfamides (Triméthoprim/Sulfaméthoxazole)

Selon Tlamçani et al. (2009) au Maroc, parmi 72 souches de *Klebsiella* spp., 28% sont résistantes à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim, Figure 5.

Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie, ont enregistré un taux de résistance élevé de *Klebsiella* spp. à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim de 72,5%, Tableau 11.

Ejikeugwu et al. (2012) dans un hôpital Nigérian, ont enregistré un taux de résistance à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim très élevé pour *K. pneumoniae* avec 89,7%.

Kabbaj et al. (2012) au Maroc, ont remarqué que parmi 25 souches de *Klebsiella* spp. seulement 2 souches sont sensibles à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim (9,9%), Tableau 12.

Camara et al. (2013) au Sénégal, ont observé que parmi 44 souches de *K. pneumoniae* BSLE, la majorité étaient résistantes à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim (95,2%), Figure 6.

D'après les résultats déclarés par El Bouamri et al. (2015) au Maroc, les taux de résistance à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim étaient 61% et 89% pour *K. pneumoniae* non BLSE et *K. pneumoniae* BLSE respectivement, Tableau 10.

2.7. La résistance aux Polypeptides (Colistine)

Poudyal et al. (2008) en Australie, ont remarqué que parmi 22 souches de *K. pneumoniae* collectées à partir des patients hospitalisés, 6 isolats étaient résistants à Colistine (27,27%).

Une étude menée par Kabbaj et al. (2012) au Maroc, sur une période de 3 ans (2009-2011). Ils ont trouvé que tous les isolats testés étaient sensibles 100% à Colistine (Tableau 12).

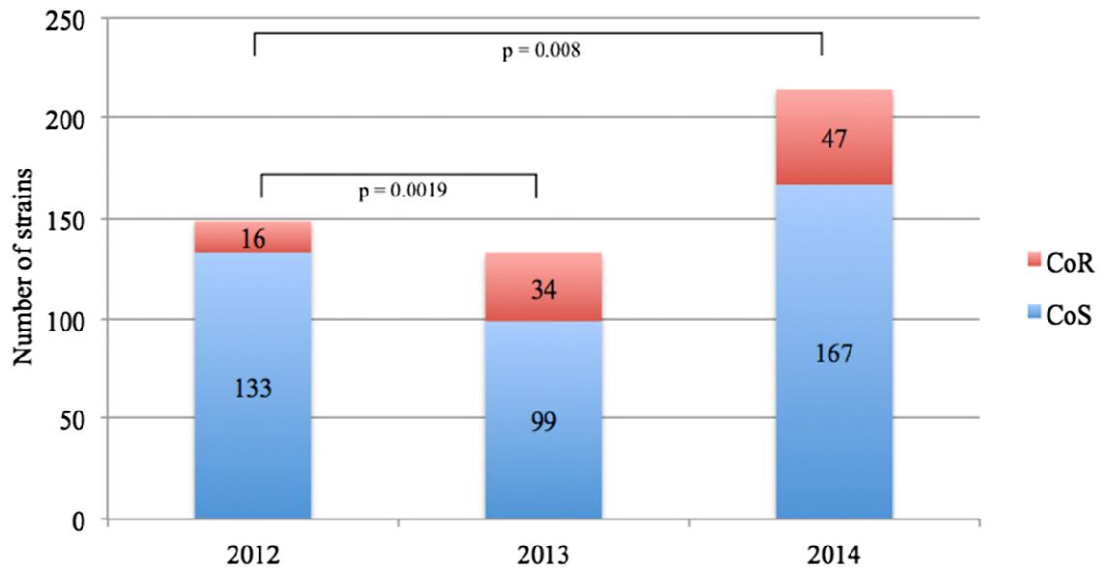
Capone et al. (2012) en Italie, ont enregistré un taux de résistance de *K. pneumoniae* à Colistine de 36,1%.

Kumar (2013) en Inde, sur un total de 30 souches de *K. pneumoniae* isolées dans l'hôpital. Il a enregistré que toutes les souches (100%) étaient résistantes à Colistine. Contrairement, dans une étude faite par Belbel (2014) en Algérie, sur un total de 100 souches de *K. pneumoniae* isolées dans le laboratoire centrale de microbiologie du CHU Dorban de Annaba. Elle a enregistré que toutes les souches (100%) étaient sensibles à Colistine.

Une étude faite par Pagano et al. (2014), dans un hôpital Italien, les souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir des patients atteints de tumeurs malignes hématologiques provenant de prélèvements sanguins. Ils ont enregistré une résistance faible à Colistine (19%).

Selon Parisi et al. (2015), un total de 15104 patients inclus dans l'étude, 496 souches consécutives non répliquées de *K. pneumoniae* produisant carbapénémases (KP-CP) ont été collectées par l'hôpital de Padoue de l'Enseignement Italien de Janvier 2012 à Décembre 2014 (273 souches sont isolées par de surveillance écouvillons rectaux [SRS] et 223 par des échantillons cliniques [CS]), les tests de sensibilité aux antimicrobiens ont été effectué sur KP-CP. Ils ont déclaré que 97 souches étaient résistantes à Colistine (Figure 8).

Figure 8 : Nombre de souches de *K. pneumoniae* résistantes et sensibles à Colistine identifiées en 2012, 2013 et 2014. CoR : résistance à Colistine. CoS : sensibilité à Colistine (Parisi et al., 2015).



Chapitre 3 : la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques selon la nature de prélèvement

Les profils et les fréquences de la résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* selon la nature du prélèvement sont développés dans ce chapitre dans des études menées dans plusieurs pays du monde.

1. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques dans le Vagin

La flore vaginale est un environnement complexe, contenant des dizaines d'espèces microbiologiques en quantités variables et proportions relatives. Un équilibre complexe de microorganismes maintient la flore vaginale normale. Bien que certaines conditions pathologiques causant de vaginite sont bien définis comme des bactéries vaginose, candidose et trichomonase encore, 7-72% des femmes atteintes de vaginite peuvent rester des formes non diagnostiquées et telles de la flore vaginale anormale, la flore vaginale de femmes adultes contient des lactobacilles responsables de maintenir le pH vaginal et prévenir la prolifération des agents pathogènes. La cause fréquente de l'altération vaginale est une infection ou d'une colonisation avec microorganismes Différente vaginite infectieuses ou non constitue l'un des problèmes les plus fréquents en gynécologie, et l'un des principales raisons qui ont conduit les femmes à demander des conseils d'un médecin, environ 10 millions de visites de bureau annuel. Cependant, le diagnostic et le traitement peut être difficile à atteindre, elle est basée sur les symptômes cliniques et la caractérisation de l'écoulement vaginal seul (Shamim et al., 2008).

Parmi les antibiotiques qui possédant une bonne sensibilité (> 80%) contre les agents pathogènes vaginaux sont les Aminoglycosides classiquement disponibles, les Céphalosporines de troisième génération, la Pénicilline, les Quinolones, les Sulfamides, les Tétracyclines, les Carbapénèmes et les β -lactamines. Mais des antibiotiques comme les Pénicillines à large spectre ou les Tétracyclines peuvent tuer ou d'éliminer les bactéries utiles dans le tractus génital, ce qui permet à se développer des organismes résistants sans contrôle (Shamim et al., 2008).

Selon Shamim et al. (2008) au Pakistan, sur une période de Avril 2004 à Mars 2006, 77 souches de *K. pneumoniae* sont isolées à partir d'échantillons vaginal de patients intérieurs

et extérieurs et sont collectées dans le département de microbiologie de Fauji Fondation hôpital, Rawalpindi. Ils ont trouvé que les isolats étaient sensibles à 100% à l'Imipénème, 18,2% à l'Ampicilline, 60,29% à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique, 79,1% à Céfotaxime, 71,4% à Ceftazidime, 72,7% à Norfloxacin, 80,2% à Ciprofloxacine, 62,8% à Gentamicine et 57,1% à Doxycycline.

Romanus et Egwu. (2011) dans un hôpital Nigérian, ont enregistré que parmi 390 échantillons cliniques analysés, 12 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir d'échantillons vaginal. Ces souches sont sensibles à l'Amoxicillin/Acide Clavulanique et Kanamycine avec 83,3%, à Gentamicine et Ciprofloxacine avec 75%, une sensibilité de 100% à l'Imipénème, Céfoxitine et l'Amikacine, et une sensibilité à Céfotaxime, Tobramycine, Chloramphénicol, Sulfaméthoxazole/Trimethoprim (91,6%, 68%, 25%, 61,6% respectivement).

Selon Kumar et al. (2014) en Inde, une étude a été réalisée dans un hôpital de soins tertiaires à Jaipur, Rajasthan, entre Mars 2013 à Février 2014, pour confirmer l'évolution de la sensibilité aux antibiotiques des agents pathogènes provoquant des infections des voies urinaires (IVU). Sur un total de 251 échantillons d'urine, seulement 61 (24,30%) considérés comme positifs pour une infection urinaire. Ils avaient trouvé 9 souches (14,75%) de *Klebsiella* spp. (5 isolées à partir des patients hospitalisés et 4 à partir des patients ambulatoires). Les profils de sensibilité de ces souches étaient montrés dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Profils de sensibilité aux antibiotiques chez les isolat Gram négatif (Kumar et al., 2014).

Organisms	Ampicillin	Amikacin	Gentamicin	Aztreonam	Imipenem	Ciprofloxacin	Ceftazidime	Cefepime	Cefuroxime	Cotrimex ole
<i>E. coli</i> (%)	39.1%	83.6%	54.5%	68.6%	98.3%	53.4%	68.3%	71.1%	41.6%	42.5%
<i>klebsiella spp.</i> (%)	49.7%	71.6%	46.7%	68.6%	93.5%	88.5%	66.8%	72.5%	43.5%	60.9%
<i>Pseudomonas spp.</i> (%)	7%	56.1%	26.5%	34.5%	82.4%	72.5%	50.0%	65.4%	7.05%	13.5%
Mean	31.93%	70.43%	42.57%	57.23%	91.40%	71.47%	61.70%	69.67%	30.72%	38.97%

Selon l'étude de Parisi et al. (2015) en Italie, à l'hôpital de Padoue d'Enseignement (de Janvier 2012 à Décembre 2014), sur un total de 15104 patients, 496 souches consécutives non répliquées de *K. pneumoniae* produisant carbapénémases (KP-CP) été collectées, 2 souches étaient résistantes à Colistine dans le vagin (Tableau 14).

Tableau 14 : Description de la première détection d'une souche résistante à Colistine dans des échantillons cliniques (CS) en 2012, 2013 et 2014 (Parisi et al., 2015).

Year	Clinical Samples						
	Urine (n)	Bronchial aspirates (n)	Skin swab (n)	Blood (n)	Drainage fluid (n)	Vaginal swab (n)	Pharyngeal swab (n)
2012	1	4	1	1	1	0	1
2013	4	1	2	0	1	0	0
2014	7	2	3	1	0	2	0

2. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques dans le Pus

Selon Shahid et al. (2008) en Inde, 61 isolats de *K. pneumoniae* sont obtenus à partir de patients hospitalisés à Jawaharlal Nehru Medical College, au cours de la période du 1 Mai à 31 Juillet 2003, 39 des souches étaient isolées à partir du pus, les taux de sensibilité sont résumés dans le Tableau 15.

Tableau 15 : Les Taux de la sensibilité aux antibiotiques des *K. pneumoniae* isolées à partir d'échantillons d'urine et de pus contre les antibiotiques de première ligne testés (Shahid et al., 2008).

Antibiotics	Urine		Pus	
	<i>E. coli</i> (n = 91)	<i>K. pneumoniae</i> (n = 22)	<i>E. coli</i> (n = 90)	<i>K. pneumoniae</i> (n = 39)
Ampicillin	3.3 (3)	NT	2.2 (2)	NT
Co-trimoxazole	11.0 (10)	4.5 (1)	2.2 (2)	0 (0)
Tetracycline	8.8 (8)	9.1 (2)	4.4 (4)	12.8 (5)
Ciprofloxacin	23.1 (21)	31.8 (7)	22.2 (20)	28.2 (11)
Gentamicin	31.9 (29)	45.5 (10)	24.4 (22)	30.8 (12)
Amikacin	57.1 (52)	54.5 (12)	46.7 (42)	35.9 (14)
Tobramycin	38.5 (35)	63.6 (14)	31.1 (28)	46.2 (18)
Cefotaxime	19.8 (18)	31.8 (7)	15.6 (14)	7.7 (3)
Ceftriaxone	12.1 (11)	13.6 (3)	5.6 (5)	7.7 (3)
Nitrofurantoin	11.0 (10)	9.1 (2)	NT	NT
Norfloxacin	23.1 (21)	31.8 (7)	NT	NT

Figures are % (number of isolates). The isolates were resistant to multiple antibiotics. NT = not tested.

Romanus et Egwu. (2011), ont enregistré que parmi 390 échantillons cliniques analysés, 16 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir de prélèvements de pus dans l'hôpital du Nigeria, une sensibilité de 100% à l'Imipénème, Céfoxitine, l'Amikacine, Céfotaxime et l'Amoxicilline/Acide Clavulanique est enregistrée, et une sensibilité à Gentamicine, Kanamycine, Tobramycine, Ciprofloxacin, Chloramphénicol, Sulfaméthoxazole/Triméthoprime de 75%, 87,5%, 93%, 93,8%, 12,5%, 41,6% respectivement.

Kumar (2013) en Inde, a déclaré que 30 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir d'échantillons de pus des patients hospitalisés sont résistantes à Céfotaxime, Ciprofloxacin et l'Ofloxacin avec 88.8%, et une résistance à Norfloxacin et Céfalexine de 77,4%, une résistance de 100% à Colistine et Tétracycline, et une résistance à l'Amikacine, Gentamicine, Chloramphénicol, l'Amoxicilline/Acide Clavulanique, l'Acide Nalidixique, Céfazidime de 11,9%, 42,2%, 43,7%, 60,2%, et 71,7%, 45,1% respectivement est enregistrée.

Une étude menée par Hussain et al. (2014) au Pakistan, sur une période de Mars 2012 jusque Mars 2013, 43 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir d'échantillons de

pus des patients intérieurs et extérieurs, ont été collectées à partir de Pathologie Lab. du Pakistan Railway General Hôpital, Rawalpindi. Ils sont trouvés que les isolats sont résistants à quatre types de Céphalosporines de troisième génération testées Céftriaxone, Céfotaxime, Céfotaxime et Céftrizoxime avec 58%, 42 %, 50%, 49% respectivement.

Selon Shraddha et al. (2014) en Inde, les cultures ont été obtenues à partir d'échantillons consécutifs, comme l'urine, le pus, crachats et sang. Parmi un total de 206 isolats, 104 étaient identifiés comme souches de *K. pneumoniae*, 37 souches étaient isolées dans le pus, le résultat était de 51,35% et 24,32% de *K. pneumoniae* résistantes à Méropénème et l'Imipénème respectivement (Tableau 16).

Tableau 16 : Modèle de résistance de *K. pneumoniae* (n=104) à Méropénème et l'Imipénème (Shraddha et al., 2014).

Specimen (n)	Méropénème n (%)	Imipénème n (%)
Urine (38)	23 (60,52)	12 (31,57)
Pus (37)	19 (51,35)	09 (24,32)
Sputum (22)	08 (36,36)	08 (36,36)
Blood (7)	06 (85,71)	03 (42,85)
Total(104)	56(53,84)	32(30,76)

3. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques dans les Urines

L'infection urinaire est un terme général qui comprend à la fois la colonisation microbienne asymptomatique de l'urine et l'infection symptomatique avec l'invasion microbienne et l'inflammation des structures de l'arbre urinaire (Kouta 2009).

Les infections des voies urinaires (IVU) sont l'une des infections bactériennes les plus courantes rencontrées dans de nombreuses régions du monde, *Klebsiella* spp. est parmi les principales espèces bactériennes impliquées dans ce type d'infection. Ces Infections présentes un problème de santé majeur qui affectent des millions de personnes chaque année, provoquées une morbidité et une mortalité importante. Les infections bactériennes des voies urinaires ont été signalées dans les hôpitaux communautaires et dans la

communauté, ont été signalées dans tous les groupes d'âge et chez les deux sexes où les femmes sont plus sensibles aux infections urinaires que les hommes car l'urètre des femmes plus court et plus large, elles sont la deuxième cause la plus fréquente de bactériémie chez les patients hospitalisés. Les IVU commencent généralement par une infection de la vessie, souvent montent à affecter les reins, et en fin de compte, peuvent provoquer une insuffisance rénale, la bactériémie, la septicémie sévère et même la mortalité. *K. pneumoniae* est l'un des microflores normale de l'intestin, elles possèdent des facteurs de virulence importants (comme capsule) aidant à augmenter la possibilité d'infecter le système urinaire. Les IVU sont généralement facilement et efficacement traitées avec une antibiothérapie de courte durée tel que les Fluoroquinolones et les β -lactamines sont des molécules de choix pour traiter l'infection du tractus urinaire (Tlamçani et al., 2009 ; Habeeb et Al-Azawi, 2014 ; Zeyallah et Kaul, 2015).

Selon Shahid et al. (2008) en Inde, à Jawaharlal Nehru Medical College et l'hôpital, 22 souches de *K. pneumoniae* étaient isolées à partir de l'urine. Elle ont montré des taux de sensibilité de 4,5% à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim, 9,1% pour Tétracycline, 31,8% à Ciprofloxacine, 45,5% à Gentamicine, 54,5% à l'Amikacine, 63,6% à Tobramycine, 31,8% à Céfotaxime, 13,6% à Céftriaxone, 9,1% à Nitrofurantoin, 31,8% à Norfloxacine. Le résultat est noté dans le Tableau 15.

Romanus et Egwu. (2011), ont enregistré que parmi 390 échantillons cliniques analysés, 72 souches (57,1%) de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir d'échantillons d'urine dans un hôpital au Nigeria, une sensibilité de 100% à l'Imipénème, Céfoxitine et l'Amikacine a été enregistrée, et une sensibilité à Céfotaxime, Amoxicilline/Acide Clavulanique, Gentamicine, Kanamycine, Tobramycine, Ciprofloxacine, Chloramphénicol, Sulfaméthoxazole/Triméthoprim de 95,8%, 93%, 76,4%, 88,8%, 76,5%, 98,9%, 13,8%, 44,4% respectivement.

Selon Cabral et al. (2012) au Brésil, sur 24 isolats cliniques de *K. pneumoniae* de différents patients de la ville de Recife, Etat de Pernambuco. Les profils de résistance aux antibiotiques de 11 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir de l'urine sont montrés dans le Tableau 17.

Tableau 17 : Profils de résistance aux antimicrobiens des isolats cliniques de *K. pneumoniae* dans l'urine, de deux hôpitaux, dans les années 2007 et 2008, de la ville de Recife, Etat de Pernambuco, Brésil (Cabral et al., 2012).

Les souches de <i>K. pneumoniae</i>	Profils de résistance
K2A	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, CIP, GEN*, PIT, TSU, NAL, EST*, TET
K5A	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, GEN, PIT*, TSU, CLO, TET
K6A	AMO, AMP, AMC, ATM*, CIP, GEN*, NAL, CLO, TET
K10A	AMO, AMP, AMC, ATM, CPM, CTX, CFO*, CAZ, CIP, PIT, TSU, AMI*, NAL, CLO, TET
K12A	AMO, AMP, AMC, CMP, CFO, CIP, MPM, PIT, TSU, AMI
K1P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO, TET
K8P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, AMI, NAL, CLO, TET*
K12P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, AMI, NAL, CLO, TET*
K15P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, CIP, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO*, TET*
K19P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO*, CAZ, CFL, CIP, PIT, TSU, NAL, CLO*, EST, TET
K20P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO, EST*, TET

A : hôpital public, **P :** hôpital privé, **AMO :** Amoxicilline, **AMP :** Ampicilline, **AMC :** Amoxicilline/Acide Clavulanique, **ATM :** Aztréoname, **CPM :** Cefépime, **CTX :** Céfotaxime, **CAZ :** Céftazidime, **CIP :** Ciprofloxacine, **GEN :** Gentamicine, **PIT :** Pipéracilline/Tazobactam, **TSU :** Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, **NAL :** Acide Nalidixique, **CLO :** Chloramphénicol, **EST :** Streptomycine, **TET :** Tétracycline, **CFO :** Céfoxitine, **APS :** Ampicilline/Sulbactam, **IMP :** Imipénème, **MPM :** Méropénème, **CFL :** Céfalotine, **AMI :** Amikacine, * résistance intermédiaire.

Selon une étude réalisée par Al-Jebouri et Mdish. (2013) en Irak, sur une période de Novembre 2011 jusqu'à Juillet 2012, dans le département d'urologie à l'hôpital de Tikrit enseignement dans le cadre des programmes de recherche pour des études supérieures à College of Medicine, Université de Tikrit, 160 patients ont été inclus dans cette étude. Seulement 45 ont une culture d'urine positive, *K. pneumoniae* est l'organisme qui a été isolé à partir de 6 patients avec pourcentage de 13,3%. Ils ont enregistré une résistance à l'Ampicilline de 100% et une sensibilité à l'Amoxicilline, l'Amikacine, Gentamicine,

Ciprofloxacine, l'Acide Nalidixique et Chloramphénicol de 10%, 85%, 10%, 77%, 70%, 20% respectivement.

Selon Shraddha et al. (2014), parmi un total des 206 isolats, 104 isolats étaient identifiés comme souches de *K. pneumoniae*, avec 38 souches isolées à partir l'urine, le résultat était 60,52% et 31,57% de *K. pneumoniae* résistantes à Méropénème et l'Imipénème respectivement (Tableau 16).

4. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques dans le Sang

La détection et l'identification des micro-organismes circulants dans le sang des patients est sans doute l'une des fonctions les plus importantes du laboratoire de microbiologie clinique. Les bactériémies représentent une cause importante de morbidité et de mortalité humaine. La signification clinique des hémocultures positives a été largement évaluée au cours des dernières décennies. Ces études ont servi à définir les agents étiologiques les plus fréquents responsables de bactériémies et de la gamme d'agents, et ont amélioré notre compréhension des risques et des résultats associés à ces infections (Kirn et Weinstein, 2013). *K. pneumoniae*, l'un des agents étiologiques les plus courants d'infection de la circulation sanguine pédiatrique. En raison de l'utilisation irrationnelle des antibiotiques, *K. pneumoniae* isolée à partir de la culture de sang est la plupart du temps polychimiothérapie résistante (résistante à trois ou plus des classes des antibiotiques), produisant souvent des bêtalactamases (Medić et al., 2012).

Neuner et al. (2011), ont réalisé une étude résumant les dossiers décrivant les résultats et le traitement de 60 cas d'infections de la circulation sanguine carbapénème-résistant *Klebsiella pneumoniae* (CR-KP). Tous les CR-KP isolées à partir de cultures de sang ont été identifiées rétrospectivement dans le laboratoire de microbiologie de Janvier 2007 à Mai 2009. Les patients atteints de la mortalité hospitalière de 14 jours ont été comparés à ceux qui ont survécus. Dans cette collection, 98% des isolats testés étaient sensibles in vitro à Tigécycline comparativement à 86% à Colistine, 45% à l'Amikacine, et 22% à Gentamicine. Neuf patients sont morts avant que les cultures ont été finalisées et n'ont reçu aucun traitement actif contre CR-KP.

Selon Cabral et al. (2012) au Brésil, 24 isolats cliniques de *K. pneumoniae* de différents patients de la ville de Recife, état de Pernambuco étaient analysés, dix isolats provenant de différentes unités d'un hôpital public (hôpital A) et 14 étaient de l'unité de soins intensifs d'un hôpital privé (hôpital P), à partir de 2007 et 2008 respectivement. Les profils de résistance aux antibiotiques de 2 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir le sang sont présentés dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Profils de résistance aux antimicrobiens de deux souches de *K. pneumoniae* présentent dans le sang (2007 et 2008) de la ville de Recife, Etat de Pernambuco, Brésil (Cabral et al., 2012).

Les souches de <i>K. pneumoniae</i>	Profils de résistance
K5P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, IMP, MPM, PIT, TSU, CLO, TET
K14P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, PIT, TSU, NAL, CLO, EST, TET

P : hôpital privé, **AMO** : Amoxicilline, **AMP** : Ampicilline, **AMC** : Amoxicilline/Acide Clavulanique, **ATM** : Aztréonam, **CPM** : Cefepime, **CTX** : Céfotaxime, **CAZ** : Céftazidime, **CIP** : Ciprofloxacine, **GEN** : Gentamicine, **PIT** : Pipéracilline/Tazobactam, **TSU** : Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, **NAL** : Acide Nalidixique, **CLO** : Chloramphénicol, **EST** : Streptomycine, **TET** : Tétracycline, **CFO** : Céfoxitine, **APS** : Ampicilline/Sulbactam, **IMP** : Imipénème, **MPM** : Méropénème, **CFL** : Céfalotine.

Selon Shraddha et al. (2014) en Inde, les cultures ont été obtenues à partir d'échantillons consécutifs d'urine, de pus, des crachats et de sang. Sur un total des 206 isolats, 104 isolats étaient identifiés comme souches de *K. pneumoniae* avec 7 souches étaient isolées dans le sang, le résultat était 85,71% et 42,85% de *K. pneumoniae* résistantes à Méropénème et l'Imipénème respectivement (Tableau 16).

Selon l'étude de Parisi et al. (2015), qui a été réalisée dans l'hôpital de Padoue de l'Enseignement Italien de Janvier 2012 à Décembre 2014. Les tests de sensibilité aux antimicrobiens ont été effectués sur KP-CP isolées. Deux souches de *K. pneumoniae* étaient résistantes à Colistine dans le sang entre 2012 et 2014 (Tableau 14).

Chapitre 4 : Supports génétiques de la résistance aux antibiotiques chez *Klebsiella* spp.

1. Notions de la résistance bactérienne

La résistance aux antibiotiques est un phénomène ancien que l'apparition des antibiotiques. Aujourd'hui, souvent d'origine synthétique et produits par l'homme, les antibiotiques sont au départ des substances naturelles générées par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se "défendre" contre les autres bactéries. Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger. Il s'agit là de résistance naturelle aux antibiotiques (Lozniewski et al., 2010).

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et sur les critères cliniques (résistance *in vivo*). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. En outre, il est important de signaler, qu'en conditions *in vivo*, la capacité de résistance ou de sensibilité de la souche à la thérapie antimicrobienne mise en place sera dépendante de différents paramètres, tels que la localisation de la bactérie, le dosage et le mode d'administration de l'antibiotique, et l'état du système immunitaire de l'individu traité. Et nombreuses sont les situations où le composé ne pourra pénétrer ou agir au niveau du site infectieux, créant de la sorte un état de résistance clinique : citons pour exemples les abcès fibrotiques ou les conditions de pH ou de pression partielle en oxygène trop faibles (Muylaert et Mainil, 2012).

D'après le protocole national du RAISIN (2015), la multi-résistance bactérienne aux antibiotiques est l'image la plus grave de la résistance car elle réduit notablement les possibilités thérapeutiques. La multi-résistance concerne des espèces bactériennes qui jouent un rôle important en infectiologie communautaire (pneumocoque, bacille de la tuberculose) et nosocomiale (*Staphylococcus aureus*, Entérobactéries, etc.). Leur émergence et leur diffusion sont le résultat de la pression de sélection par les antibiotiques et de la transmission des souches résistantes vers des supports génétiques de la résistance.

2. Types de résistance

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).

Klebsiella spp. produit naturellement des bêtalactamases. Cette enzyme est alors présente dans l'espace périplasmique de la bactérie et conduit à la destruction d'antibiotiques comme les pénicillines A, avant que ceux-ci ne puissent atteindre leur cible bactérienne (Lozniewski et al., 2010).

Le Tableau 19 représente la résistance naturelle des Entérobactéries aux antibiotiques.

Tableau 19 : Résistance naturelle chez les Entérobactéries (CA-SFM 2015).

Espèces	AM	AMC	TIC/ PIP	C1G	FOX	MA	CXM	GM	TOB	TET	COL	FT
<i>Klebsiella</i> spp.	R		R									
<i>E. hermenii</i>	R		R									
<i>C. koseri</i>	R		R									
<i>C. freundii</i>	R	R		R	R							
<i>E. cloacae</i>	R	R		R	R							
<i>E. aerogenes</i>	R	R		R	R							
<i>H. aivei</i>	R	R		R								
<i>S. marcescens</i>	R	R		R		R			R		R	
<i>P. mirabilis</i>										R	R	R
<i>P. vulgaris, P. penneri</i>	R			R		R	R			R	R	R
<i>M. morganii</i>	R	R		R			R			R	R	R
<i>P. stuartii</i>	R	R		R				R		R	R	R
<i>P. rettgeri</i>	R	R		R						R	R	R
<i>Y. enterocolitica</i>	R	R	R	R	R	R	R					

R : résistance naturelle

AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; PIP : pipéracilline
 C1G : céphalosporines de 1^{ère} génération ; FOX : céfoxitine ; MA : céfamandole ; CXM : céfuroxime ;
 GM : gentamicine ; TOB : tobramycine ; TET : tétracyclines y compris la tigécycline ; COL : colistine, polymyxine B ;
 FT : nitrofuranes.

2.2. Résistance acquise

Contrairement à la résistance intrinsèque, la résistance acquise se définit comme une caractéristique propre à quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière, provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles.

On décrit deux phénomènes majeures à la base de l'acquisition de résistances par modifications du génome bactérien, à savoir, les mutations responsables des résistances endogènes, et l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger responsable des résistances exogènes. En outre, certaines résistances résultent de l'association d'une mutation et d'un transfert horizontal de gène, comme par exemple les événements conduisant à l'élargissement du spectre des bêtalactamases ou qui leur confèrent une résistance aux inhibiteurs de bêtalactamases (Muylaert et Mainil, 2012).

3. Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques

Certaines bactéries réussissent à échapper à l'action de certains antibiotiques et développent de la résistance. Des différents mécanismes de résistance aux antibiotiques sont illustrés dans la Figure 9.

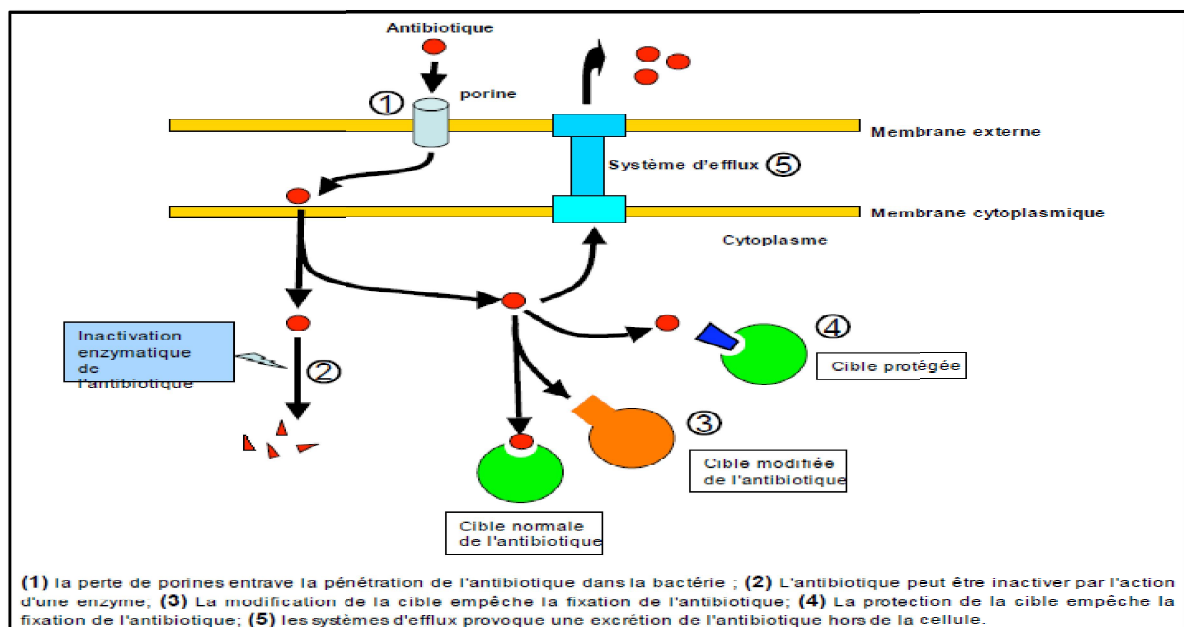


Figure 9 : Représentation schématique des différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (Mammeri 2009).

Tableau 20 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (Carle et al., 2009 ; Muylaert et Mainil, 2012).

Mécanismes de résistance	Conséquences
Inhibition enzymatique	<p>Production d'une enzyme qui inactive ou détruit l'antibiotique : l'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles.</p> <p>Mécanisme de résistance le plus répandu.</p>
Réduction de la perméabilité cellulaire	<p>Des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques.</p> <p>Changements de perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne empêchant le médicament d'atteindre sa cible.</p>
Altération des sites de liaison ciblé par l'antibiotique	<p>La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie.</p> <p>Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible.</p>
Pompes à efflux	<p>L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments par transport actif.</p> <p>La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (le site d'action devenant inaccessible).</p>
Piégeage de l'antibiotique	<p>Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible.</p>

4. Mécanismes génétiques de la résistance acquise aux antibiotiques chez *Klebsiella pneumoniae*

La résistance peut être acquise par des nouvelles mutations ou par l'acquisition des gènes de résistance provenant d'autres organismes (Björg 2011). Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (résistance extrachromosomique) (Carle et al., 2009).

4.1. Résistance par mutation chromosomique

La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20% des bactéries. Les gènes de résistance se situent alors dans le chromosome de la bactérie (évolution verticale). Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mécanisme d'action. Par exemple, la résistance à la Rifampicine et aux Quinolones résulte toujours d'une mutation (Carle et al., 2009).

4.2. Résistance extrachromosomique

L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien situé à l'extérieur et sur certains éléments mobiles du chromosome, tels les plasmides, les transposons, et les intégrons (Carle et al., 2009).

L'ADN peut être transférée par les bactéries de trois manières différentes : la transformation (l'absorption d'ADN nu dans le milieu), la conjugaison (la capacité à transférer de l'ADN par contact de cellule à cellule) et la transduction (c'est le troisième procédé connu de transfert horizontal de gènes, où l'ADN est transféré d'une cellule à l'autre par un virus qui infecte les bactéries appelée bactériophage) (Björg 2011). Ces mécanismes principaux de transfert horizontal d'éléments génétiques sont illustrés dans la Figure 10 (Doublet et al., 2012).

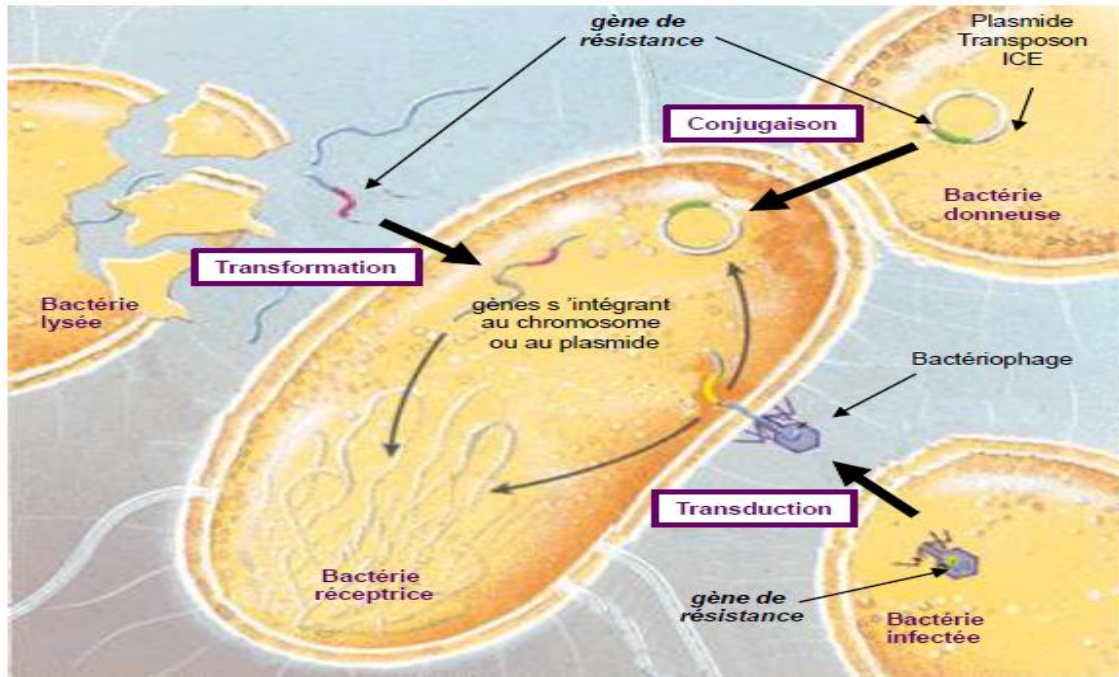


Figure 10 : Diffusent des gènes de résistance aux antibiotiques (Doublet et al., 2012).

4.2.1. Les plasmides

Les plasmides sont des agents essentiels pour le flux horizontal de gènes et donc un composant important de l'évolution bactérienne (Kassis 2012). Ce sont des ADN circulaires extra-chromosomiques capables d'autoréplication et parfois de transfert. Les plasmides codent également pour des fonctions conférant un avantage à la cellule hôte comme leur capacité à porter et à transmettre les gènes codant pour la résistance aux antimicrobiens (Belbel 2014).

En chine, Yang et al. (2010) ont découvert la présence d'un plasmide multi-résistant dit pKP048 appartenant au Groupe F incompatibilité (Inc), a été détecté dans une souche de *K. pneumoniae* clinique résistante aux carbapénèmes isolée à partir d'un échantillon de crachat en 2006. Ce plasmide porte plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques importants, tels que *bla_{KPC-2}*, *bla_{DHA-1}*, *qnrB4* et *armA* qui confèrent la résistance aux Carbapénèmes, les Céphalosporines, Fluoroquinolones et Aminoglycosides respectivement. En plus, un gène codant pour une enzyme 2-phosphotransférerase (Mph2) celui-ci confère une résistance aux Macrolides (Figure 11).

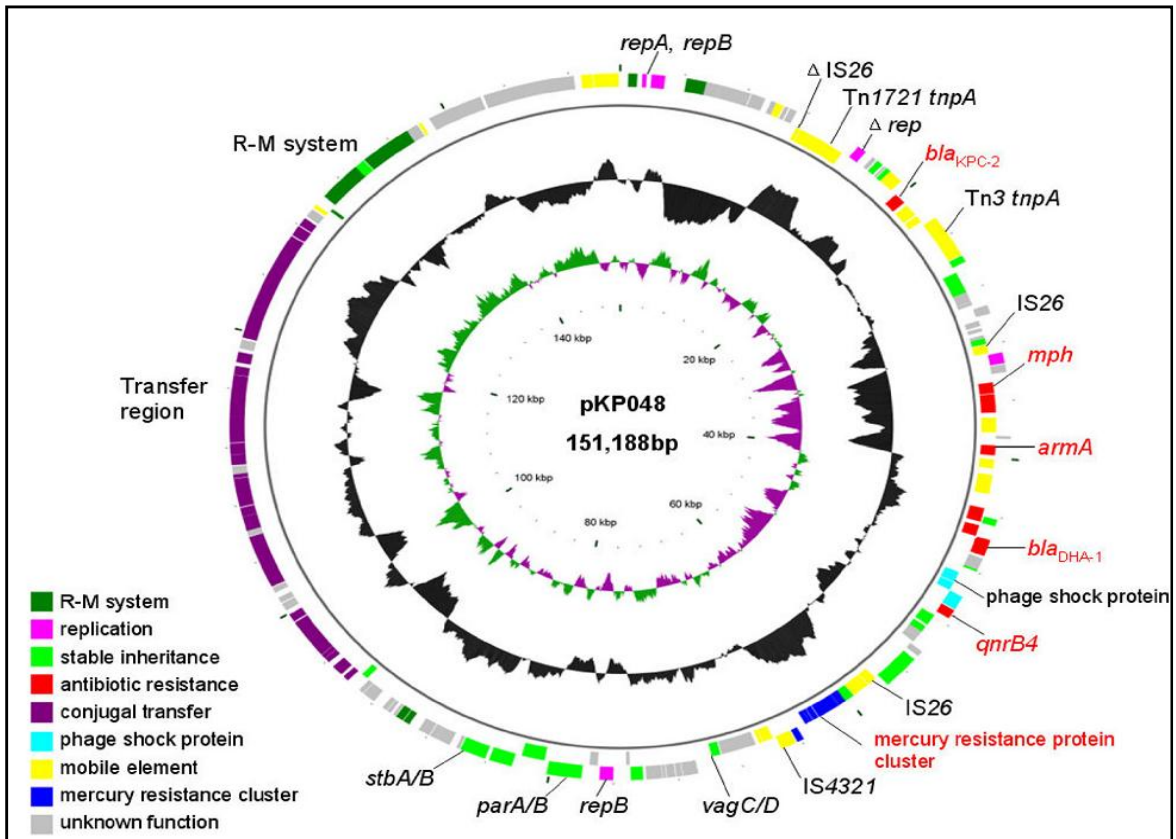


Figure 11 : La carte génétique circulaire du plasmide pKP048 multi-résistant chez une souche hospitalière *K. pneumoniae* (pKP048) (Yan et al., 2010).

Les deux cercles extérieurs représentent les orientations des cadres de lecture ouverts (ORF), dont le plus (extérieure) et moins (à l'intérieure) respectivement. Les gènes sont expliqués par des couleurs dans la clé (Yan et al., 2010).

Un autre plasmide dit pK245 Figure 12, a été découvert à partir d'une souche clinique *K. pneumoniae* isolée au Taiwan. C'est un plasmide circulaire d'une taille de 98264 pb contient 90 gènes, dont 12 gènes codent pour la réplication, le partitionnement, résolution et les fonctions de restriction /modification de l'ADN, et 23 gènes ont des rôles dans la transposition et recombinaison. Ce plasmide porte plusieurs gènes impliqués dans la résistance aux différentes classes d'antibiotiques, tels que *qnrS* qui a conféré une résistance de bas niveau aux Fluoroquinolones et le gène *SHV-2* codant pour la β -lactamase. D'autres gènes conférant une résistance aux Aminoglycosides (*aacC2*, *StrA* et *strB*),

Chloramphénicol (*catA2*), Sulfamides (*sul2*) et Triméthoprime (*dfrA14*) (Chen et al., 2006).

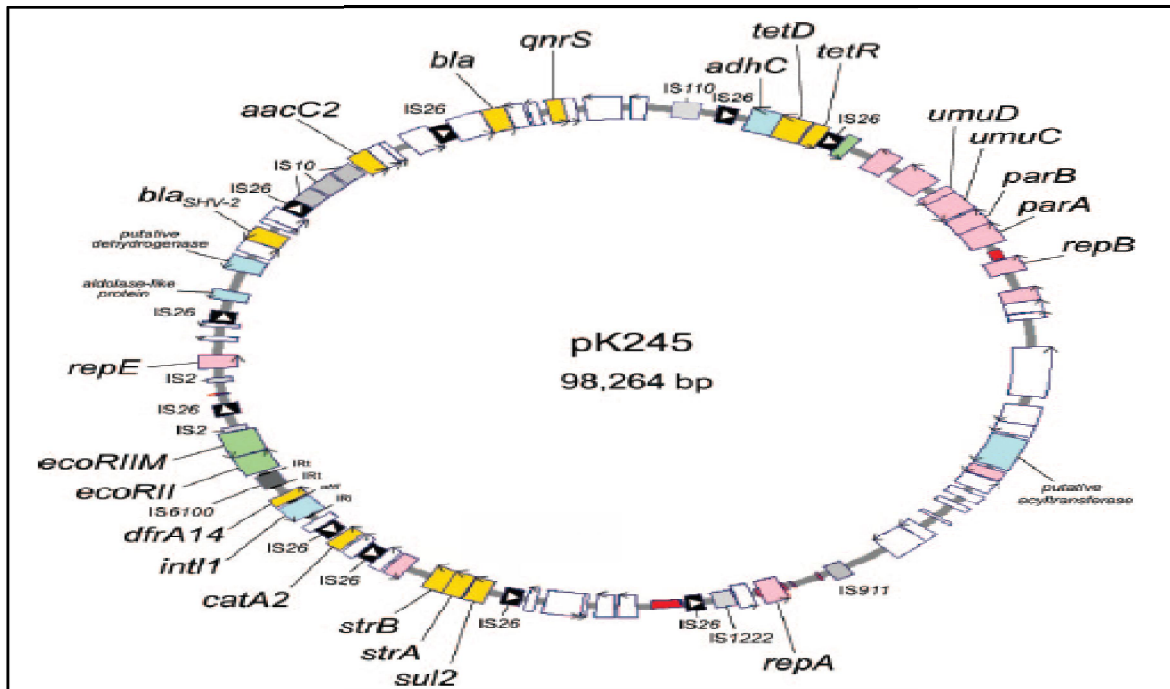


Figure 12 : La carte génétique circulaire du plasmide pK245 de *K. pneumoniae* (Chen et al., 2006).

Les gènes sont montrés par des couleurs comme suit : jaune (la résistance aux antibiotiques), rose (la réplication du plasmide et le partitionnement), noir (avec des triangles blancs indiquant leur orientation), IS26 (différentes couleurs de gris), bleu clair et vert (nucléase et méthylase), blanc (des fonctions inconnues). Les flèches sur les OFRs indiquent la direction de transcription (Chen et al., 2006).

Un autre plasmide dit pKOX-R1 isolé au Taiwan (Figure 13). Selon une recherche dans la base de données NCBI qui a identifié que ce plasmide contient deux régions (I et II) *arma*-associés. Ces deux régions de plasmide portent plusieurs gènes impliqués dans la résistance aux différentes classes d'antibiotiques indiqués par des flèches vertes, tels que *bla_{SHV-12}*, *bla_{CTX-M-3}* et *bla_{TEM-1}* qui confèrent la résistance aux β -lactamines, *fosA*, *qnrS1* et *sul* (1 et 2) conférant la résistance aux Fosfomycins, Fluoroquinolones et les Sulfamides

respectivement. D'autres gènes conférant une résistance aux Aminoglycosides (*aac(3)-II*, *aac(6')-Ib*, *StrA*, *strB*, *aadA2*, *aadA5* et *armA*) (Huang et al., 2013).

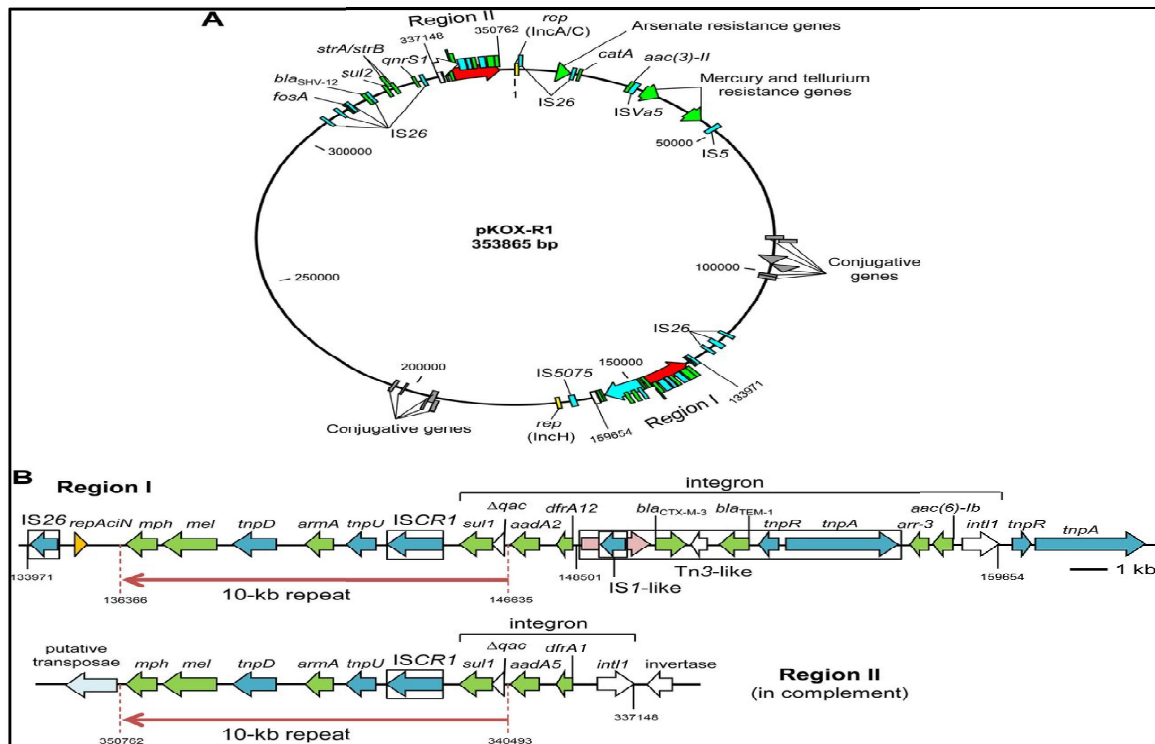


Figure 13 : Représentation schématique du plasmide pKOX-R1 (Huang et al., 2013).

(A) : Le plasmide pKOX-R1 qui indique les déterminants génétiques de la réplication, du transfert, et de la résistance antimicrobienne. (B) : détaillé deux régions *armA*-associés. Les flèches rouges indiquent les répétitions de 10-kb qui contiennent le gène *armA* et les gènes de résistance aux Macrolides (*armA* et *mph*). Les gènes codant pour la transposase sont indiqués par des flèches bleues, Les boîtes indiquent des éléments mobiles (Huang et al., 2013).

Le plasmide PNDM-US avait découvert en Inde. Il indique les déterminants génétiques de la résistance antimicrobienne tels que *bla_{NDM-1}* et *sul1* qui conférant une résistance aux β-lactamines (Imipénème) et Sulfamides respectivement. Les gènes *AAC(6')-Ib* et *RmtC* ont conféré une résistance aux Aminoglycosides (Hudson et al., 2014).

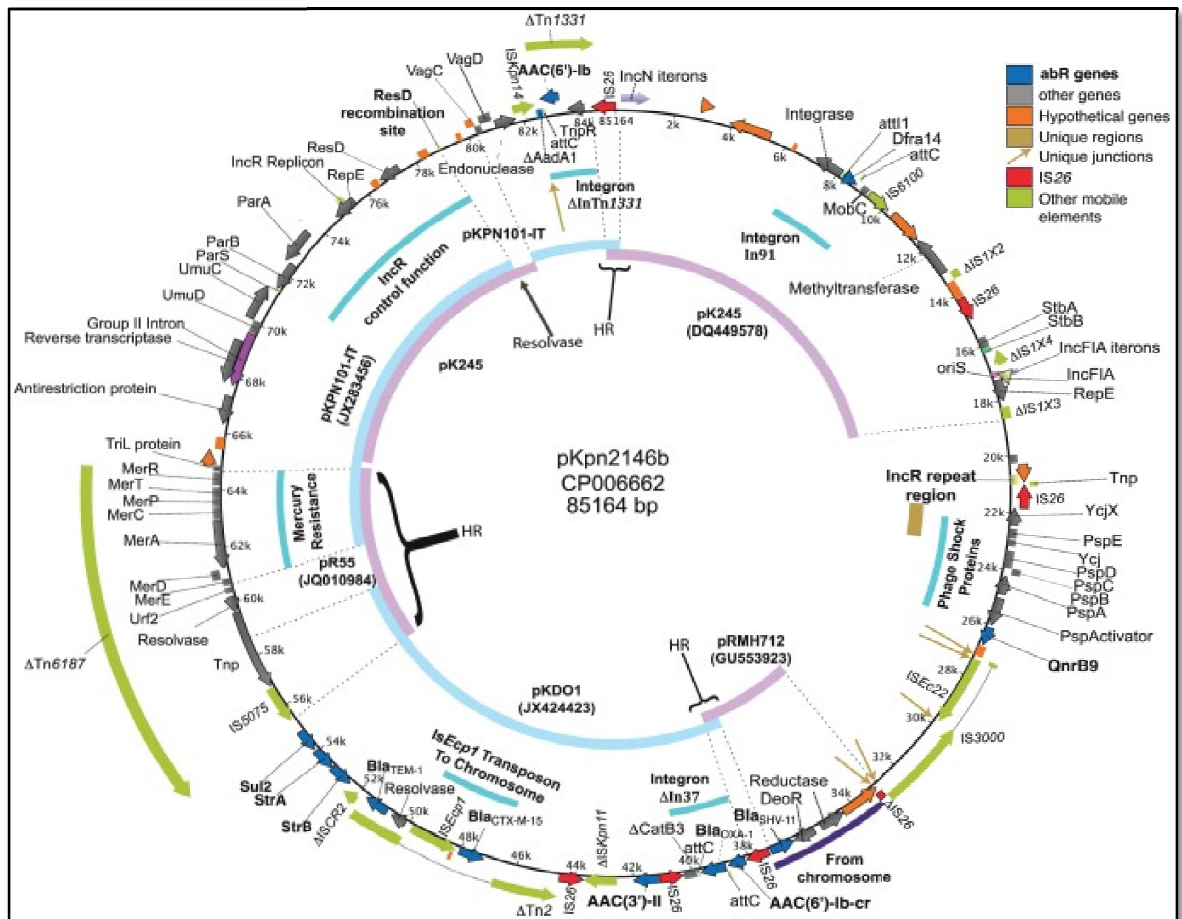


Figure 15 : Le génome complet du plasmide pKpn2146b (Hudson et al., 2014).

4.2.2. Les éléments transposables et les intégrons

4.2.2.1. Les transposons

Les transposons sont des séquences d'ADN qui sont capables de se déplacer d'un endroit dans l'ADN à un endroit différent à l'aide de l'enzyme transposase. Ce mouvement est appelé transposition. Les plus petits transposons dans les bactéries sont les éléments IS, qui ne contiennent que les gènes nécessaires à leur propre transposition. Les transposons sont connus pour porter des gènes de résistance aux antibiotiques (Björg 2011).

4.2.2.2. Les intégrons

Sont des systèmes de recombinaison spécifiques de site permettant de réorganiser des gènes sous forme des cassettes mobilisables par l'action d'une intégrase. Depuis leur

Tableau 21 : Résumé des gènes de résistances aux antibiotiques, leurs fonctions, localisation et le phénotype de résistance.

Gènes	Enzymes	Phénotypes de résistance	Support génétique	Références bibliographique		
<i>bla</i> _{KPC-2}	KPC2	Carbapénèmes	Plasmide (pKP048)	Ma et al (2008) ; Yan Jiang et al (2010)		
<i>bla</i> _{DHA-1}	/	Céphalosporines				
<i>qnrB4</i>	QnrB4	Fluoroquinolones				
<i>armA</i>	/	Aminoglycosides				
<i>mph2</i>	2'-phosphotransférase	Macrolides				
<i>bla</i> _{VIM-1}	Métallo-β-lactamase	β-lactamines (IPM)	Plasmide (pNL194)	Ma et al (2009) ; Miriagou et al (2010) ; Hudson et al (2014) ; Cambou et Guillard (2012)		
<i>aacA7</i>	aminoglycoside- adényl transférase	Aminoglycosides				
<i>aadA1</i>						
<i>aadA2</i>						
<i>dfrA1</i>	dihydrofolate réductase (DHFR)	Diamynopyrimidines (Triméthoprimine)				
<i>dfrA12</i>						
<i>aphA1</i>	Kanamycine phosphotransférase	Kanamycine				
<i>strA-like</i>	Stréptomycine phosphotransférase	Streptomycine				
<i>strB-like</i>						
<i>sul1</i>	dihydropteroate synthase	Sulfonamides				
<i>bla</i> _{CTX-M-3}	CTX-M-3	β-lactamines	pKOX-R1	Miriagou et al (2010) ; Huang et al (2013) ; Hudson et al (2014)		
<i>bla</i> _{TEM-1}	TEM-1					
<i>bla</i> _{SHV-12}	SHV-12					
<i>aadA2</i>	/	Aminoglycosides				
<i>aadA5</i>	/					
<i>aac(6')-Ib</i>	/					
<i>Dfr</i>	/	Triméthoprimine				
<i>Sul</i>	/	Sulfonamides				
<i>bla</i> _{KPC-2}	KPC2	β-lactamines (Oximino- Céphalosporine et l'Imipénème)			Tn4401	Pool (2004) ; Cuzon et al (2010) ; Chen et al (2012) ; Boutet-Dubois et al (2012) ; Frasson et al (2012)
<i>aac(6')-Ib</i>	/	Tobramycine, Amikacine, Nétilmycine, Sisomycine			pJHCMW1 (Tn1331)	Sarno et al (2002) ; Hudson et al (2014)

Partie I : Recherche Bibliographique

<i>aadA1</i>	/	Aminoglycosides		
<i>bla_{OXA-9}</i>	/	β -lactamines		
<i>bla_{TEM-1}</i>	/	Pénicillines, quelques Céphalosporines		
<i>qnrA</i>	QnrA	Quinolones et Fluoroquinolones à bas niveau	Intégron de classe I	Rodriguez-Martinez et al (2006) ; Meradi et al (2011)
<i>qnrA3</i>	/	Quinolones (Ciprofloxacine) et Fluoroquinolones à bas niveau	(pHe96) Intégron de classe I.	Park et al (2006) ; Lascols et al (2008)
<i>aac(6')-Ib-cr</i>	aminoglycoside acétyl transférase			
<i>bla_{OXA-1/30}</i>	/	β -lactamines		
<i>CatB3</i>	/	Phénicoles (CHL)		
<i>arr-3</i>	/	Fosfomycine, Rifampicine		
<i>qacEA1</i>	/	Ammonium quaternaire		
<i>Dfr</i>	/	Triméthoprim		
<i>bla_{VIM-1}</i>	Métallo- β -lactamase (classe B).	β -lactamines (IPM)		
<i>aacA7</i>	aminoglycoside adényl-transférase.	Aminoglycosides	Intégron de classe I (pNL194)	
<i>aadA</i>				
<i>dfrA1</i>	dihydrofolate réductase	Triméthoprim		
<i>bla_{NDM-1}</i>	/	β -lactamines	Plasmide conjugatifs (Inc H)	Poirel et al (2011) ; Villa et al (2012)
<i>bla_{CTX-M-15}</i>	/	(Imipenème)		
<i>qnrB1</i>	/	Quinolones		
<i>bla_{SHV-1}</i>	SHV-1	pénicillines et les céphalosporines à spectre étroit	Séquence d'insertion (IS26)	Pool, (2004) ; Jain et Mondal (2008)
<i>bla_{CTX-M-15}</i>	CTX-M-15	Céfotaxime, Céftriaxone	Séquence d'insertion (ISEcp1)	Arafa (2011) ; Elhani et al (2011)
<i>bla_{SHV11}</i>	SHV11 (Classe A)	Pénicillines, quelques Céphalosporines	1. pKpn2146b 2. Chromosome	Hudson et al. (2014)

Partie I : Recherche Bibliographique

<i>bla</i> _{CTX-M-15}	CTX-M-15 (Classe A)	Pénicillines, quelques Céphalosporines, Aztréoname	1. pKpn 2146b (ISEcp1) 2. Chromosome (ISEcp1)
<i>bla</i> _{TEM-1}	TEM-1 (Classe A)	Pénicillines, quelques Céphalosporines	pKpn2146b (Tn2)
<i>bla</i> _{OXA-1}	OXA-1 (Classe D)	Pénicillines	pKpn2146b ΔIn37
<i>aac(6')-Ib</i>	<i>aac(6')-Ib</i> (1)	Tobramycine, Amikacine, Nétilmycine, Sisomicine	pKpn2146b (ΔInTn1331)
<i>Sul2</i>	Sul2	Sulfonamides	pKpn2146b (ISCR2)
<i>dfrA14</i>	DfrA14	Triméthoprim	pKpn2146b (In191)
<i>qnrB9</i>	QnrB9	Quinolones, Fluoroquinolones	pKpn2146b
<i>AAC(3)-Ile</i>	AAC(3)-Ile	Tobramycine, Nétilmicine, Sisomicine, Gentamicine	pKpn2146b
<i>RmtC</i>	RmtC	Aminoglycosides	pNDM-US ISEcp1
<i>mph A</i>	Mph(A)	Macrolides, Erythromycine	pKpn2146c
<i>FosA</i>	FosA	Fosfomycine	Chromosome
<i>AcrAB-TolC</i>	AcrAB-TolC	Aminoglycosides, β-lactamines, Tigécycline, Macrolides	Chromosome
<i>EefABC</i>	EefABC	Chloramphénicol, Tétracyclines, Ciprofloxacine	Chromosome
<i>MacAB-TolC</i>	MacAB-TolC	Macrolides	Chromosome
<i>gyrA</i>	<i>gyrA</i> Gyrase	Quinolone, fluoroquinolones	Ser83TTC → IleATC
<i>EmrAB</i>	EmrAB	Acide nalidixique	Chromosome
<i>TetA</i>	TetA(A)	Tétracyclines	pKpn2146c Tn1721

1. Matériel

Ce travail représente une étude prospective, durant une période de 14 mois s'étendant de Janvier 2015 à Février 2016, dans le laboratoire de Bactériologie à l'hôpital de Mila «sept frères Meghlaoui». Nous sommes intéressés à isoler, identifier *Klebsiella pneumoniae*, et étudier sa résistance aux antibiotiques selon la nature du prélèvement. Les prélèvements provenant de divers produits pathologiques (Urine, Vagin et Pus), ont été effectués selon la technique appropriée à chaque prélèvement. Les isolats provenaient de patients hospitalisés et consultants externes. Des fiches de renseignement ont été soigneusement remplis au niveau de l'hôpital, résumant les informations épidémiologiques sur *K. pneumoniae* (Voir Annexe 7).

1.1. Présentation du lieu d'étude

L'Etablissement Publique Hospitalier (EPH) des Frères Meghlaoui est le siège du secteur sanitaire de Mila regroupant 8 communes. L'hôpital à une capacité d'accueil de 152 lits et contient 5 services (service de chirurgie, service gynéco-obstétrique, service de pédiatrie, Urgences Médico-chirurgicale (UMC) et le service d'accompagnement). Il a pour mission la prise en charge curative et préventive des cas qui relève des pathologies essentiellement chirurgicale. Pour assurer à bien cette mission il est composé des services suivants:

Chirurgie : Capacité de 64 lits dans lequel ils ont développé les activités de : chirurgie viscérale, chirurgie pédiatrique, chirurgie O.R.L, chirurgie traumatologique, chirurgie urologique.

Gynéco-obstétrique : Capacité de 44 lits. Ce service prend en charge tous les cas, sauf les cas nécessitant une prise en charge spécialisée.

Pédiatrie : Capacité de 32 lits. Il a 9 spécialistes, assurant la prise en charge de tous les enfants même ceux qui sont orientés des établissements limitrophes.

UMC : Capacité de 10 lits d'observation + 2 lits pour les soins intensifs. Les urgences sont assurées par une équipe pluridisciplinaire (médecins généralistes, chirurgiens, médecins anesthésistes, réanimateurs et traumatologue).

Services d'accompagnement :

- Une paillasse d'analyses médicales regroupant tous les analyses médicales d'urgence fonctionnelle H 24.
- Un service de radiologie assurant les examens standards médicale.
- Un service de pharmacie assurant l'approvisionnement du service en médicaments, consommables et accessoires médicaux de jour comme de nuit.

Le laboratoire : C'est un service large constitué de plusieurs laboratoires spécialisés : laboratoire de Biochimie, laboratoire de Sérologie, laboratoire de Parasitologie, laboratoire d'Hématologie et un laboratoire de Bactériologie. Tous ces laboratoires assurent la majorité des examens médicaux. Le laboratoire de Bactériologie réceptionne environ de 13-17 ECBU (Examen Cytobactériologique des Urines) par jour. En plus de ces laboratoires il existe un laboratoire d'anatomie pathologique doté de tout le matériel nécessaire.

Le bloc opératoire : Doté de 3 salles opératoires, il assure les urgences et le programme durant tous les jours ouvrables de la semaine.

Le personnel comprend :

- Des médecins spécialistes en : chirurgie générale, chirurgie pédiatrique, ORL, traumatologue, urologue, anesthésistes, médecin de travail, pédiatre Anapath, gynécologue, ophtalmologue, médecin légiste, biochimiste, bactériologue, médecin spécialiste en oncologie, un médecin généraliste et un pharmacien.

Le matériel de laboratoire :

- Dessiccateur, Automate, Agitateur, Bain marie, Ionogramme, Spectrophotomètre, Autoclave pour la stérilisation, Electrophorèse, Centrifugeuse, Coagulant-métrer, Microscope optique, Hotte de bactériologie, Etuve de marque JOUAN et Etuve à CO₂, Réfrigérateurs pour la conservation des milieux de culture préparés et les réactifs.

Le matériel et les produits utilisés dans l'isolement, l'identification et l'antibiogramme sont indiqués dans le Tableau 22.

Tableau 22 : Matériel et produits.

Matériel	Produits
-Ecouillons stériles -Anse de platine -Tubes à essais -Etuve (Memmert) -Autoclave -Bec bunsen -Vortex -Spatule -Barreau magnétique -Balance de précision -Tubes coniques (Eppendorf) -Pipettes Pasteur -Eprouvettes -Erlenmeyer -Flacons en verre avec bouchon rodé -Agitateur magnétique -Embouts stériles -Micropipette automatique (SOCOREX 1000 µl) -Papier buvard -Portoir -Cuves en plastiques pour spectrophotomètre -Boîtes de Pétri -Pince en métal	Isolement et identification : -Gélose Hektoen (LIOFILCAM) -Gélose Nutritive -Bouillon Nutritif (BIOKAR) -Eau physiologique -Eau distillée Conservation : -Glycérol -Bouillon Nutritif (BIOKAR) Galerie biochimique : -Mannitol-Mobilité -Citrate de Simmons -TSI (glucose, lactose, saccharose, H ₂ S) -Disques ONPG -Indole -Urée-Indole -Eau oxygéné -Réactif de Kovacs Antibiogramme : -Gélose Mueller-Hinton (BIOKAR) -Antibiotiques en disque

1.2. Souches bactériennes

La collecte d'informations de manière prospective sur les souches de *K. pneumoniae*, s'est étendue sur 14 mois de Janvier 2015 à Février 2016, avec des fréquences d'isollements indiqués dans le Tableau 23. Les informations ciblées sont : la date du prélèvement, le sexe du patient, l'âge, nature de prélèvement et le service où le malade a été admis, Tableau 28.

Tableau 23 : Fréquences d'isolement de 56 souches de *K. pneumoniae* dans l'hôpital de Mila (2015/2016).

Années et mois	Nombre de souches	Pourcentage %	
2015	Janvier	07	12,5
	Février	03	5,36
	Mars	06	10,71
	Avril	01	1,78
	Mai	06	10,71
	Juin	06	10,71
	Juillet	03	5,36
	Aout	04	7,14

	Septembre	04	7,14
	Octobre	07	12,5
	Novembre	03	5,36
	Décembre	01	1,78
2016	Janvier	00	00
	Février	05	8,93
Total		56	100

Parmi les 56 souches isolées et identifiées au niveau du laboratoire de Bactériologie à l'hôpital de Mila, nous avons manipulé 5 souches (*Kp1*, *Kp2*, *Kp3*, *Kp4*, *Kp5*) de *K. pneumoniae* (3 souches collectées à Aout et 2 à Septembre /2015), provenant de prélèvements urinaires dans le laboratoire de Microbiologie de l'Institut des Sciences et de la Technologie (Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

2. Méthodes

2.1. Culture et purification des souches

Les isolats ont été cultivés sur le milieu sélectif Hektoen par la méthode des stries, puis incubés à l'étuve à 37°C pendant 24h. *Klebsiella* spp. sur le milieu Hektoen, donne de grandes colonies muqueuses, lisses, bombées, brillantes, à extrémités arrondies, lactose + (apparition de couleur jaune sur le milieu Hektoen), ayant un aspect de goutte de miel, avec une tendance à la confluence, se présentant de manière isolées, groupées en diplobacilles ou en courtes chaînettes (Figure 17).

La Figure (17) présente la méthode d'ensemencement et d'incubation de *K. pneumoniae*.



(a)



(b)



(c)

Figure 17 : (a) : Aperçu de la paillasse avant la manipulation ; (b) : Méthode d'ensemencement de *K. pneumoniae* par stries sur le milieu Hektoen ; (c) : Incubation de *K. pneumoniae* à l'étuve à 37°C/24h (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

2.2. Tests biochimiques d'identification

Les tests biochimiques d'identification sont illustrés dans le Tableau 24.

Tableau 24 : Tests utilisés pour l'identification biochimique de *K. pneumoniae* (Garnier et Denis, 2007 ; Kouta 2009).

Tests	Méthode	Résultats
Triple Sugar Iron (TSI)	La pente du milieu TSI est ensemencée par stries et le culot par piqure centrale, puis incubation à 37°C/18h.	Culot jaune : traduit la fermentation du glucose. Pente jaune : traduit l'utilisation du lactose ou saccharose ou les deux à la fois. La présence de bulles de gaz signifie la fermentation avec production du gaz. Coloration noire, signifie la production d'hydrogène sulfuré (H ₂ S).
Citrate de Simmons (CS)	La pente du milieu Citrate de Simmons est ensemencée avec une strie sur toute la surface. Incubation à 37°C, pendant 18h.	Une réaction positive se traduit par une alcalinisation du milieu en le faisant virer le bleu de bromothymol du vert au bleu.
	L'ensemencement du milieu s'est fait par piqure centrale dans le culot jusqu'au fond du	- La fermentation du mannitol se révèle par une acidification du milieu qui fait virer l'indicateur de pH au jaune.

Mannitol-Mobilité	tube. Incubation dure 24h à 37°C.	- La mobilité se traduit par la diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement vers la périphérie, en créant une turbidité, les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la pique centrale.
Indole	Faire une suspension bactérienne dense en eau peptone exempte d'indole (riche en tryptophane) suite à un Incubation à 37°C/ 24h, et après ajouter deux à trois gouttes du réactif de Kovacs.	Certaines bactéries dégradent le tryptophane en indole grâce à une enzyme tryptophanase. Formation d'un anneau rouge : Indole (+). Formation d'un anneau brunâtre : Indole (-).
Production de l'uréase (Urée-indole)	Ce test consiste à inoculer dans le milieu urée indole des colonies bactériennes identiques, suite à une incubation de 18h à 37°C.	La recherche de l'uréase consiste à démontrer la transformation de l'urée en ammoniac en milieu alcalin, ce qui fait virer l'indicateur de pH (rouge de phénol) du jaune au rouge violette en milieu basique. Coloration rouge violette : Uréase (+). Coloration jaune : Uréase (-).
Test de l'ONPG (production de β-galactosidase)	Prélever à l'anse de platine, une ou deux colonies à partir du milieu de culture et mettre dans un tube à essai contenant 5 ml d'eau physiologique, puis déposer un disque imprégné d'ONPG et Incuber à l'étuve à 37°C/ 24h.	ONPG ⁺ : donne une coloration jaune qui se traduit l'hydrolyse d'ONPG. Pas de coloration : ONPG ⁻ $\begin{array}{ccc} \text{ONPG} & \xrightarrow{\quad} & \text{ONP} + \text{galactose} \\ (\text{incolore}) & \uparrow & (\text{jaune}) \\ & \beta\text{-galactosidase} & \end{array}$
Test de la Catalase	A partir d'un milieu solide et aérobie, prélever à l'aide d'une Pipette Pasteur, une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame.	Cette enzyme catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂). La présence de la catalase se traduit par la production de bulle d'oxygène. Pas de bulles: Catalase négative. $\begin{array}{ccc} \text{H}_2\text{O}_2 & \xrightarrow{\quad} & \text{H}_2\text{O} + 1/2 \text{O}_2 \\ & \uparrow & \\ & \text{Catalase} & \end{array}$

2.3. Réalisation pratique de l'antibiogramme

La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle convient pour la majorité des bactéries pathogènes incluant les bactéries à croissance lente ; elle permet une variété dans le choix des antibiotiques et ne requiert aucun matériel particulier (CA-SFM 2015).

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

Pour chaque souche de *K. pneumoniae* isolée un antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton qui est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic et qui permet la détermination de la sensibilité aux antibiotiques. Le protocole utilisé dans notre étude est celui du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie et qui est réalisé selon des étapes bien déterminés.

Matériel utilisé pour l'antibiogramme

- Gélose Muller-Hinton coulée en boîtes pétri.
- Disques d'antibiotiques.
- Souche pure de la bactérie à étudier.
- Ecouvillons.
- Cuves en plastique pour spectrophotomètre.
- Pipette.
- Tubes à essais stériles.
- Pincettes stériles.
- Bec bunsen.
- Agitateur vortex.
- Portoir de tubes.
- Pipette Pasteur.
- Eau physiologique stérile.

Préparation du milieu Muller-Hinton

- Le milieu préparé précédemment doit être coulé en des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm (Figure 18).
- La surface de la gélose doit être séchée avant l'emploi environ 15 min.

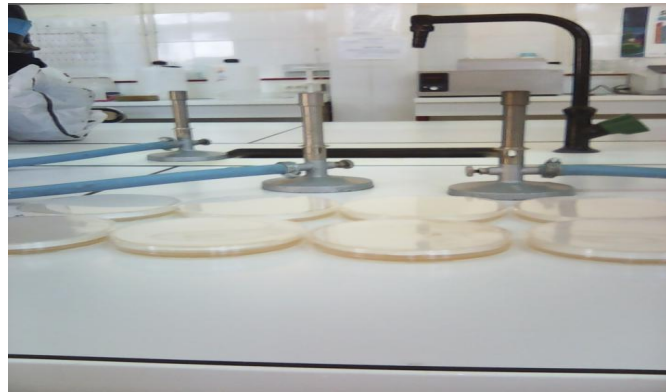


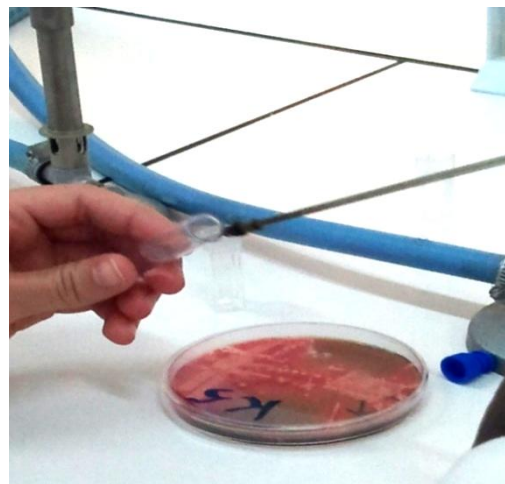
Figure 18 : Coulage du milieu Mueller-Hinton en boîtes de Pétri (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture bactérienne pure et jeune incubée de 18 à 24h à 37°C, prélever quelques colonies isolées et réaliser une suspension bactérienne en solution d'eau physiologique stérile.
- Avant usage, mélanger vigoureusement le tube par Vortex.
- Un spectrophotomètre est employé pour ajuster l'inoculum pour atteindre une turbidité équivalente à 0.5 McFarland ou a une D.O. de 0,08 à 0,13 à 625 nm.



(a)



(b)

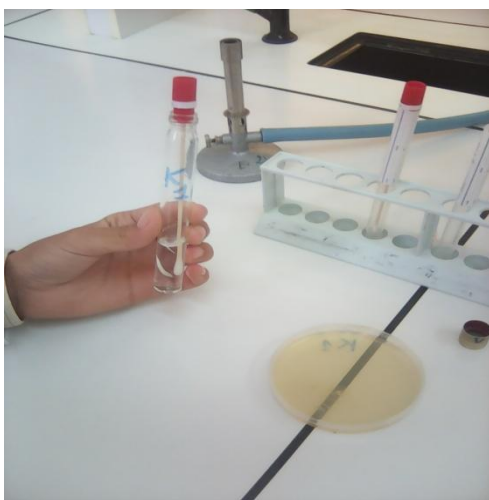


(c)

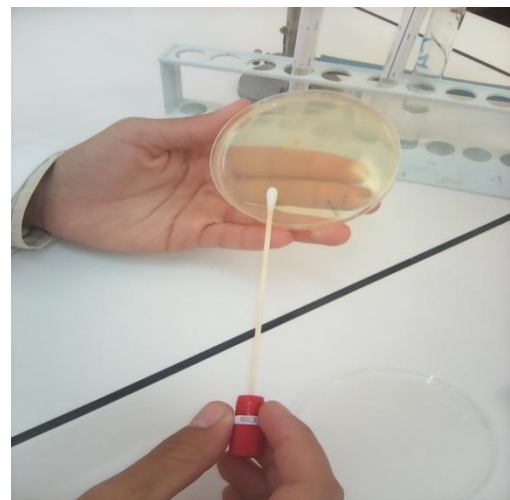
Figure 19 : (a, b et c) : Préparation de l'inoculum de *K. pneumoniae* pour l'antibiogramme (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdalhafid BOUSSOUF de Mila).

Ensemencement

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



(a)



(b)

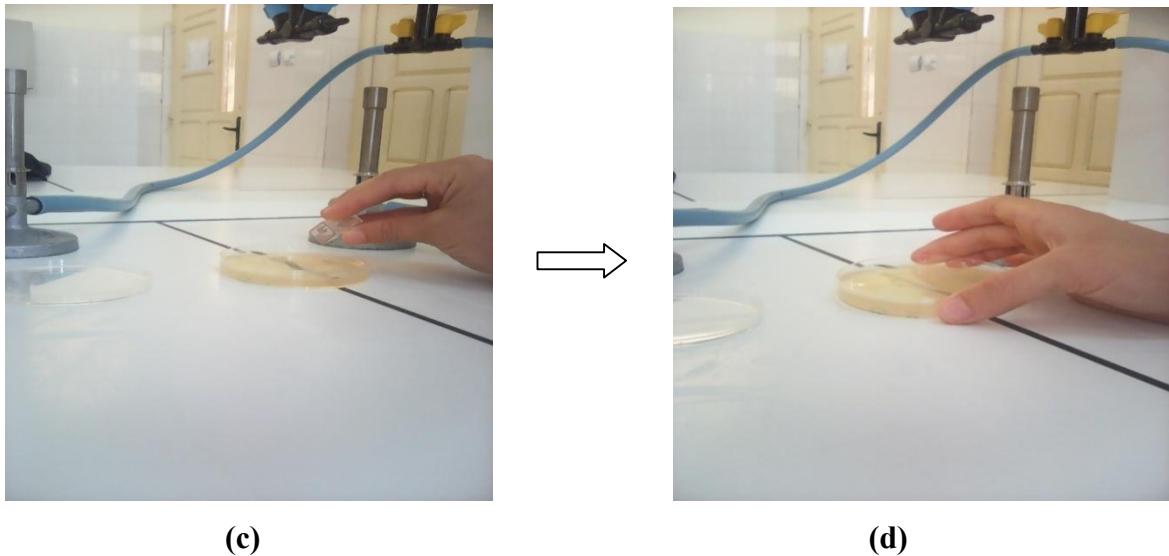


Figure 20 : (a et b) : Méthode d'ensemencement de *K. pneumoniae* par strie sur le milieu Mueller-Hinton par l'écouvillon ; **(c et d) :** Méthode d'ensemencement par inondation, le surplus de l'inoculum est éliminé (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdalhafid BOUSSOUF de Mila).

Application des disques d'antibiotiques

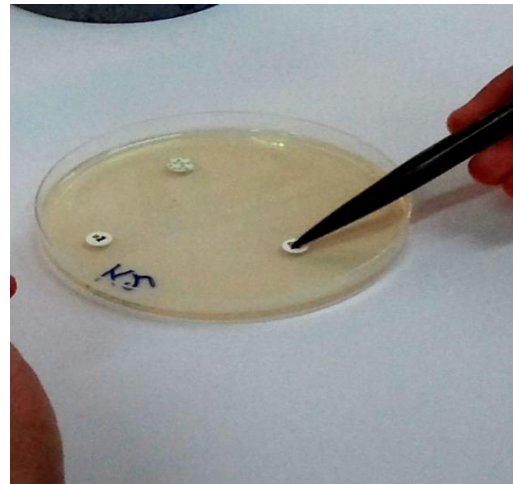
- Déposer les disques fermement à la surface de la gélose inoculée et sécher. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.
- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques.
- Les antibiotiques testés sont les suivants : Vancomycine (30 μ g), Ertapénème (10 μ g), Imipénème (10 μ g), Céfotaxime (30 μ g), Gentamycine (10 μ g), Colistine (25 μ g), Pristinamycine (30 μ g), Amikacine (10 μ g), Acide Nalidixique (30 μ g), Céfoxitine (30 μ g) et Amoxicilline (25 μ g).



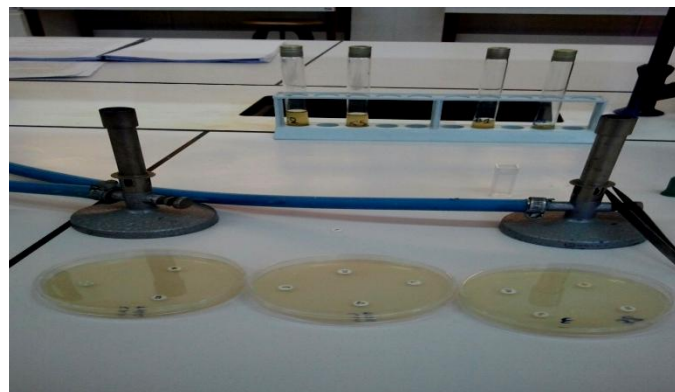
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 21 : (a) : Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme de *K. pneumoniae* ; (b, c et d) : Application des disques d'antibiotiques (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdalhafid BOUSSOUF de Mila).

Incubation

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



Figure 22 : Incubation de *K. pneumoniae* à l'étuve à 37°C pendant 16 à 24h (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

Lecture des résultats

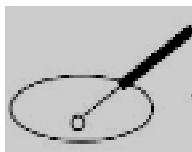
- Mesurer les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche avec une règle ou un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.
- Interpréter les diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux où figurent les concentrations critiques (Tableau 8).
- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

La Figure 23 résume les étapes de l'antibiogramme.

1- Préparation du milieu Muller-Hinton, puis laisser séché la surface de la gélose pendant 15 min à 37°C



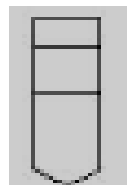
2- Préparation de l'inoculum



Toutes les manipulations sont effectuées dans la zone stérile

Prendre 2 à 3 colonies bien isolées

3- Ensemencement



Mettre dans une tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile puis régler l'absorbance à 0,08-0,13 à $\lambda = 625 \text{ nm}$

A- par inondation

B- par écouvillonnage

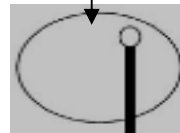
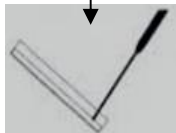
Inonder la suspension sur la surface de la gélose



Prolonger l'écouvillon dans la suspension

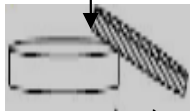


Réaspirez l'excès à l'aide d'une Pipette Pasteur

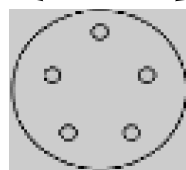


Ensemencer par des stries pour former un tapis puis laisser sécher

Laisser sécher



4- Application des disques d'antibiotiques



NB: une fois le disque déposé il ne doit pas être déplacé

Figure 23 : Les étapes de test de l'antibiogramme.

2.4. Détermination du phénotype de résistance des BLSE

Selon CA-SFM (2015), la présence d'une BLSE peut être confirmée par des méthodes quantitatives ou qualitatives.

- Les méthodes quantitatives:
 - la mesure d'une augmentation de 5 mm du diamètre de la zone d'inhibition d'un disque de Céfotaxime, Ceftazidime et Cefepime combiné(s) à l'Acide Clavulanique comparativement à la zone d'inhibition autour de ce(s) même(s) disque(s) utilisé(s) sans Acide Clavulanique.
- La méthode qualitative peut consister sur l'utilisation de la méthode de la synergie.
 - **Test de synergie**

La recherche de β -lactamase à spectre étendue est fait dans les conditions standard de l'antibiogramme, puis en disposant les disques d'ATB : un disque d'Amoxicilline /Acide Clavulanique (AMC 20/10) et les disques de C3G (Céfotaxime "CTX" 30 μ g, Cefepime "FEP" 30 μ g, Ceftazidime "CAZ" 30 μ g) et l'Aztréonam (ATM 30 μ g) à une distance de 20 à 30 mm sur les boîtes de Pétri (Figure 24). Incubation pendant 18h à 37°C, la production des enzymes BLSE se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques d'AMC et les C3G (Benmesmoudi 2015).

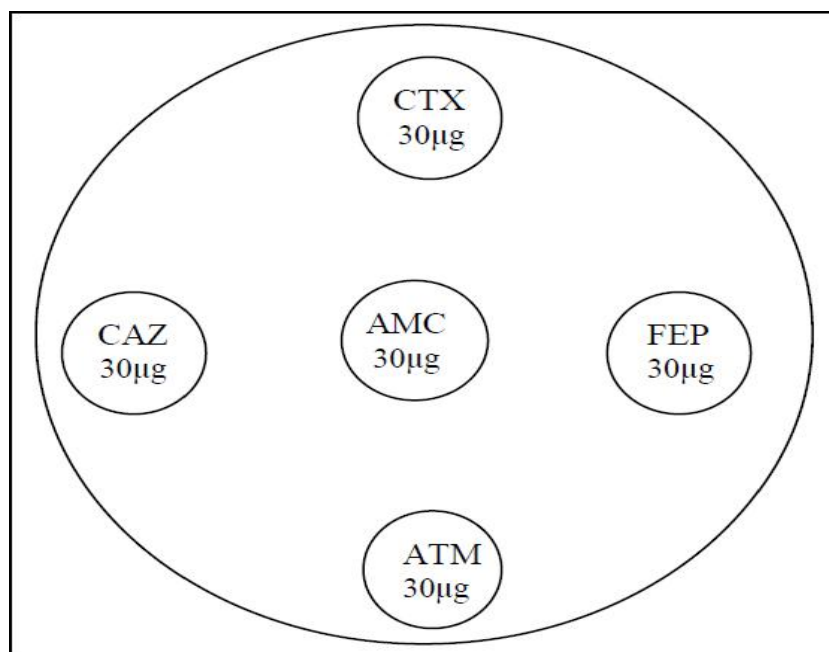
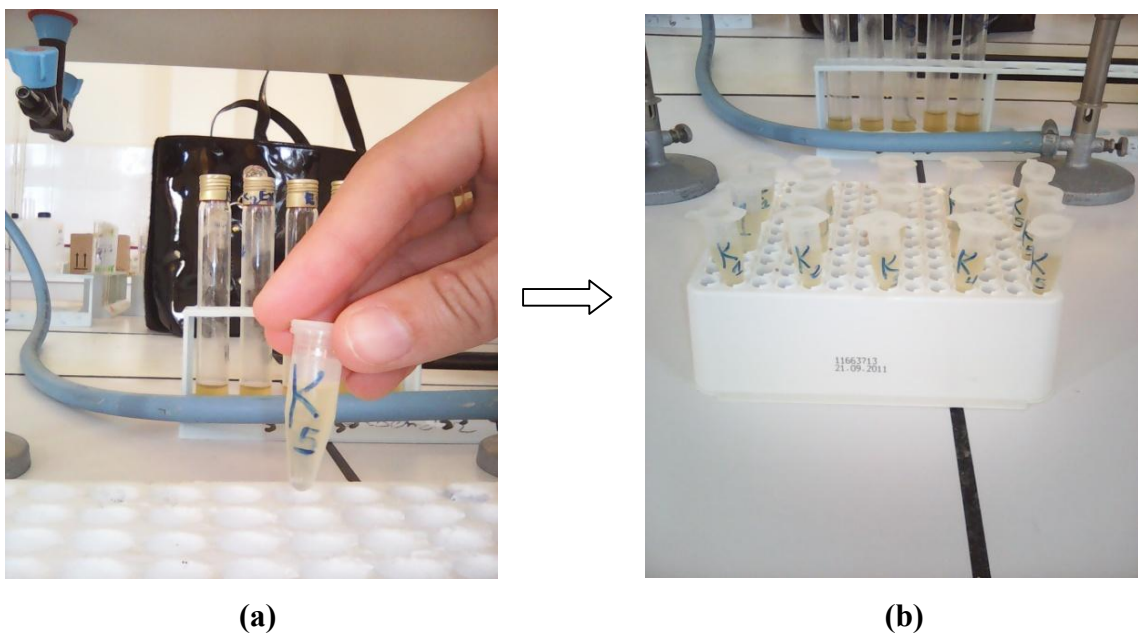


Figure 24 : Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie (Benmesmoudi 2015).

2.5. Conservation des souches

La conservation pour longue durée des souches a été réalisée par ensemencement dans le bouillon nutritif glycérolé à 20% (800µl du bouillon nutritif + 200µl du glycérol). Après incubation pendant 24h à 37°C. Chaque souche doit être conservée en plusieurs copies. Les tubes ont été stockés au congélateur à -20°C.



Figures 25 : (a et b) : Conservation de *K. pneumoniae* dans le bouillon glycérolé (20%) au congélateur à -20°C (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).


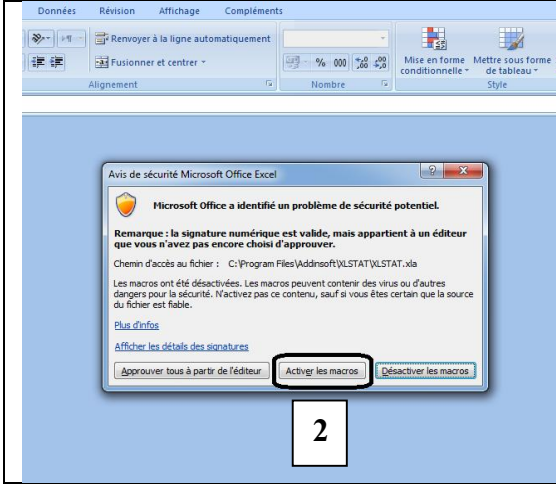
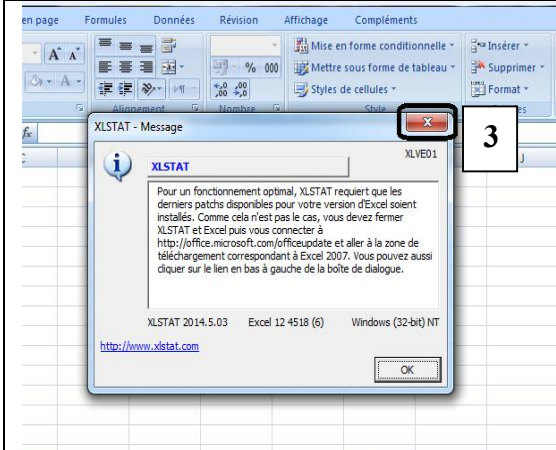
2.6 Analyse statistique

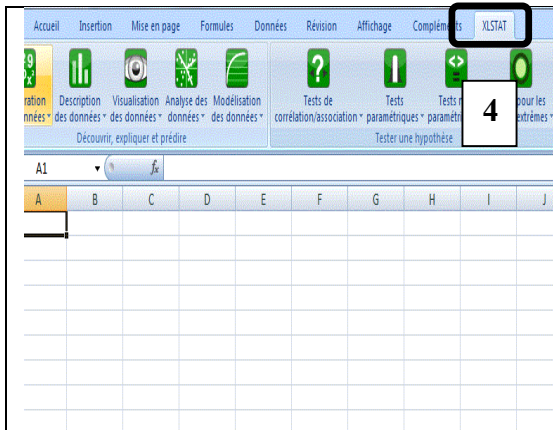
L'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) est utilisé pour représenter graphiquement les proximités entre les modalités (aussi appelées catégories) de deux variables qualitatives. Les variables qualitatives peuvent être disponibles sous forme d'un tableau individus/variables, ou sous forme d'un tableau de contingence (tableau croisé).

L'utilisation du logiciel Xlstat 2014, nous a permis de construire l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) pour les 11 antibiotiques les plus utilisés à l'hôpital de Mila de 2014 à 2016. Les deux variables étudiés dans cette analyse sont l'incidence de la résistance aux antibiotiques en pourcentage et la nature des prélèvements durant les années d'études.

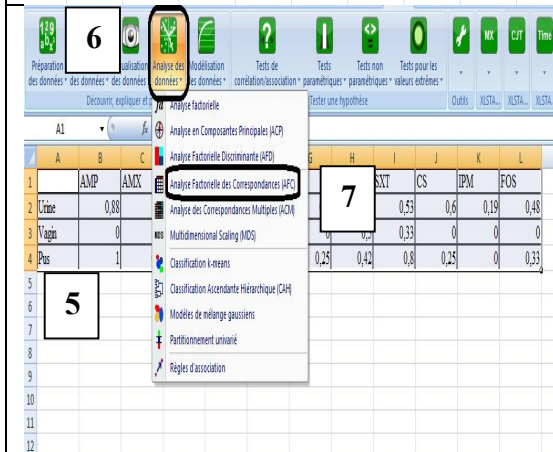
Les étapes de l'analyse AFC par le logiciel Xlstat 2014 sont résumées dans le Tableau 25.

Tableau 25 : Les étapes de l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) par le logiciel Xlstat 2014.

	<p>1- Cliquez sur le raccourci XLSTAT 2014</p>
	<p>2- Cliquez sur «Activer les macros»</p>
	<p>3- Fermer la fenêtre qui apparaît</p>



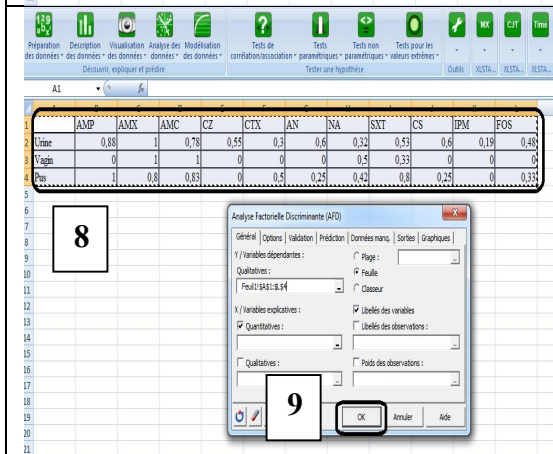
4- Cliquez sur la fonction XLSTAT



5- Insérer le tableau des données

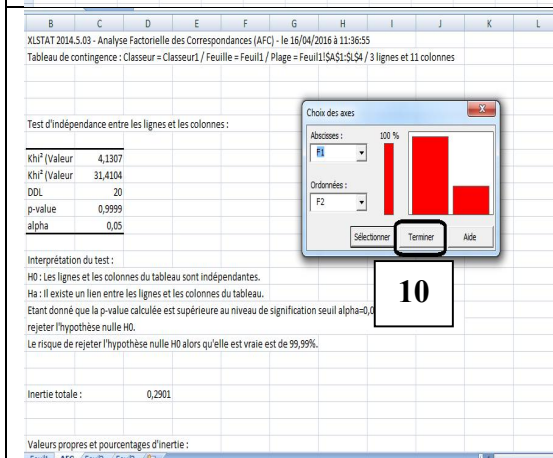
6- Cliquez sur «Analyse des données»

7- Dans le menu qui apparaît choisissez «Analyse Factorielle des Correspondances (AFC)»

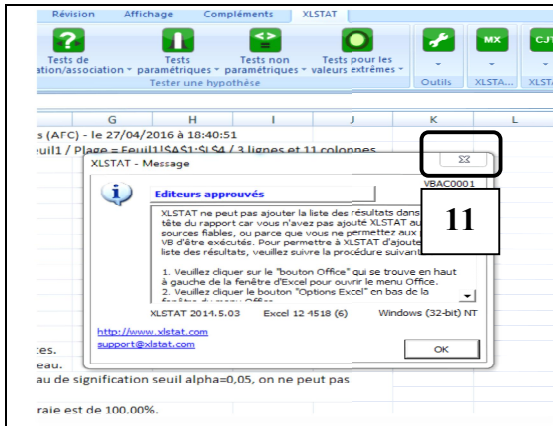


8- Sélectionnez le tableau

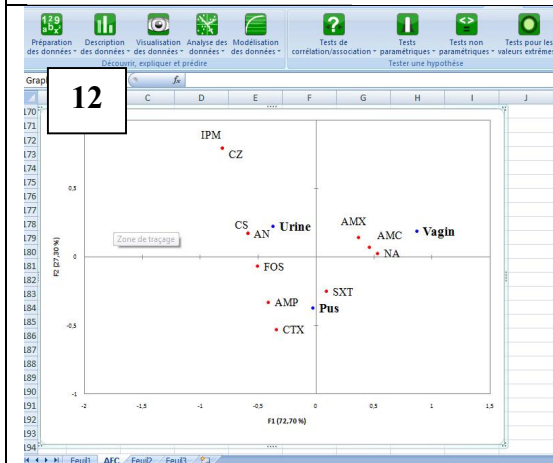
9- Cliquez sur OK



10- Cliquez sur «Terminer»



11- Fermez la fenêtre apparaît





12- Copier le graphique de l'AFC

3. Résultats et Discussion

Le Tableau 26 résume les résultats de l'identification phénotypique et des tests de l'antibiogramme effectués au laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila (2015-2016).

Tableau 26 : Résultats de l'identification phénotypique et antibiogramme.

	<p>Aspect macroscopique des colonies de <i>K. pneumoniae</i> sur gélose Hektoen. Les colonies sont rondes, grandes (3 à 4 mm), lisses, bombées, brillantes et confluentes (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>
	<p>Aspect macroscopique des colonies de <i>K. pneumoniae</i> sur gélose nutritive. Les colonies sont rondes, blanches, grandes (3 à 4 mm), bombées, lisses, brillantes, et confluentes (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>




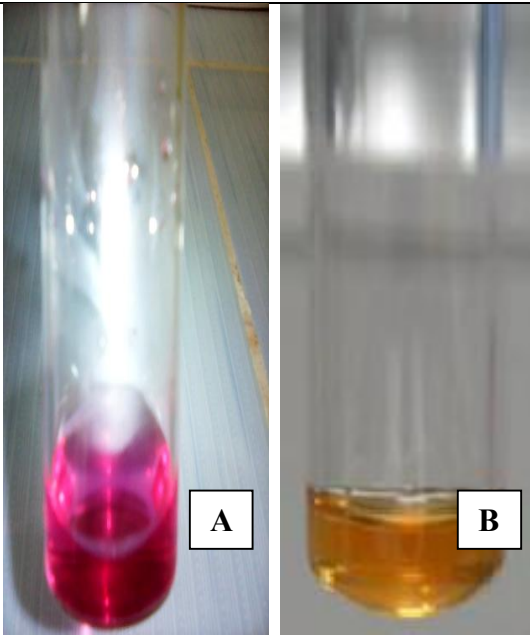

K. pneumoniae observée par coloration de Gram au grossissement x100 à l'huile d'immersion. Les cellules sont des bacilles courts à Gram négatif, isolées ou regroupées en diplobacilles (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

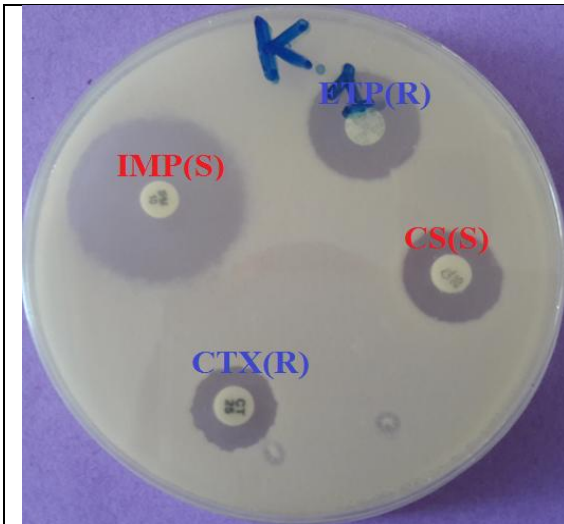


Culture sur milieu TSI. *K. pneumoniae* a fermenté le lactose et le glucose ainsi que le saccharose, avec production du gaz mais pas H_2S (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).



Culture sur milieu Citrate de Simmon. L'utilisation du citrate comme seule source de carbone entraîne une alcalinisation du milieu, d'où le virage du vert au bleu (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

	<p>Culture sur milieu Mannitol-Mobilité. <i>K. pneumoniae</i> a fermenté le mannitol, d'où le virage du rouge au jaune et est immobile (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>
	<p>Test Urée-Indole. (A) : <i>K. pneumoniae</i> a dégradé l'urée d'où le virage du jaune au rouge (<i>K. pneumoniae</i> est uréase positif). (B) : L'absence de la formation d'anneau rouge après l'addition du réactif de Kovacs, indique la non dégradation du tryptophane en indole (<i>K. pneumoniae</i> est indole négatif). (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>
	<p>Test d'ONPG. Le milieu devient jaune, due à la production de la β-galactosidase par <i>K. pneumoniae</i> et dégradation de l'ONPG (<i>K. pneumoniae</i> est ONPG positif). (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>

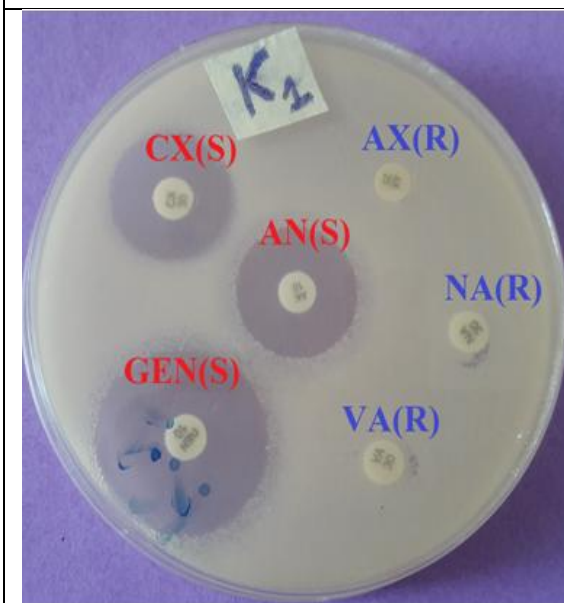


Résultats de l'antibiogramme de *K. pneumoniae* (**Kp1**). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.

Résistance : ETP, CTX.

Sensibilité: IPM, CS.

(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

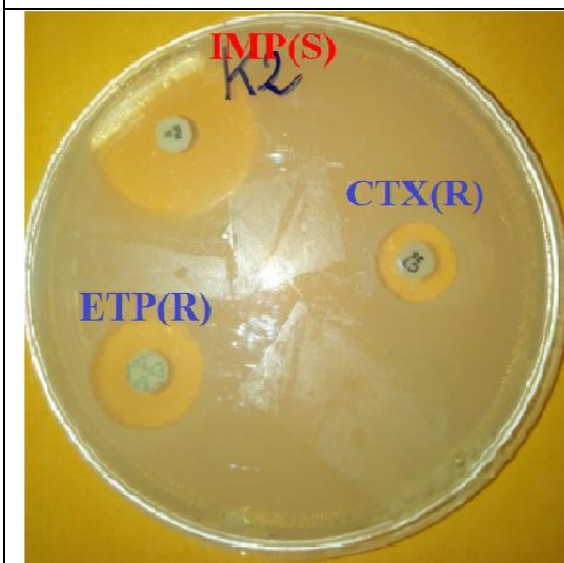


Résultats de l'antibiogramme de *K. pneumoniae* (**Kp1**). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.

Résistance : AMX, NA, VA.

Sensibilité : CX, AN, GN.

(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

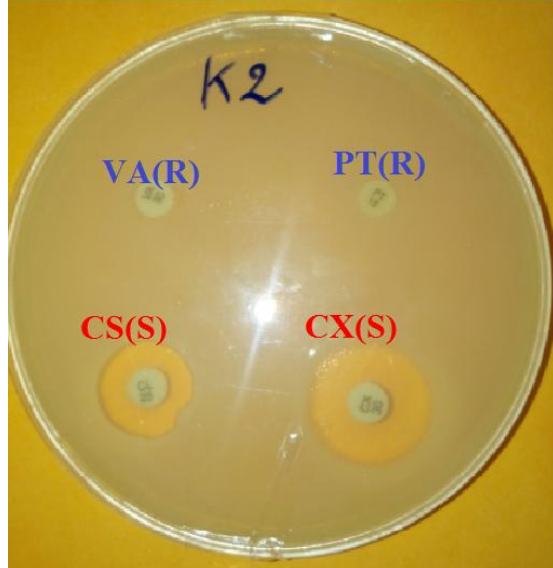
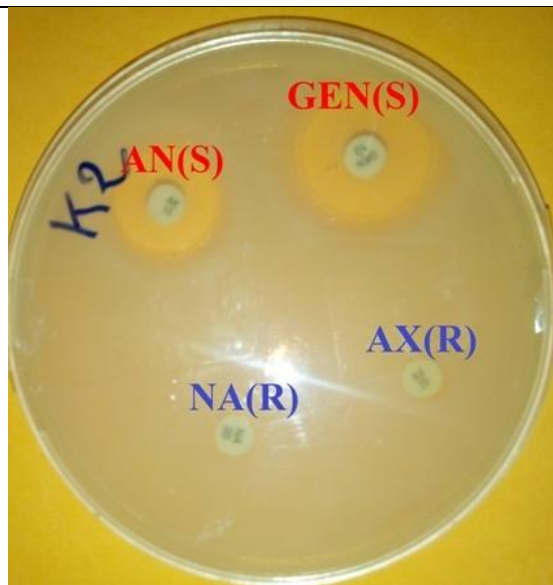
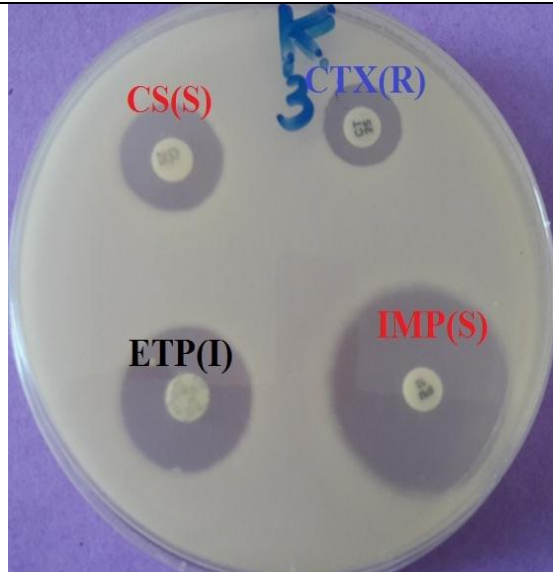


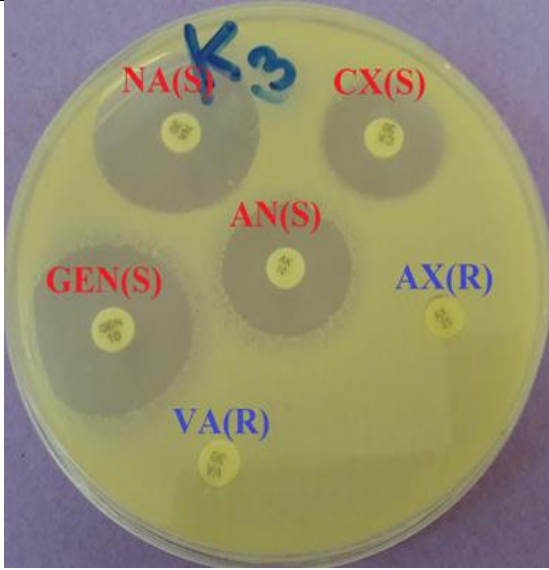
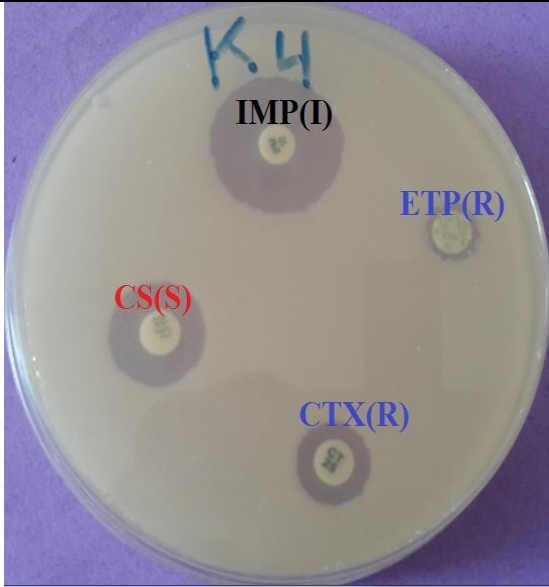
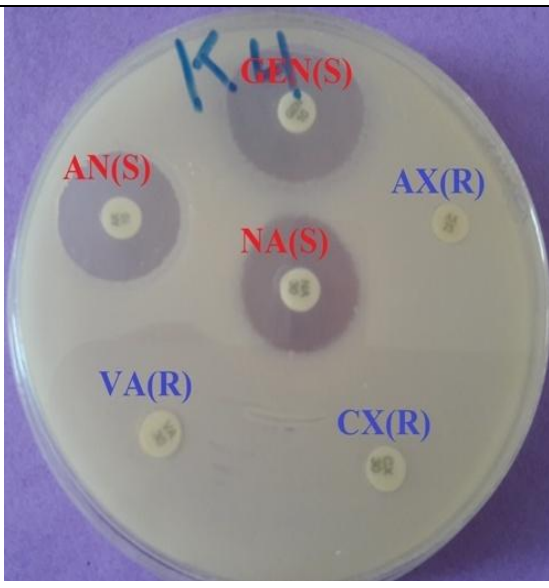
Résultats de l'antibiogramme de *K. pneumoniae* (**Kp2**). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.

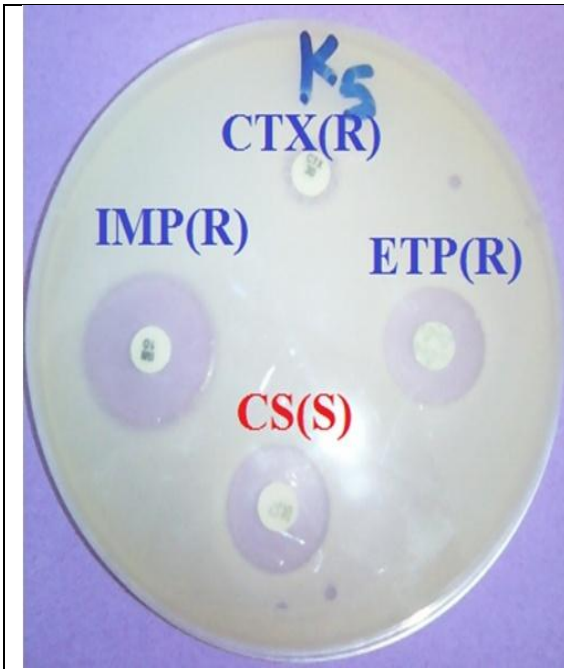
Résistance : CTX, ETP.

Sensibilité : IPM.

(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

 <p>A petri dish with a yellow background showing an antibiogram for <i>Kp2</i>. The disc VA(R) and PT(R) show no zone of inhibition, while CS(S) and CX(S) show clear zones of inhibition.</p>	<p>Résultats de l'antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i> (Kp2). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.</p> <p>Résistance : VA, PT.</p> <p>Sensibilité : CS, CX.</p> <p>(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>
 <p>A petri dish with a yellow background showing an antibiogram for <i>Kp2</i>. The discs AN(S), GN(S), and AX(R) show zones of inhibition, while NA(R) shows no zone of inhibition.</p>	<p>Résultats de l'antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i> (Kp2). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.</p> <p>Résistance : NA, AMX.</p> <p>Sensibilité : AN, GN.</p> <p>(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>
 <p>A petri dish with a purple background showing an antibiogram for <i>Kp3</i>. The discs CS(S) and IMP(S) show zones of inhibition, CTX(R) shows no zone of inhibition, and ETP(I) shows an intermediate zone of inhibition.</p>	<p>Résultats de l'antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i> (Kp3). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.</p> <p>Résistance : CTX.</p> <p>Sensibilité : IPM, CS.</p> <p>Intermédiaire : ETP.</p> <p>(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>

 <p>NA(S) K3 CX(S) AN(S) GEN(S) AX(R) VA(R)</p>	<p>Résultats de l'antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i> (Kp3). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.</p> <p>Résistance : AMX, VA.</p> <p>Sensibilité : NA, CX, AN, GN.</p> <p>(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>
 <p>K.4 IMP(I) ETP(R) CS(S) CTX(R)</p>	<p>Résultats de l'antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i> (Kp4). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.</p> <p>Résistance : CTX, ETP.</p> <p>Sensibilité : CS.</p> <p>Intermédiaire : IPM.</p> <p>(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>
 <p>K4 GEN(S) AN(S) AX(R) NA(S) VA(R) CX(R)</p>	<p>Résultats de l'antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i> (Kp4). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.</p> <p>Résistance : AMX, VA, CX.</p> <p>Sensibilité : NA, AN, GN.</p> <p>(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>

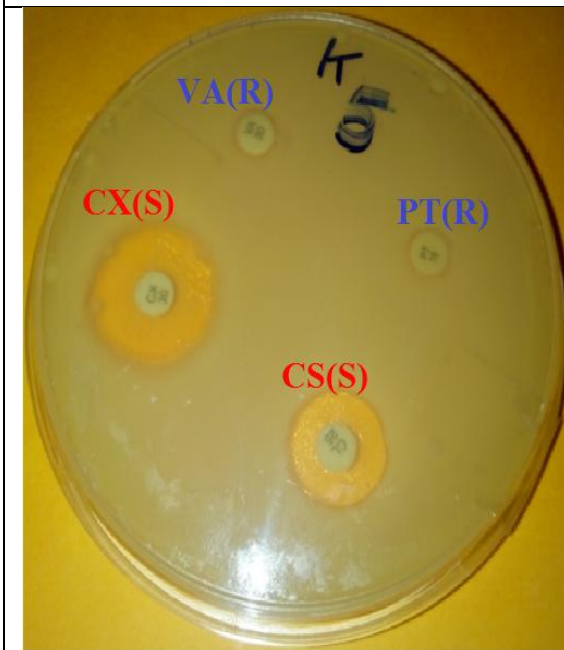


Résultats de l'antibiogramme de *K. pneumoniae* (**Kp5**). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.

Résistance : CTX, ETP, IPM.

Sensibilité : CS.

(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).



Résultats de l'antibiogramme de *K. pneumoniae* (**Kp5**). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.

Résistance : PT, VA.


Sensibilité : CX.



(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

	<p>Résultats de l'antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i> (Kp5). La sensibilité se manifeste par des plages de lyse.</p> <p>Résistance : AMX, GN.</p> <p>Sensibilité : NA.</p> <p>Intermédiaire : AN.</p> <p>(Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>
---	---

Le Tableau 27 résume les résultats de l'identification biochimique de 5 souches de *K. pneumoniae*.

Tableau 27 : Résultats de l'identification biochimique de *K. pneumoniae*.

Tests	TSI					Mannitol	Mobilité	CS	ONPG	Urée	Indole	Photos
	Glu	Sacch	Lac	H ₂ S	Gaz							
<i>Kp1</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	

<i>Kp2</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	
<i>Kp3</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	
<i>Kp4</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	
<i>Kp5</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	

Partie II : Recherche Expérimentale

K : *Klebsiella*, **TSI** : Tripl Sugar Iron, **Glu** : Glucose, **Sacch** : Saccharose, **Lac** : Lactose, **H₂S** : sulfure d'hydrogène, **CS** : Citrate de Simmon, **ONPG** : Orthonitrophényl-β-D-galactopyranoside, (+) : Positif, (-) : Négatif.

Tableau 28 : Résultats de l'antibiogramme de 56 souches de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila « Sept frères Meghlaoui », de Janvier 2015 à Février 2016. Selon le sexe, l'âge, la nature du prélèvement et le service.

N°	Date	Sexe	Age	NP	Service	Antibiogramme		
						S	I	R
1	11/01/15	H	In	PU	EXT	CIP, IPM, FOS, NA, AN, CX	NTX	AMX, SXT
2	11/01/15	F	In	PU	EXT	NTX, IPM, SXT, CX, NA, AN	/	FOS, AMX
3	11/01/15	H	In	PU	EXT	IPM, AN, FOS, NA, SXT, CX	NTX	AMX
4	13/01/15	F	In	PU	In	CIP, IPM, FOS, CX, AN, NA, SXT	NTX	AMX
5	14/01/15	F	26A	PP	Infection	/	/	/
6	18/01/15	H	In	PU	In	IPM, FOS, AN, CX	/	CIP, NTX, AMX, SXT, NA
7	20/01/15	F	28A	PU	EXT	NTX, IPM, NA, AN, CX, SXT, FOS	/	AMX
8	08/02/15	F	05A	PU	EXT	CIP, IPM, AN, CS, FOS	NTX	AMX
9	08/02/15	H	76A	PU	In	IPM, FOS, SXT, CS	NTX	AMX
10	24/02/15	F	37A	PU	In	AN, IPM	NTX, FOS	OX, AMX, FA, PT, VA, P, L
11	01/03/15	F	30A	PU	In	IPM, FOS, AN, CX, SXT	NTX	AMX
12	02/03/15	H	In	PU	In	IPM, NTX, AN, CX, FOS	/	SXT, AMP
13	04/03/15	F	11M	PU	pédiatrie	IPM, AN, CX	NTX	SXT, AMX, FOS
14	09/03/15	H	03M	PU	In	IPM, AN, CX, SXT	NTX, FOS	AMX
15	15/03/15	H	In	PU	EXT	IPM, CS, SXT	NTX, AN	FOS, AMX
16	24/03/15	F	In	PU	EXT	AN, CX	/	NTX, AMP, FA, SXT, FOS, L
17	27/04/15	F	In	PU	In	IPM, AN	NTX	AMX, FOS
18	10/05/15	F	In	PU	In	IPM, AN	NTX	AMX, FOS
19	12/05/15	F	In	PU	In	IPM, CTX, SXT, AN	/	AMC, AMX, NA
20	20/05/15	H	34A	PP	Chirurgie	CTX, IPM, AMC, AMX, CZ	NTX, AN, CS, FOS	SXT, NA
21	24/05/15	F	70A	PU	EXT	IPM, CTX, SXT, NA, CS, AN, FOS	/	NTX, AMX, AMC
22	26/05/15	H	70A	PU	EXT	IPM, FOS, CS, NA	NTX	AMX, AMC, SXT, CTX, CZ, AN
23	26/05/15	F	In	PU	EXT	IPM, AN, CX	CTX,	AMC, AMX,

Partie II : Recherche Expérimentale

							NTX	SXT, CZ, NA, FOS
24	01/06/15	H	In	PU	In	IPM, NA, CS	NTX	AMC, AMX, SXT, CTX, CZ, AN, FOS
25	08/06/15	F	In	PU	In	IPM, CTX, FOS, CZ, AN	NTX	SXT, FA, PT, NA
26	21/06/15	F	In	PU	EXT	IPM, AN, FOS, CS	NTX	AMX, AMC, SXT, CZ, NA
27	28/06/15	F	11A	PU	EXT	SXT, CTX, IPM, AN, CS	NA	NTX, AMX, FOS, CZ
28	29/06/15	F	60A	PU	EXT	IPM, CTX, SXT, CS, NA, FOS	CZ, NTX	AMC, AMX
29	30/06/15	F	In	PU	EXT	CTX, IPM, SXT, CZ, AN, FOS, NA	NTX	AMC
30	12/07/15	F	24A	PU	EXT	IPM, SXT, AN, NA, CS	NTX, CTX	AMX, AMC, CZ, FOS
31	12/07/15	F	44A	PU	In	IPM, SXT, CTX, AN, CZ, CS	NTX, FOS	AMX, AMC
32	21/07/15	F	47A	PV	Réa	IPM, SXT, CTX, FOS, CX, AN, NA, CZ	NTX	AMC, AMX
33	02/08/15	F	In	PU	EXT	CTX, IPM, AN, CS	NTX	AMC, AMX, SXT, CZ, NA, FOS
34	10/08/15 Kp1	F	28A	PU	EXT	CFM, CTX, IPM, GN, CZ, CS, SXT	/	AMC, CIP, AMP
35	16/08/15 Kp2	F	13M	PU	EXT	IPM, GN, CS, AN	/	CFM, CTX, CIP, CZ, AMC
36	16/08/15 Kp3	F	36A	PU	EXT	CIP, IPM, CTX, SXT, GN, CFM, CZ, CS	/	AMC
37	07/09/15 Kp4	F	25A	PU	EXT	IPM, CTX, CS, NA, AN	NTX	AMX, AMC, SXT, FOS, CZ
38	13/09/15 Kp5	F	02A	PU	Pédiatrie	IPM, CS, NA, AN	NTX, FOS	SXT, AMC, AMX, CTX, CZ
39	20/09/15	F	02A	PU	Pédiatrie	IPM, NA, AN, FOS, CS	NTX	CTX, AMX, AMC, SXT, CZ
40	28/09/15	F	02A	PU	Pédiatrie	IPM, AN, CS, NA	NTX	SXT, AMC, CTX, AMX, CZ, FOS
41	06/10/15	H	66A	PP	Chirurgie	IPM, CZ, SXT, AN, NA, NTX	/	AMX, AMC, FOS, CS
42	07/10/15	F	27A	PU	EXT	IPM, SXT, CTX, NA, NTX, AMC, AN, CS, CZ	/	AMX, FOS
43	07/10/15	F	04A	PU	EXT	IPM, SXT, CTX, NA, NTX, AMC, AN, CS, CZ	/	AMX, FOS
44	07/10/15	H	In	PU	EXT	IPM, SXT, CTX, NA, NTX, AMC, AN, FOS, CZ	/	AMX
45	07/10/15	F	In	PU	In	IPM, CTX, NTX, AMC, FOS, AN, CS, CZ	/	SXT, AMX, NA
46	07/10/15	F	In	PU	In	IPM, CTX, AMC, NTX, CZ, CS, AN	/	SXT, AMX, NA, FOS
47	26/10/15	H	In	PU	EXT	CS, AN	NTX	GN, CTX, AMC, SXT, NA, CZ, AMX

Partie II : Recherche Expérimentale

48	03/11/15	H	29M	PU	EXT	CS, AN, NA	NTX	GN, SXT, AMC, AMX, CZ, CTX
49	10/11/15	H	65A	PU	EXT	IPM, GN, AMC, CX, CS, AN, NA, CTX	NTX	SXT, AMP
50	23/11/15	H	In	PU	In	NTX, IPM, AN, NA, CS	/	AMP, CZ, SXT, AMC, CTX
51	13/12/15	F	In	PU	EXT	IPM, GN, SXT, CZ, AMP, AN, CS, CX	NTX, AMC	/
52	02/02/16	F	In	PU	In	GN, CTX, IPM	/	AMC, SXT, NA, NTX, CS
53	08/02/16	H	In	PU	EXT	CX, SXT, GN, CZ	CS	/
54	09/02/16	H	56A	PU	EXT	CX, AMC, IPM, SXT, CTX, GN, CS, NTX, AN	/	CZ
55	15/02/16	F	In	PU	EXT	CX, IPM, CTX, GN, NTX, CS, AN, CZ	AMC	SXT
56	28/02/16	H	60A	PP	MH	GN, IPM, AN	AMX, CZ	VA, CX, AMP

NP : Nature du Prélèvement, **S** : Sensible, **I** : Intermédiaire, **R** : Résistante, **F** : Femme, **H** : Homme, **A** : Ans, **M** : Mois, **PU** : Prélèvement Urinaire, **PP** : Prélèvement de Pus, **PV** : Prélèvement Vaginal, **EXT** : Externe, **Réa** : réanimation, **MH** : médecine homme, **In** : Inconnu, **AMP** : Ampicilline, **AMC** : Amoxicilline/Acide Clavulanique, **AMX** : Amoxicilline, **CTX** : Céfotaxime, **CZ** : Céfazoline, **CX** : Céfoxitine, **IPM** : Imipénème, **OX** : Oxacilline, **P** : Pénicilline, **GN** : Gentamycine, **AN** : Amikacine, **L** : Lincomycine, **PT** : Pristinamycine, **CIP** : Ciprofloxacine, **NA** : Acide Nalidixique, **SXT** : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, **CS** : Colistine, **VA** : Vancomycine, **NIT** : Nitroxoline, **FOS** : Fosfomycine, **FA** : Acide Fusidique.

Les souches *Kp1*, *Kp2*, *Kp3*, *Kp4* et *Kp5* sont manipulées dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila, et sont éclairées en gris dans le Tableau 28.

3.1. Incidence de *Klebsiella pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila de 2015 à 2016

3.1.1. Incidence de *Klebsiella pneumoniae* selon l'origine hospitalière ou communautaire

De Janvier 2015 à Février 2016, 56 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées, parmi elles 9 sont d'origine hospitalière (16,07%), 28 d'origine externe (50%) et 19 (33,92%) sont d'origine inconnu. Ces résultats ont montré qu'il y a une prédominance des souches communautaire (externe) par rapport aux souches hospitalière (Tableau 29, Figure 26). Contrairement aux résultats de nos collègues de Master 2015 dans l'hôpital de Mila, l'espèce *K. pneumoniae* est plus fréquemment isolée à l'hôpital qu'en communauté avec des fréquences de 66,66% en milieu hospitalier contre 33,33% en communauté. Cependant, nos résultats correspondent avec ceux de Shamim et al. (2008) au Pakistan, qui ils ont trouvé une prédominance des souches communautaire (76%) par rapport aux souches hospitalière (24%).

Tableau 29 : Incidence des souches de *K. pneumoniae* selon leur origine hospitalière ou communautaire à l'hôpital de Mila (2015/2016).

Souches	Nombres de souches	Pourcentage %
Hospitalière	9	16,07
Communautaire	28	50
Inconnu	19	33,92
Total	56	100

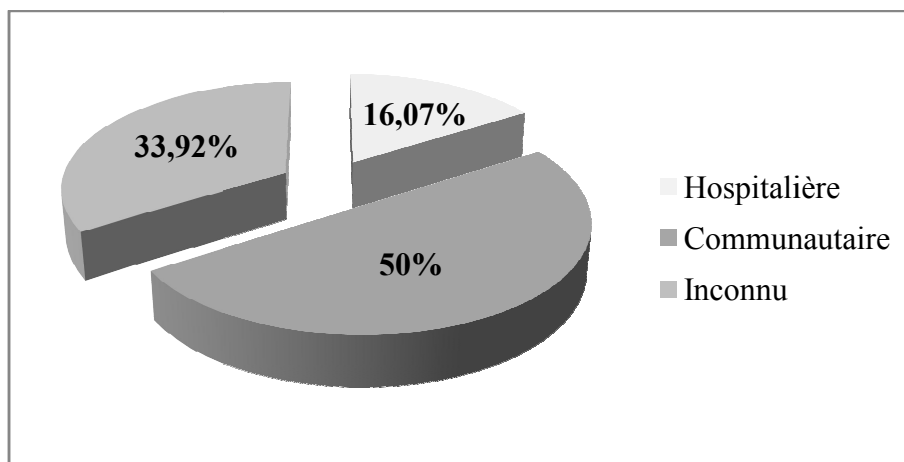


Figure 26 : Incidence des souches de *K. pneumoniae* selon leur origine hospitalière ou communautaire à l'hôpital de Mila (2015-2016).

3.1.2. Incidence de *Klebsiella pneumoniae* selon le sexe

Au total, 56 malades ont été infectés par *K. pneumoniae*, une prédominance féminine est remarquée au sein de la population infectée, 37 (66,07%) étaient des femmes et 19 des hommes (33,93%) (Tableau 30, Figure 27). Nos résultats concordent bien avec ceux de nos collègues de Master 2015 dans l'hôpital de Mila, qui ont trouvé que parmi 30 malades infectés par *K. pneumoniae*, 72% ont été des femmes contre 28% d'hommes. Un résultat semblable est remarqué par Al-Jebouri et Mdish. (2013) en Irak, sur une période de Novembre 2011 à Juillet 2012, parmi 46 patients infectés par *K. pneumoniae*, 28 étaient des femmes et 17 étaient des hommes. Un résultat contradictoire est observé par Labid (2015) à Annaba (Algérie), qui a montré que le sexe prédominant est le sexe masculin avec 79% contre 21% pour le sexe féminin.

La prévalence de l'infection urinaire était plus élevée chez les femmes que chez les hommes car chez les femmes l'urètre est beaucoup plus court et plus proche de l'anus que

chez les hommes, et elles ne possèdent pas les propriétés bactériostatiques des sécrétions prostatiques (Habeb et Al-Azawi, 2014).

Tableau 30 : Incidence de *K. pneumoniae* selon le sexe à l'hôpital de Mila (2015/2016).

Sexe	Nombres de souches	Pourcentage %
Femmes	37	66,07
Hommes	19	33,93
Total	56	100

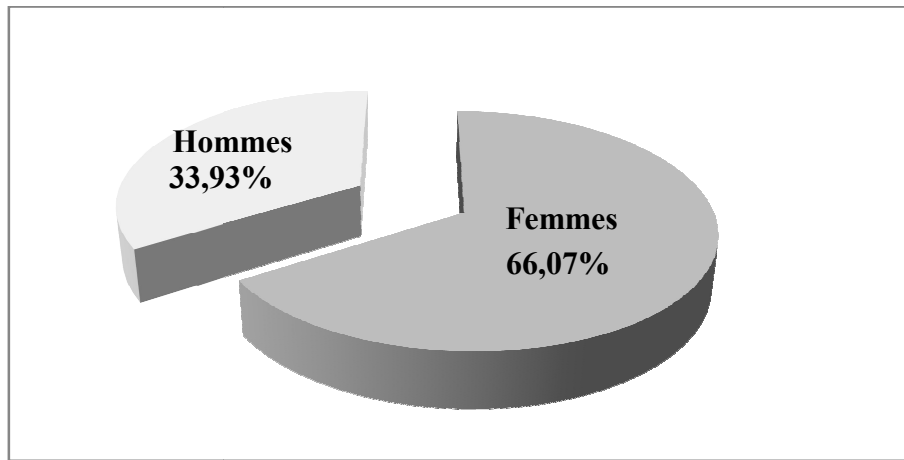


Figure 27 : Incidence de *K. pneumoniae* selon le sexe à l'hôpital de Mila (2015/2016).

3.1.3. Incidence de *Klebsiella pneumoniae* selon la nature du prélèvement

Sur les 56 souches de *K. pneumoniae* isolées, le nombre de prélèvements le plus important est observé dans les urines avec 51 souches (91,07%), 4 souches dans les prélèvements de pus (7,14%), en revanche le taux le plus faible est remarqué dans les prélèvements vaginaux avec une fréquence de 1,78% (1 souche) (Tableau 31, Figure 28). Nos résultats sont très proches de ceux obtenus par nos collègues de Master 2015 dans l'hôpital de Mila où les prélèvements urinaires sont toujours dominants (50%) suivi par des prélèvements de pus avec une fréquence de 20% et des prélèvements vaginaux de 10%. De même, Camara et al. (2011) au Sénégal, ont remarqué que *K. pneumoniae* se trouve en abondance dans l'urine avec 59%, le pus avec 25%. Aussi, Romanus et Egwu. (2011) dans l'hôpital de Nigeria, ont remarqué une prédominance des prélèvements urinaires avec 72 souches (57,1%), suivi par des prélèvements de pus avec 16 souches (17,7%) et 12 souches sont isolées à partir des prélèvements vaginaux (17,6%).

Selon Al-Jebouri et Mdish. (2013) en Irak, les Infections des voies urinaires (IVU) sont l'une des infections bactériennes extra-intestinales les plus répandues. Aujourd'hui, elles représentent l'un des maladies les plus couramment rencontrés dans la pratique médicale qui touchent les personnes de tous âges, et la tranche d'âge du nouveau-né. El Bouamri et al. (2015) au Maroc, ont rapporté que *K. pneumoniae* est parmi les principales espèces bactériennes qui entraînent des infections urinaires dans l'hôpital de Maroc.

Tableau 31 : Incidence de *K. pneumoniae* selon la nature du prélèvement à l'hôpital de Mila (2015/2016).

Nature de prélèvement	Nombres de souches	Pourcentage %
Prélèvement Urinaire	51	91,07
Prélèvement de Pus	4	7,14
Prélèvement Vaginal	1	1,78
Total	56	100

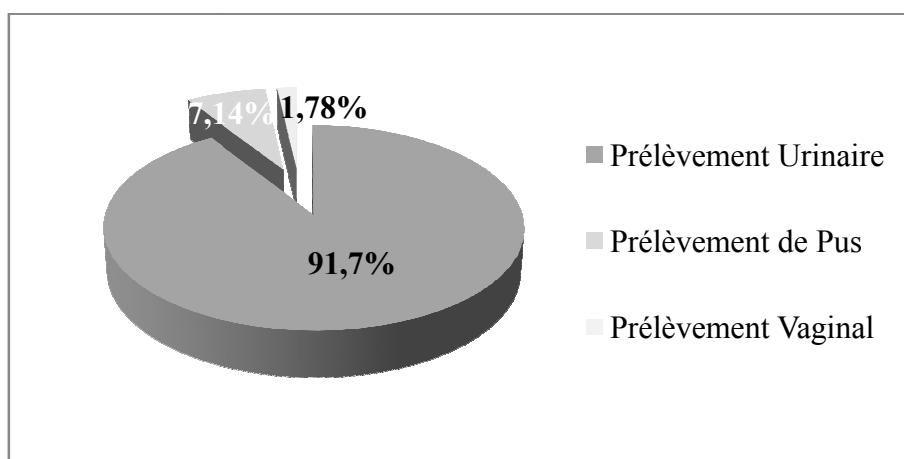


Figure 28 : Incidence de *K. pneumoniae* selon la nature du prélèvement à l'hôpital de Mila (2015/2016).

3.1.4. Incidence de *Klebsiella pneumoniae* selon les services hospitaliers

Dans la distribution des *K. pneumoniae* selon les services, il a été observé (Tableau 32, Figure 29) que le service de pédiatrie semble être le plus agressé avec 4 souches de *K. pneumoniae* (53,33%). En second lieu, le service de chirurgie présente une fréquence de 22,22% (2 souches). La prévalence la plus basse est enregistrée avec des mêmes fréquences aux services médecine homme, réanimation et d'infection 11,11% (1 souche). Nos résultats correspondent bien avec ceux de nos collègues de Master 2015 dans l'hôpital

de Mila, qui ont observé que le service le plus incriminé par *K. pneumoniae* est le service de pédiatrie avec 53,33% (8 souches) suivi par le service de chirurgie, le service gynécologie et d'infection, avec des taux de 26,66% (4 souches), 13,33% (2 souches) et 6,66% (1 souche) respectivement. Par contre Essayagh et al. (2012) au Maroc, ils ont mentionné que le taux d'isolement de *K. pneumoniae* le plus élevé est enregistré dans le service de médecine (40,8%), suivi par le service de chirurgie (24,4%) et le service de réanimation (11,8%). Belbel (2014), dans les hôpitaux de la ville de Annaba (Algérie), a observé que le service de pédiatrie qui regroupe également le service de réanimation pédiatrique et la néonatalogie semble être le plus agressé car 48% des souches proviennent de ce service, suivi par le service d'endocrinologie (17%) et du service d'urgence (13%).

Tableau 32 : Incidence de *K. pneumoniae* selon les services hospitaliers à l'hôpital de Mila (2015/2016).

Services	Nombres de souches	Pourcentage %
Pédiatrie	4	44,44
Chirurgie	2	22,22
Médecine homme	1	11,11
Infection	1	11,11
Réanimation	1	11,11
Total	9	100

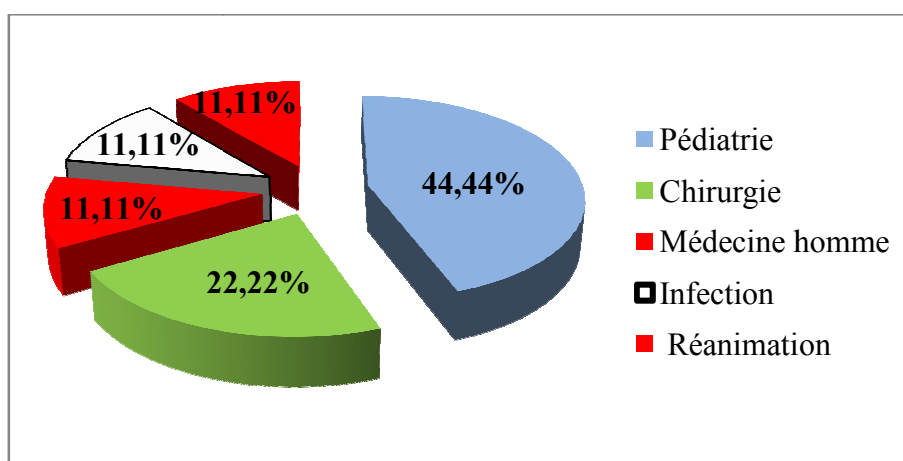


Figure 29 : Incidence de *K. pneumoniae* selon le service hospitalier à l'hôpital de Mila (2015/2016).

Le nombre des souches externes est de 47.

3.2. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* spp. isolées à l'hôpital de Mila en Algérie de 2007 à 2013

Tableau 33 : Antibiorésistance totale du 172 souches de *Klebsiella* spp. isolées à l'hôpital de Mila en Algérie de 2007 à 2013 (Boubendir 2015).

Familles	Antibiotiques	% de Résistance
β-lactamines	OX	84,84
	AMP	94,5
	AMX	86,67
	AMC	88,33
	PIP	76,19
	CZ	77,02
	CTX	31,52
	IPM	37,68
	Aminosides	GN
AN		32,89
Macrolides	CLI	34,09
	L	63,15
Quinolones	NA	44,73
	CIP	16,92
Sulfamides	SXT	62,1
Polypeptides	CS	42,85
	FOS	50

OX : Oxacilline, AMP : Ampicilline, AMX : Amoxicilline, AMC : Amoxicilline/Acide Clavulanique, PIP : Pipéracilline, CZ : Céfazoline, CTX : Céfotaxime, IPM : Imipénème, GN : Gentamycine, AN : Amikacine, CLI : Clindamycine, L : Lincomycine, NA : Acide Nalidixique, CIP : Ciprofloxacine, SXT : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, CS : Colistine, FOS : Fosfomycine.

Pour la résistance aux β -lactamines, durant 2007 à 2013 dans l'hôpital de Mila, les taux de résistance aux antibiotiques les plus élevés sont enregistrés dans la famille des β -lactamines (Tableau 33, Figure 30), avec 94,5% pour Ampicilline, suivi par Amoxicilline/Acide Clavulanique (88,33%), Amoxicilline (86,67%), Oxacilline (84,84%), Céfazoline (77,02%) et Pipéracilline (76,19%). Cependant, les taux de résistance les plus faibles sont remarqués pour Imipénème (37,68%) et Céfotaxime (31,52%). Pour ce résultat nous remarquons que les taux de résistance les plus élevés sont enregistrés pour la classe des Pénicillines (Ampicilline, Amoxicilline/Acide Clavulanique, Amoxicilline, Oxacilline, Pipéracilline), suivi par la classe des Céphalosporines (Céfazoline, Céfotaxime) et la classe des Carbapénèmes (Imipénème) selon un ordre de résistance décroissant.

Des résultats très proches pour Ampicilline (94,5%) et Amoxicilline (86,67%) ont été obtenus par Al-Jebouri et Mdish. (2013) en Irak, dans le département d'urologie à l'hôpital de Tikrit. Ils ont enregistré une résistance de 100% à l'Ampicilline et de 90% à l'Amoxicilline.

K. pneumoniae est naturellement résistante aux amino et carboxy-pénicillines (Ampicilline, Amoxicilline et Ticarcilline) par la production d'un enzyme β -lactamase chromosomique codé par *SHV-1* (Pérez-Moreno et al., 2011).

Aussi, pour la résistance à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique, le taux de résistance observé est très important (88,33%), ce résultat est similaire au résultat déclaré par Belbel (2014) en Annaba (Algérie), qui a trouvé une résistance très élevée (78%) à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique, sur 100 souches de *K. pneumoniae* isolées.

El Bouamri et al. (2015) au Maroc, ont remarqué que la résistance était 51% à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique pour les souches de *K. pneumoniae* non BLSE. Cependant, 100% des souches de *K. pneumoniae* BLSE étaient résistantes à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique. Tlamçani et al. (2009) au Maroc, ont enregistré un taux de résistance à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique de 50%.

Par contre ce résultat est très élevé par rapport à celui de Ejikeugwu et al. (2012), qui ont déclaré que parmi 39 *K. pneumoniae* collectées à partir d'un hôpital Nigérian, 15,4% étaient résistantes à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique. De même au Nigeria, Romanus et Egwu. (2011), ont enregistré une sensibilité de 100% à l'Amoxicilline/Acide clavulanique.

Pérez-Moreno et al. (2011), ont montré que la prévalence élevée de diminution de la sensibilité de *K. pneumoniae* à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique (AMC) peut être due par la production de IRT-11 ou OXA-1, deux pénicillinases faiblement inhibées par l'Acide Clavulanique, et était principalement a cause de la propagation simultanée de deux clones différents, le gène *IRT-11* situé dans un plasmide conjugatif et le gène *bla_{OXA-1}* placé dans une intégron de classe 1 et lié à *qnr2* ou *bla_{IRT-11}*.

Concernant la résistance à l'Imipénème observé (37,68%) pour *Klebsiella* spp. (Tableau 33, Figure 30), elle est nettement plus élevée que la résistance à l'Imipénème (0%) observée par Tlamçani et al. (2009), Essayagh et al. (2012) et El Bouamri et al. (2015) au Maroc, et Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie. Ce qui montre l'ampleur inquiétante du phénomène de résistance à l'Imipénème à l'hôpital de Mila en Algérie.

Par contre, dans d'autres études la résistance à l'Imipénème a été révélée avec des taux faibles. Patricia et al. (1997), ont remarqué que parmi 18 souches de *K. pneumoniae* collectées dans le centre médicale de l'hôpital de New York, 3 souches sont résistantes à l'Imipénème. Ejikeugwu et al. (2012), ont déclaré que parmi 39 *K. pneumoniae* collectées à partir d'un hôpital Nigérian, 5 souches étaient résistantes à l'Imipénème (12,8%). Selon l'étude de Camara et al. (2013) au Sénégal, sur 44 souches de *K. pneumoniae* BLSE isolées la sensibilité est très forte à l'Imipénème (exceptée une souche). D'après l'étude menée par Cherkaoui et al. (2014), sur 899 souches de *K. pneumoniae* isolées durant l'année 2013 aux hôpitaux universitaires de Genève (Suisse), 99% étaient sensibles à l'Imipénème.

Néanmoins, quelques études ont enregistré des taux de résistance beaucoup plus élevés à l'Imipénème par rapport à le présent résultat. Jarlier et al. (2004) en France, ont identifié une souche de *K. pneumoniae* résistante à toutes les β -lactamines, y compris à l'Imipénème, isolée chez 6 patients d'un service de chirurgie en région parisienne, 3 patients sont décédés dont 1 de sepsis. Fred et al. (2006) à New York, ont remarqué que parmi 15 souches de *K. pneumoniae*, 13 souches sont résistantes à l'Imipénème. Aussi, Giani et al. (2013) en Italie, ont enregistré un taux de résistance très important à l'Imipénème avec 83%.

A l'ombre de ces donnée de recherche, on peut dire que l'état de la résistance à l'Imipénème à Mila en Algérie se trouve dans une situation intermédiaire entre les pays développés et sous développés.

La production d'enzymes hydrolytiques est le mécanisme de résistance prédominant vis-à-vis des β -lactamines chez les bactéries à Gram négatif (BGN).

Carbapénèmases de classe A décrites au milieu des années 1980, ils ont tout d'abord été rapportées dans des espèces d'Entérobactéries nosocomiales comme *Klebsiella* spp. Les enzymes de type GES «*Guiana Extended Spectrum*» (GES-2,-4,-5 et -6) sont initialement des BLSE dont seuls quelques variants touchent les Carbapénèmes. Les KPC «*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*» sont les plus fréquentes et les plus menaçantes, du fait de leur pouvoir de dissémination important. La première souche productrice de KPC (KPC-1=KPC-2) a été identifiée en 1996 en Caroline du Nord aux États-Unis dans une souche de *K. pneumoniae*. Cette découverte fut rapidement suivie par la description de 9 autres variants (KPC-3 à KPC-11). Le spectre d'hydrolyse des KPC comprend toutes les β -lactamines (Pénicillines, Céphalosporines, Carbapénèmes et Monobactams), mais les activités des Céphamycines et de la Ceftazidime sont peu modifiées. En l'absence d'autres mécanismes de résistance associés, les KPC confèrent un degré de résistance variable aux Carbapénèmes.

Les Carbapénèmases de classe B, les métallo- β -lactamase (MBL) ont un large spectre d'activité et hydrolysent toutes les β -lactamines en dehors de l'Aztréonam. Il existe de nombreuses variétés de MBL regroupées dans plusieurs familles : VIM (*Verona Integron encoded Metallo β -lactamase*), IMP (Active on imipenem), GIM (*German imipenemase*), SIM (Seoul imipenemase), SPM (*Sao Paulo metallo- β -lactamase*) ou NDM (*New Delhi metallo- β -lactamase*). La famille VIM est actuellement constituée de 27 membres. VIM-1 a été isolée pour la première fois en 1997 en Italie à Vérone dans une souche de *P. aeruginosa*. Ces MBL sont principalement retrouvées chez *P. aeruginosa*, mais ont également été décrites chez de nombreuses Entérobactéries, en particulier *K. pneumoniae*. L'enzyme VIM-2 est la MBL la plus fréquemment isolée dans le monde. La métallo-bêtalactamase NDM (*New Delhi metallo- β -lactamase*) est l'une des Carbapénèmases les plus récemment décrites. Elle a connu une diffusion internationale importante (Inde, Pakistan et Grande-Bretagne) chez *K. pneumoniae* et *E. coli* en milieu hospitalier et également en milieu communautaire. La première souche NDM-1 fut une souche de *K. pneumoniae* isolée d'un prélèvement urinaire, ce même patient étant également porteur d'une souche d'*E. coli* NDM-1 au niveau de sa flore fécale. Les deux souches étaient résistantes aux Carbapénèmes et à tous les antibiotiques testés sauf à Colistine. Suite à ce premier cas, des cas sporadiques d'infections dues à des bactéries productrices de NDM-1 ont été détectés. *IMP-1* a été isolée pour la première fois au Japon en 1990 sur un plasmide

conjugatif dans une souche de *P. aeruginosa*, puis a rapidement diffusé chez les Entérobactéries et partout dans le monde. Actuellement, près d'une trentaine de variants d'*IMP* ont été décrits à travers le monde. Le gène *IMP* Active sur l'Imipénème impliquées par les Entérobactéries, *Pseudomonas* et *Acinetobacter*, le support génétique est plasmidique. Les gènes des MBL de type *VIM* ou *IMP* peuvent présenter des localisations plasmidiques ou chromosomiques.

Carbapénèmases de classe D, les oxacillinases sont des pénicillinases dont le spectre s'est entendu dans certains cas aux C3G et dans d'autres aux Carbapénèmes. *OXA-48* décrite pour la première fois en Turquie chez *K. pneumoniae*, le groupe OXA-48 n'a été décrit que chez les Entérobactéries. Les carbapénèmases de type OXA hydrolysent les Aminopénicillines, les Carboxypenicillines, et seulement partiellement l'Imipénème malgré une grande affinité de l'enzyme pour ce substrat. En l'absence d'autres mécanismes de résistance (autres β -lactamases de type BLSE ou AmpC plasmidique, perte de porines, ou pompes à efflux), elles n'entraînent qu'une légère diminution de la sensibilité aux Carbapénèmes. Le gène codant pour OXA-48 est situé sur un transposon et encadré par deux séquences d'insertion identiques jouant un rôle dans la mobilité et l'expression du gène.

La production d'enzymes à large spectre (céphalosporinase hyperproduite AmpC ou BLSE) associée à une imperméabilité par altération de porines est la cause la plus fréquente de résistance à l'Imipénème en France chez les Entérobactéries. Bien que les souches hyperproductrices d'AmpC et/ou productrices de BLSE restent sensibles à l'Imipénème, les CMI aux Carbapénèmes de ces souches sont augmentées. Lorsqu'une altération des porines est associée, ces souches peuvent alors devenir de sensibilité intermédiaire ou résistantes aux Carbapénèmes (Grall et al., 2011).

A propos de la résistance à Céfazoline constatée (77,02%), elle est très proche par rapport à celle remarquée par Labid (2015) à Annaba en Algérie, qui a remarqué aussi que la résistance était très élevée pour Céfazoline (87,5%). De plus, Toroglu et Keskin (2011) en Turquie, ont enregistré une résistance élevée de 77%. Sarathbabu et al. (2012) en Inde, ont déclaré que parmi 254 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir des prélèvements urinaires, 130 sont résistantes à Céfazoline avec 51,18%.

La présente étude montre un taux de 31,52% de résistance à Céfotaxime, ce dernier est très proche de celui trouvé par Tlamçani et al. (2009) au Maroc, qui ont déclaré que 35% des souches étaient résistantes aux Céphalosporines de troisième génération.

Par contre, le présent résultat est beaucoup plus élevé que celui trouvé par Romanus et Egwu. (2011) au Nigeria, qui ont enregistré un taux de résistance à Céfotaxime de 8,4%. De plus, Ortega et al. (2011) à Barcelone en Espagne, ont rapporté une résistance de 12% à Céfotaxime.

D'autre part, d'autres études ont enregistré des taux de résistance beaucoup plus élevés que le présent résultat. Hussain et al. (2014) au Pakistan, ont trouvé que 50% des isolats de *K. pneumoniae* sont résistants à Céfotaxime. Ejikeugwu et al. (2012), ont enregistré un taux de résistance à Céfotaxime très important de *K. pneumoniae* avec 53,8%, dans un hôpital Nigérian.

D'après Labid (2015) à Annaba (Algérie), parmi 42 souches de *K. pneumoniae* un taux de résistance à Céfotaxime très élevé (83,33%) a été enregistré. Kumar (2013) en Inde, a déclaré que 30 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir d'échantillons de pus des patients hospitalisés sont résistantes à Céfotaxime (88,8%).

Selon l'étude de Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie, ont remarqué que parmi 198 souches de *Klebsiella* spp. isolées, le taux de résistance à Céfotaxime a une relation avec le phénotype BLSE. Ils ont diagnostiqué un taux de résistance de 100% pour les 40 souches BLSE et 17% pour les 158 souches non BLSE.

La résistance des Entérobactéries contre les Céphalosporines de troisième génération est en raison de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) ou AmpC β -lactamases. la résistance de *K. pneumoniae* aux Céphalosporines est à cause de β -lactamases, dont *TEM*, *SHV*, *CTX-M* (Hussain et al., 2014). *K. pneumoniae* produisant les enzymes BLSE et AmpC a des options thérapeutiques limitées (Shahid et al., 2008).

les gènes *bla_{CTX-M}* ne sont pas détectés dans *K. pneumoniae* jusqu'en 2009. Enzymes CTX-M sont un groupe de classe A de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) qui se propagent rapidement parmi les Entérobactéries dans le monde entier. Étant donné que l'isolement initial du *CTX-M-1* chez un patient européen à la fin des années 1980, >130 variants alléliques *CTX-M* ont été décrit. Ces variants *CTX-M* ont été divisés en 5 majeur groupes phylogénétiques, *CTX-M-1*, *CTX-M-2*, *CTX-M-8*, *CTX-M-9* ou *CTX-M-25* sur la base de leur acide aminé des séquences (Wang et al., 2013).

Concernant l'état de la résistance aux Aminosides dans l'hôpital de Mila (2007-2013), le taux le plus important a été enregistré pour l'**Amikacine (32,89%)**, suivi de la **Gentamicine (18,08%) (Tableau 33, Figure 30)**. Une étude réalisée par Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie, a enregistré un taux de résistance très élevé à Gentamicine de 92,5% pour les souches de *Klebsiella* spp. BLSE et un taux de résistance proche à notre résultat de 15,6% à Gentamicine pour *Klebsiella* spp. non BLSE, mais un taux de résistance à l'Amikacine plus faible que la présente étude avec 10% pour les *Klebsiella* spp. BLSE et 1% pour les non BLSE.

Dans une autre étude réalisée par Capone et al. (2012) en Italie, un taux de résistance très élevé à Gentamicine a été enregistré avec 79,6%. Camara et al. (2013) au Sénégal, ont remarqué une résistance très élevée aux Aminosides de 78,6% à Gentamicine et 41% à l'Amikacine, parmi 44 souches de *K. pneumoniae* BLSE. Ejikeugwu et al. (2012) dans un hôpital Nigérian, ont enregistré un taux de résistance à l'Amikacine très élevé pour *K. pneumoniae* avec 71,8%, et 12 souches sont résistantes à Gentamicine (30,8%). Toroglu et Keskin. (2011) en Turquie, ont trouvé que parmi 22 souches de *K. pneumoniae* isolées, 46% et 23% sont résistantes à Gentamicine et Streptomycine respectivement. Tlamçani et al. (2009) au Maroc, ont déclaré que sur 72 souches de *Klebsiella* spp. isolées, 30% sont résistantes aux Aminosides.

Par contre, un taux de résistance plus faible a été déclaré par Kabbaj et al. (2012) au Maroc, parmi un total de 25 souches de *Klebsiella* spp. isolées, 6 souches sont résistantes à Gentamicine avec seulement 24%, et 4% étaient résistantes à l'Amikacine. Dans une autre étude menée par El Bouamri et al. (2015) au Maroc, ils ont observé des taux de résistance très faibles de 21% à Gentamicine et 11% à l'Amikacine pour les *K. pneumoniae* non BLSE, et des taux beaucoup plus élevés pour les *K. pneumoniae* BLSE de 89% à Gentamicine et 50% à l'Amikacine.

Les mécanismes de résistance aux Aminoglycosides comprennent une modification enzymatique de ce médicament, la modification de la cible ribosomal, une diminution de l'accumulation intracellulaire d'antibiotiques par des modifications de la perméabilité de la membrane externe et une diminution du transport membranaire interne ou un efflux actif. Parmi ceux-ci, la production d'enzymes modifiant l'Aminoglycoside est le mécanisme le plus commun de la résistance aux Aminoglycosides. La modification de l'ARNr 16S par les enzymes méthylases qui sont capables de méthyler les nucléotides A à l'intérieur du site de l'ARNr 16S réduit la liaison aux Aminoglycosides, conduisant à une résistance de haut

niveau aux Aminosides, y compris l'Amikacine et Kanamycine. Actuellement, sept gènes de méthylase ARNr 16S ont été identifiés (*armA*, *rmtA*, *rmtB*, *rmtC*, *rmtD*, *rmtE* et *npmA*). Les méthylases ARNr 16S associés à des éléments génétiques mobiles comme les plasmides et les transposons ont été identifiés dans des souches cliniquement pertinentes de bactéries Gram-négatif, telles que *K. pneumoniae* et *E. coli*. Aussi, sept autres gènes codant pour la résistance aux Aminoglycosides ont été identifiés : *aac (3)-II*, *aac(6')-Ib*, *ant (3')-I*, *ant (2')-I*, *aac (3)-I*, *aac (6')-II*, *aac (6')-Iad* (Björg 2011; Caiqian et al., 2015).

A propos de la résistance aux Quinolones, le taux de résistance le plus élevé est enregistré à l'Acide Nalidixique (44,73%), le taux le plus bas a été enregistré avec le Ciprofloxacine (16,92%) (Tableau 33, Figure 30). Les résultats de la présente étude sont très proches à ceux déclarés par Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie, pour les souches de *Klebsiella* spp. non BLSE avec un taux de résistance 44,2% à l'Acide Nalidixique, mais pour les souches de *Klebsiella* spp. BLSE le résultat est différent où ils ont diagnostiqué un taux de résistance très élevé de 80% à l'Acide Nalidixique. Néanmoins, ont enregistré un résultat très élevé de la résistance à Ciprofloxacine de 67,5% pour 40 souches de *Klebsiella* spp. BLSE, et pour 158 souches non BLSE le taux de résistance est très proche à nos résultat observés avec 15,2%.

Par contre, Kumar (2013) en Inde, a enregistré un taux de résistance à l'Acide Nalidixique très élevé pour *K. pneumoniae* avec 71,7%. Kabbaj et al. (2012) au Maroc, ont remarqué que parmi un total de 25 souches de *Klebsiella* spp. 8 souches sont sensibles à Ciprofloxacine donc 68% étaient résistantes. Une autre étude réalisée par El Bouamri et al. (2015) au Maroc, a enregistré un taux de résistance très élevé à Ciprofloxacine (84%) pour les *K. pneumoniae* BLSE, et 32% des souches de *K. pneumoniae* non BLSE étaient résistantes à Ciprofloxacine. Dans une étude menée par Camara et al. (2013) au Sénégal, ils ont trouvé une résistance de 67,4% à Ciprofloxacine, parmi 44 souches de *K. pneumoniae* BLSE. Ejikeugwu et al. (2012) dans un hôpital Nigérian, ont observé que 59% des souches de *K. pneumoniae* sont résistantes à Ciprofloxacine.

Dans une étude menée par Tlamçani et al. (2009) au Maroc, sur 72 souches de *Klebsiella* spp., ont trouvé un taux de résistance de 33% aux Fluoroquinolones. Toroglu et Keskin. (2011) au Turquie, ont déclaré que 22 souches de *K. pneumoniae* isolées sont résistantes aux Quinolones (Ofloxacine) soit 27%.

K. pneumoniae est naturellement sensible aux Quinolones. L'utilisation abusive de ces molécules en médecine humaine a fait augmenter la résistance de *Klebsiella* spp. aux Quinolones au cours de la dernière décennie, les seuls mécanismes de la résistance aux Quinolones connus avaient un support chromosomique. Depuis 1998, des déterminants d'origine plasmidique ont été découverts. En 1998, Martinez-Martinez a découvert le premier déterminant de la résistance plasmidique aux Quinolones chez *K. pneumoniae* (gène *Qnr A1*). Depuis, de nouveaux types résultants de successions d'acides aminés ont été identifiés (*Qnr A2*, *Qnr B1* et *Qnr S1*, etc.). En 2005, un second mécanisme de résistance plasmidique a été identifié. Il s'agit d'un variant d'une aminoglycoside acétyl-transférase *aac (6')-Ib-cr* et qui confère une résistance de bas niveau à Ciprofloxacine et à Norfloxacine par acétylation enzymatique (Tlamcani et al., 2009).

Quatre autres déterminants plasmidiques également impliqués dans la résistance aux Quinolones ont été rapportés (*qnrB*, *qnrS*, *qnrC* et *qnrD*), ainsi que différents variants des protéines QnrA et QnrB (Meradi et al., 2011).

Le mécanisme principal de résistance aux Quinolones et Fluoroquinolones implique une accumulation de mutations au sein des gènes codant pour les enzymes ADN gyrase et topoisomérase IV, les cibles principales de ces antibiotiques. Une diminution de la concentration intracellulaire peut également causer une résistance aux Fluoroquinolones par réduction de la production de porines ou par modification de l'activité de diverses pompes à efflux. En 2002 au Japon, une nouvelle pompe à efflux, nommée *QepA*, est découverte. Elle est codée par un gène situé sur un plasmide de résistance d'une souche clinique d'*E. coli* isolée d'urine. Ce plasmide confère un profil de résistance multiple vis-à-vis des Aminoglycosides, des Fluoroquinolones et des bêta-lactames à large spectre (Muylaert et Mainil, 2013).

Par ailleurs, il existe une fréquente association entre les déterminants génétiques de type *Qnr* et ceux des BLSE, ce qui souligne la possibilité d'une co-sélection de ces deux mécanismes de résistance plasmidique. Une étude menée en Espagne a évalué la prévalence des gènes *Qnr* chez 305 souches d'Entérobactéries productrices de BLSE, les résultats de cette étude ont révélé une prévalence de 4,9 % de l'association *Qnr*-BLSE (Ben Haj Khalifa et Khedher., 2012).

A propos de la résistance aux Sulfamides, nous remarquons une résistance élevée pour Triméthoprime/Sulfaméthoxazole de **62,1%** (**Tableau 33, Figure 30**), ce résultat est proche au résultat obtenus par Ben Haj Khalifa et Khedher. (2012) en Tunisie, qui ont

trouvé que sur 198 souches de *Klebsiella* spp., 72,5% des souches sont résistantes à Triméthoprim/Sulfaméthoxazole.

Un résultat très élevé est enregistré dans une étude réalisée par El Bouamri et al. (2015) au Maroc, qui ont déclaré que 61% de *K. pneumoniae* non BLSE sont résistantes à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim et 89% pour *K. pneumoniae* BLSE. Aussi, Ejikeugwu et al. (2012) dans un hôpital Nigérian, ont observé un taux de résistance à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim très élevé pour *K. pneumoniae* de 89,7%. Kabbaj et al. (2012) au Maroc, ont diagnostiqué un taux de sensibilité beaucoup plus faible à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim des souches de *K. pneumoniae*, parmi un total de 25 souches, seulement 2 souches sont sensible (9,9%) c'est-à-dire un taux de résistance de 90,1%. Camara et al. (2013) au Sénégal, ont observé que la majorité des souches de *K. pneumoniae* BLSE étaient résistantes à Sulfaméthoxazole/Triméthoprim (95,2%).

Contrairement, une étude faite par Tlamçani et al. (2009) au Maroc, parmi un total de 72 souches de *K. pneumoniae*, ils ont remarqué une résistance plus faible avec 28%.

Chez les Entérobactéries, le déterminisme génétique de la résistance aux Sulfamides est essentiellement plasmidique. Cette résistance repose sur la production de dihydroptéroate synthétases dont l'affinité pour les Sulfamides est réduite (Mammeri 2009).

Les plasmides codant pour les gènes de BLSE entraînent souvent une résistance à d'autres antibiotiques tels que les Aminoglycosides, le Chloramphénicol, Sulfamide/Triméthoprim, les Cyclines et les Fluoroquinolones (Camara et al., 2011)

Pour la résistance aux Polypeptides, le taux de résistance à Colistine (**42,85%**) observé dans cette étude est plus élevé que celui rapporté par Pagano et al. (2014) en Italie, qui ont remarqué une résistance beaucoup plus faible à Colistine avec 19%.

Poudyal et al. (2008) en Australie, ont déclaré que parmi 22 souches de *K. pneumoniae* 6 isolats étaient résistants à Colistine (27,27%). Une étude menée par Capone et al. (2012) à Rome en Italie, a enregistré un taux de résistance de 36,1% à Colistine. Dans une autre étude menée par Kumar (2013) en Inde, il a enregistré que toutes les souches étaient résistantes à Colistine (100%).

Contrairement dans des études faites par Kabbaj et al. (2012) au Maroc, et Belbel (2014) à Annaba en Algérie, ont tous trouvé que tous les isolats testés étaient sensibles 100% à Colistine.

Colistine a émergé comme une option de traitement efficace pour les infections multirésistantes. Cependant, l'utilisation abusive a probablement conduit à l'apparition d'une résistance, mais la transmission horizontale de gènes peut également être impliquée.

De plus, la transmission horizontale de la résistance à Colistine est possible de la ferme animale aux humains a été suggérée par Olaitana et al. (2014) en Asie, et le potentiel de transfert de gènes de résistance entre les espèces doit être considéré en raison de la vaste utilisation d'antibiotiques en médecine vétérinaire (Parisi et al., 2015).

Concernant les autres antibiotiques, la Fosfomycine a montré un taux de résistance de **50%**, ce dernier est proche au taux déclaré par Labid (2015) à Annaba en Algérie, qui a enregistré un taux de résistance à Fosfomycine de 41,66% pour les souches de *K. pneumoniae* isolées.

3.3. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila en Algérie de 2015 à 2016

Tableau 34 : Antibiorésistance totale de 56 souches de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila de 2015 à 2016.

Familles	Antibiotiques	% de Résistance
β-lactamines	OX	1* (1)** 100***
	AMP	6 (7) 85,71
	AMX	39 (40) 97,5
	AMC	24 (33) 72,72
	P	1 (1) 100
	CZ	16 (32) 50
	CX	1 (19) 5,26
	CFM	1 (3) 33,33
	CTX	9 (31) 29,03
	IPM	0 (52) 0
Aminosides	AN	2 (47) 4,25
	GN	2 (12) 16,66
Macrolides	L	2 (2) 100
	PT	2 (2) 100
Quinolones	NA	11 (35) 31,42
	CIP	2 (6) 33,33
Sulfamides	SXT	24 (49) 48,97
Polypeptides	CS	2 (31) 6,45
Glycopeptides	VA	2 (2) 100
Autres	NIT	5 (17) 29,41
	FOS	17 (36) 47,22
	FA	2 (2) 100

OX : Oxacilline, **AMP** : Ampicilline, **AMX** : Amoxicilline, **AMC** : Amoxicilline/Acide Clavulanique, **CZ** : Céfazoline, **CX** : Céfoxitine, **CFM** : Céfixime, **CTX** : Céfotaxime, **IMP** : Imipénème, **P** : Pénicilline, **AN** : Amikacine, **GN** : Gentamycine, **L** : Lincomycine, **PT** : Pristinamycine, **NA** : Acide Nalidixique, **CIP** : Ciprofloxacine, **SXT** : Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, **CS** : Colistine, **VA** : Vancomycine, **NIT** : Nitroxoline, **FOS** : Fosfomycine, **FA** : Acide Fusidique.

*Nombre de souches résistantes, **Nombre de test d'antibiogramme, ***Pourcentage de résistance.

Tableau 35 : Comparaison des résultats du pourcentage de résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* de 2015-2016 avec les résultats de nos collègues des promotions Master 2007-2013 et 2014-2015 à l'hôpital de Mila.

Les Antibiotiques	% de Résistance 2015-2016	% de Résistance 2014-2015	% de Résistance 2007-2013
	56 souches	30 souches	172 souches
AMC	24* (33)** 72,72***	14 (15) 93,33	106 (120) 88,33
IPM	0 (52) 0	4 (14) 28,57	26 (69) 37,68
CTX	9 (31) 29,03	5 (14) 35,71	29 (92) 31,52
CZ	16 (32) 50	In	57 (74) 77,02
GN	2 (12) 16,66	0 (7) 0	17 (94) 18,08
AN	2 (47) 4,25	2 (12) 18,18	25 (76) 32,89
CIP	2 (6) 33,33	2 (14) 14,28	11 (54) 16,92
NA	11 (35) 31,42	6 (12) 50	34 (76) 44,73
SXT	24 (49) 48,97	11 (15) 73,33	59 (95) 62,1
CS	2 (31) 6,45	3 (14) 21,42	39 (91) 42,85

AMC : Amoxicilline/Acide Clavulanique, IMP : Imipénème, CTX : Céfotaxime, CZ : Céfazoline, GN : Gentamycine, AN : Amikacine, CIP : Ciprofloxacine, NA : Acide Nalidixique, SXT : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, CS : Colistine, In : Inconnu.

*Nombre de souches résistantes, **Nombre de test d'antibiogramme, ***Pourcentage de résistance.

La résistance aux β -lactamines

L'étude de la résistance des 56 souches de *K. pneumoniae* (2015-2016) révèle des taux de résistance très élevés pour la famille des β -Lactamines (Tableau 34, Figure 31). En effet, les taux de résistance les plus élevés sont enregistrés pour les Pénicillines avec une résistance totale (100%) pour l'Oxacilline et pénicilline, suivie par une résistance à l'Amoxicilline (97,5%), l'Ampicilline (85,71%) et l'Amoxicilline/Acide Clavulanique (72,72%). Pour les Céphalosporines les taux de résistance observés sont de 50% pour Céfazoline, 33,33% à Céfixime, 29,03% à Céfotaxime et un taux plus faible pour Céfoxitine de 5,26%. Cependant, pour les Carbapénèmes la résistance était nulle (0%) à l'Imipénème.

Les même taux ont été observés par nos collègues de Master 2015 dans l'hôpital de Mila pour la résistance aux l'Oxacilline et Pénicilline de 100%. Aussi, ils ont enregistré un taux de résistance proche pour l'Ampicilline de 80%. Par contre, ils ont observé un taux de résistance au Céfoxitine élevé de 50%.

Aussi, pour la résistance à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique, le taux a diminué au niveau de l'hôpital de Mila de 93,33% (2014-2015) à 72,72% (2015-2016).

Le taux de résistance à l'Imipénème observé par nos collègues de Master 2015 (28,57%) a diminué dans la présente étude de 2016 à 0%.

Concernant la résistance à Céfotaxime, une faible diminution de la résistance a été remarquée au niveau de l'hôpital de Mila de 35,71% (2014-2015) par rapport à 29,03% (2015-2016).

Concernant les Aminosides, nos résultats ont enregistré une émergence de la résistance à Gentamicine de 16,66% (Tableau 34, Figure 31) par rapport aux résultats déclarés par nos collègues de Master 2015, qui ont affirmé une résistance nulle de 0% à Gentamicine. Aussi, une diminution de la résistance à l'Amikacine était observée au niveau de l'hôpital de Mila de 18,18% (2014-2015) à 4,25% (2015-2016).

Concernant la résistance aux Quinolones, une augmentation de la résistance à Ciprofloxacine était observée au niveau de l'hôpital de Mila de 14,28% (2014-2015) par rapport à 33,33% (2015-2016). Par contre, une diminution de la résistance à l'Acide Nalidixique a été enregistrée de 50% (2014-2015) à 31,42% (2015-2016).

Pour la résistance aux Sulfamides, une diminution de la résistance à Triméthoprime/Sulfaméthoxazole a été notée de 73,33% (2014-2015) à 48,97% (2015-2016) dans l'hôpital de Mila.

A propos de la résistance aux Polypeptides, le taux de résistance à Colistine a régressé de 6,45% (2015-2016) par rapport à 21,42% (2014-2015).

Cette comparaison, montre que la résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques même variable est toujours présente à l'hôpital de Mila. L'évolution était variable selon les antibiotiques pour plusieurs causes :

- *La pénurie des disques d'antibiotiques oblige le changement du test d'antibiogramme à chaque fois.*
- *Le nombre des répétitions n'est pas le même pour les souches de *K. pneumoniae*.*
- *Echec de la stratégie de prévention contre la prolifération de la résistance aux antibiotiques.*
- *L'origine géographique des patients hospitalisés ou non peut influencer les profils des résistances aux antibiotiques.*

Durant 2007-2013 à l'hôpital de Mila, **la résistance à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique** a diminué de 88,33% en 2007-2013 à 72,72% en 2015-2016.

Pour la résistance à l'Imipénème, une forte diminution a été remarquée de 37,68% (2007-2013) à 0% (2015-2016).

Au sujet de la résistance à Céfazoline, une diminution importante a été observée de 77,02% (2007-2013) à 50% (2015-2016).

A propos de la résistance à Céfotaxime, une faible diminution a été enregistrée de 31,52% (2007-2013) à 29,03% (2015-2016).

Concernant la résistance aux Aminosides, une faible régression de résistance à Gentamycine a été remarquée de 18,08% (2007-2013) à 16,66% (2015-2016). Tandis que, une diminution importante de la résistance à l'Amikacine a été notée de 32,89% (2007-2013) à 4,5% (2015-2016).

Concernant la résistance aux Quinolones, une augmentation de la résistance à Ciprofloxacine a été observée de 16,92% (2007-2013) à 33,33% (2015-2016). Par contre, une diminution de la résistance à l'Acide Nalidixique a été enregistrée de 44,73% (2007-2013) à 31,42% (2014-2015).

A propos de la résistance aux Sulfamides, le taux de résistance à Triméthoprime/Sulfaméthoxazole a régressé de 48,97% (2015-2016) par rapport à 62,1% (2007-2013).

Pour la résistance aux Polypeptides, une diminution de la résistance à Colistine a été notée de 42,85% (2007-2013) à 6,45% (2015-2016).

3.4. Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila, de 2014 à 2016 selon la nature de prélèvement : AFC

Pour améliorer le nombre des répétitions des tests d'antibiogramme, et mieux observer le phénomène de résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* nous avons penser à renforcer nos résultats de 2015-2016 avec ceux de nos collègues de Master de 2014-2015.

Tableau 36 : Antibiorésistance totale de 82 souches de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila de 2014 à 2016 (26 : 2014/2015 et 56 : 2015/2016), selon la nature de prélèvement.

Famille	Antibiotiques	% Résistance			Total
		PU	PV	PP	
β-lactamines	AMP	8* (9)** 88,88***	0 (0) 0	1 (1) 100	9 (10) 90
	AMX	42 (42) 100	2 (2) 100	4 (5) 80	48 (49) 97,95
	AMC	29 (37) 78,33	2 (2) 100	5 (6) 83,33	36 (45) 80
	CZ	16 (26) 55,17	0 (1) 0	0 (2) 0	16 (32) 50
	CTX	12 (40) 30	0 (3) 0	1 (2) 50	13 (45) 28,88
	CX	0 (17) 0	0 (1) 0	1 (1) 100	12 (41) 5,26
	IPM	1 (52) 1,92	0 (3) 0	0 (6) 0	1 (61) 1,63
Aminosides	AN	4 (62) 6,45	0 (3) 0	2 (8) 25	6 (73) 8,21
Macrolides	L	2 (2) 100	0 (0) 0	0 (0) 0	2 (2) 100
	PT	2 (2) 100	0 (0) 0	0 (0) 0	2 (2) 100
Quinolones	NA	17 (52) 32,69	1 (2) 50	3 (7) 42,85	21 (61) 34,42
Sulfamides	SXT	28 (52) 53,84	1 (3) 33,33	4 (5) 80	33 (60) 55
Polypeptides	CS	2 (33) 6,06	0 (2) 0	1 (4) 25	3 (39) 7,69
Autre	VA	2 (2) 100	1 (1) 100	1 (1) 100	4 (4) 100
	NIT	5 (16) 31,25	0 (0) 0	0 (1) 0	5 (17) 49,41
	FOS	17 (35) 48,57	0 (1) 0	1 (3) 33,33	18 (39) 46,15
	FA	2 (2) 100	0 (0) 0	1 (1) 100	3 (3) 100
	RIF	0 (0) 0	0 (1) 0	1 (1) 100	1 (2) 50

PU : Prélèvement Urinaire, PV : Prélèvement Vaginal, PP : Prélèvement de Pus, AMP : Ampicilline, AMX : Amoxicilline, AMC : Amoxicilline/Acide Clavulanique, CZ : Céfazoline, CX : Céfoxitine, CTX : Céfotaxime, IMP : Imipénème, AN : Amikacine, L : Lincomycine, PT : Pristinamycine, NA : Acide Nalidixique, SXT : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, CS : Colistine, VA : Vancomycine, NIT : Nitroxoline, FOS : Fosfomycine, FA : Acide Fusidique, RIF : Rifampicine.

*Nombre de souches résistantes, **Nombre de test d'antibiogramme, ***Pourcentage de résistance.

Tableau 37 est utilisé pour réaliser l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC).

Tableau 37 : Les pourcentages d'évolution de l'antibiorésistance de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila, de 2014 à 2016.

Familles	B-Lactamines						Aminosides	Quinolones	Sulfamides	Polypeptides	Autres
	AMP	AMX	AMC	CZ	CTX	IPM	AN	NA	SXT	CS	FOS
Urine	8* (9)** 0,88***	42 (42) 1	29 (37) 0,78	16 (26) 0,55	12 (40) 0,30	1 (52) 0,02	4 (62) 0,6	17 (52) 0,32	28 (52) 0,53	2 (33) 0,6	17 (35) 0,48
Vagin	0 (0) 0	2 (2) 1	2 (2) 1	0 (1) 0	0 (3) 0	0 (3) 0	0 (3) 0	1 (2) 0,5	1 (3) 0,33	0 (2) 0	0 (1) 0
Pus	1 (1) 1	4 (5) 0,8	5 (6) 0,83	0 (2) 0	1 (2) 0,5	0 (6) 0	2 (8) 0,25	3 (7) 0,42	4 (5) 0,80	1 (4) 0,25	1 (3) 0,33

AMP : Ampicilline, **AMX** : Amoxicilline, **AMC** : Amoxicilline/Acide Clavulanique, **CZ** : Céfazoline, **CTX** : Céfotaxime, **IPM** : Imipénème, **AN** : Amikacine, **NA** : Acide Nalidixique, **SXT** : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, **CS** : Colistine, **FOS** : Fosfomycine.

*Nombre de souches résistantes, **Nombre de test d'antibiogramme, ***Pourcentage de résistance.

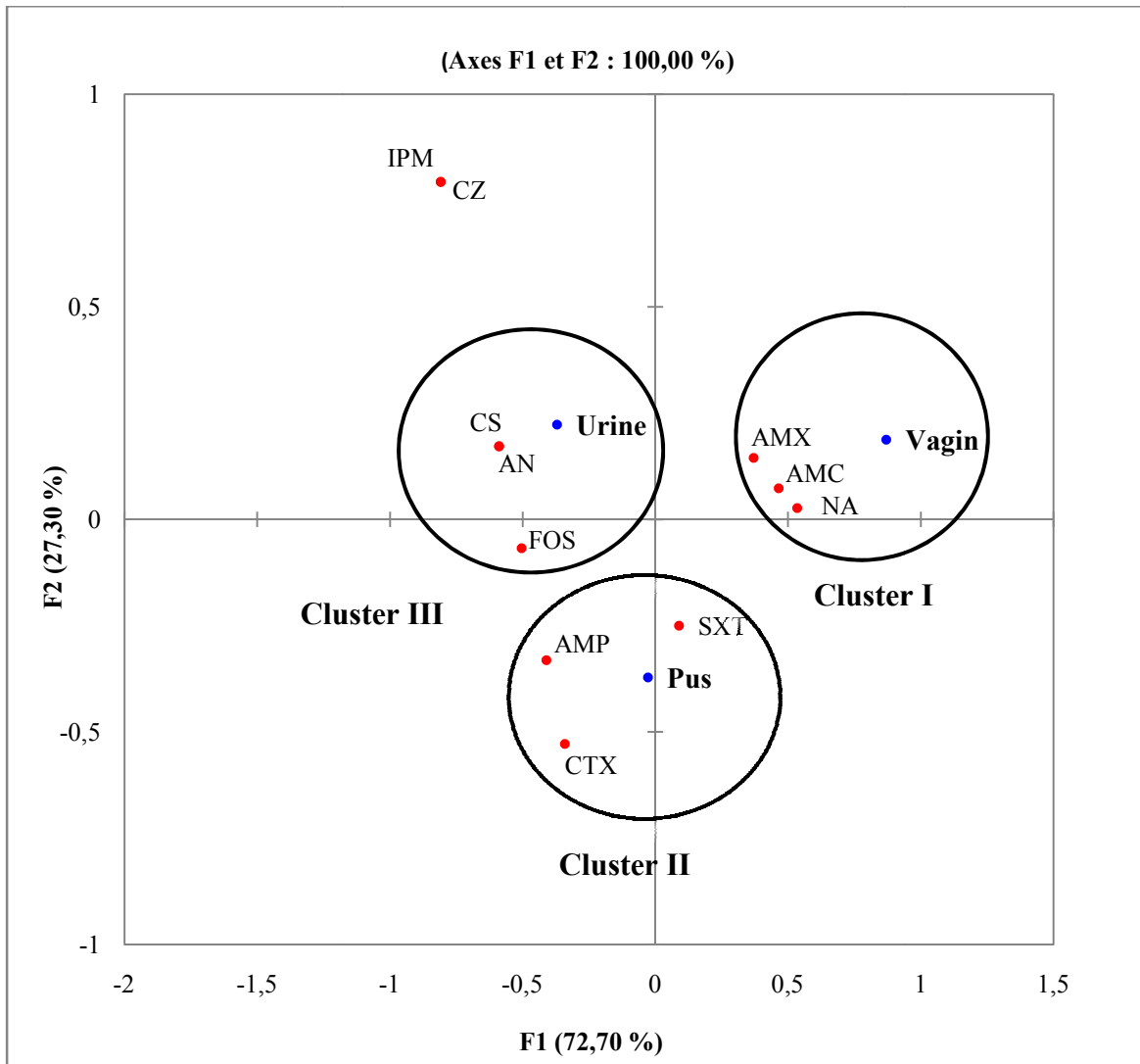


Figure 32 : Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* selon la nature de prélèvement (AFC) à l'hôpital de Mila de 2014/2016.

Dans l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) montrée dans la Figure 32, trois Clusters principaux sont remarquables, regroupant les phénotypes de résistance aux antibiotiques et les natures des prélèvements. Le Cluster I situé dans la partie Nord-Est du graphique regroupe le profil de résistance à Amoxicilline (AMX), Amoxicilline/Acide Clavulanique (AMC) et Acide Nalidixique (NA) en association avec le Vagin. Le Cluster II situé dans la partie sud rassemble le profil de résistance à Ampicilline (AMP), Céfotaxime (CTX) et Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (SXT) en association avec le Pus. Le Cluster III situé dans le centre du graphique, regroupe le profil de résistance à Amikacine (AN), Colistine (CS) et Fosfomycine (FOS) en association avec l'Urine. Cependant, l'Imipénème (IPM) et Céfazoline (CZ) sont isolés du reste des antibiotiques et prélèvements, et sont situés dans la partie Nord-Ouest du graphique. L'association des

phénotypes de résistance au prélèvement est expliquée par la résistance élevée de *K. pneumoniae* dans le prélèvement. Par contre, l'éloignement des phénotypes de résistance au prélèvement est expliqué par la faible résistance de *K. pneumoniae* dans celui-ci.

3.4.1 Résistance aux antibiotiques dans le Vagin : Cluster I

Le profil de la résistance aux antibiotiques du Cluster I (Tableau 37, Figure 32) associé au Vagin est Amoxicilline (100%), Amoxicilline/Acide Clavulanique (100%) et Acide Nalidixique (50%). D'autre part, Colistine (0%), Amikacine (0%), Fosfomycine (0%), Sulfaméthoxazole/Triméthoprim (33,33%), Céfotaxime (0%) et Ampicilline (0%), se manifestant dans l'AFC par leur comportement spatial éloigné du Cluster I, et a noté que Imipénème (0%) et Céfazoline (0%) ont une distribution spatiale isolée du Vagin et même des autres prélèvements dans la présente AFC.

Le résultat d'une étude rapporté par Romanus et Egwu. (2011) au Nigeria, sur 12 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir d'échantillons Vaginaux, est différent au profil de résistance aux antibiotiques dans le Vagin de Cluster I de la présente étude, ils remarqué une résistance faible de 16,7% pour l'Amoxicilline/Acide Clavulanique. D'autre part, pour les autres antibiotiques nous enregistrons une concordance avec les résultats de cette étude pour Sulfaméthoxazole/Triméthoprim avec 38,4% et Céfotaxime avec 8,4%, en effet ils ont une association plutôt avec le Pus dans la présente AFC, aussi ils ont observé une résistance à l'Amikacine de 0%, alors que dans l'AFC il y a une association avec l'Urine. Cependant, leur résultat pour l'Imipénème a confirmé le résultat de L'AFC où l'Imipénème a montré un comportement spatial isolé et éloigné avec un taux nulle de résistance (0%).

Selon Parisi et al. (2015) à l'hôpital de Padoue en Italie, sur 496 souches de *K. pneumoniae* produisant carbapénémases (KP-CP), seulement 2 souches étaient résistantes à Colistine dans le Vagin, ce résultat a confirmé la présente étude. En effet, la résistance de *K. pneumoniae* à Colistine dans le Vagin est nulle (0%). Dans l'AFC, la Colistine est lointe du Cluster du Vagin et montre en revanche une forte association avec l'Urine.

Le profil de résistance aux antibiotiques dans le Vagin de la présente étude pour l'Amoxicilline est confirmé par Shamim et al. (2008) au Pakistan, où ils ont observé parmi 77 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir d'échantillons Vaginaux, un taux de résistance très important à l'Amoxicilline avec 90,48%. Cependant, pour Céfotaxime, Sulfaméthoxazole/Triméthoprim et Imipénème leur résultats sont proches du présent travail, où ils ont enregistré des taux de résistance faible de 20,9%, 13,2% et 0%

respectivement. Dans la présente AFC Céfotaxime et Sulfaméthoxazole/Triméthoprime montrent une association avec le Pus, et l'Imipénème montre un comportement spatial isolé et éloigné de tous les prélèvements.

Dans le Cluster I, les antibiotiques Amoxicilline (AMX), Amoxicilline/Acide Clavulanique (AMC) de la famille des β -lactamines, Acide Nalidixique (NA) de la famille des Quinolones ont montré un comportement spatial similaire en association avec le Vagin. Ce résultat est en agrément que celui rapporté par Hudson et al. (2014), qui ont rapporté que les gènes *qnrB9* et *aac(6')-Ib-cr* (conférant une résistance aux Quinolone «NA et CIP»), *bla_{OXA-1}* et *bla_{SHV-11}* (conférant une résistance aux β -lactamines «AMX et AMC») sont situés successivement sur le même plasmide Kpn2146 (découvert en Inde) (Figure 15, Chapitre 4), et. De même, Huang et al. (2013), pour le plasmide pKOX-R1 isolé au Taiwan (Figure 13, Chapitre 4) ont trouvé que les deux gènes *bla_{SHV-12}* (codant pour la résistance aux β -lactamines) et *qnrSI* (codant pour la résistance aux Quinolones) sont portés sur le même plasmide et la distance entre les deux est courte, ce qui correspond bien avec le résultat de l'AFC, où il a été observé une association étroite entre AMX, AMC et NA avec le Vagin. Par contre, dans un autre plasmide pK245 étudié en Taiwan par Chen et al. (2006) (Figure 12, Chapitre 4), ils ont mentionné que les gènes *bla_{SHV-2}* (codant pour la résistance aux β -lactamines) et *qnrS* (codant pour la résistance aux Quinolones et aux Fluoroquinolones) sont éloignés.

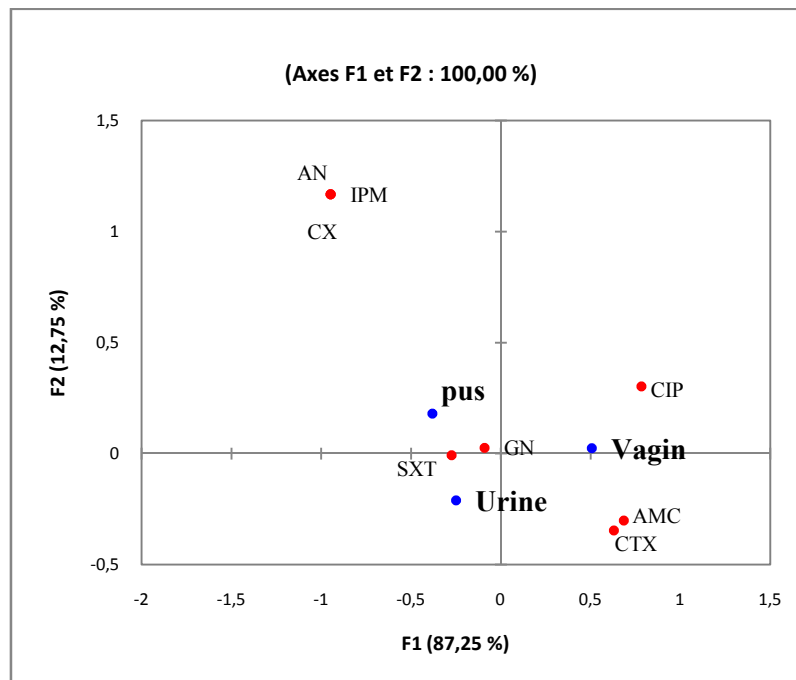
3.4.2 Résistance aux antibiotiques dans le Pus : Cluster II

Le profil de résistance associé au Pus est Ampicilline (100%), Céfotaxime (50%) et Sulfaméthoxazole/Triméthoprime (80%) (Tableau 37, Figure 32). Par contre, la résistance la plus faible aux antibiotiques remarquée dans le Pus concerne : Colistine (25%), Amikacine (25%), Fosfomycine (33,33%), et elle était nulle pour l'Imipénème (IPM) et Céfazoline (CZ), se manifestant dans l'AFC par leur comportement spatial éloigné du Pus.

L'AFC montre que le Pus présente une association étroite avec le Céfotaxime et Sulfaméthoxazole/Triméthoprime, ce résultat est en agrément avec l'étude de Shahid et al. (2008) dans un hôpital en Inde, où ils ont remarqué que parmi 39 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir du Pus, des taux de résistance très importants à Céfotaxime et Sulfaméthoxazole/Triméthoprime de 92,3% et 100% respectivement sont enregistré. Cependant, leurs résultats sont différents pour Ciprofloxacine et Amikacine par des pourcentage de résistances de 71,8% et 64,1% respectivement, ces derniers sont loin du Pus dans la présente AFC.

Romanus et Egwu. (2011) dans un hôpital Nigérian, ont enregistré parmi 16 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir de prélèvements de Pus. Leur résultat est similaire au profil de résistance aux antibiotiques associé au Pus de la présente étude pour Sulfaméthoxazole/Triméthoprime. En effet, ils ont observé un taux de résistance élevé pour Sulfaméthoxazole/Triméthoprime de 58,4%. Par contre, leur résultat est différent pour Céfotaxime, où ils ont trouvé un pourcentage de 0%. D'autre part, leur résultats de l'AFC (modélisé) est semblable avec la présente étude pour l'Impipénème, Céfoxitine, l'Amikacine, l'Amoxicilline/Acide clavulanique et Ciprofloxacine.

Les résultats de Romanus et Egwu. (2011) modélisés par AFC sont montrés dans la Figure ci-dessous :



Kumar (2013) en Inde, a déclaré que sur 30 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir d'échantillons de Pus de patients hospitalisés, les résultats de l'antibiorésistance sont similaires au présent travail pour Céfotaxime où un taux de résistance très important de 88,88% est observé. De même pour l'Amikacine, il a enregistré un taux de résistance faible de 11,9%, ce qui est en accordance au comportement spatial remarqué pour l'Amikacine dans la présente AFC où elle a été lointe du Pus, et a montré plutôt une association forte avec l'Urine. Par contre, il a enregistré dans le Pus des taux de résistance très importants de 100%, 60,92% et 71,7% pour Colistine, Amoxicilline/Acide Clavulanique et Acide

Nalidixique respectivement ; dans la présente AFC ces antibiotiques sont regroupés avec l'Urine et le Vagin.

L'étude menée par Hussain et al. (2014) en Pakistan, confirme encore notre résultat de la résistance à Céfotaxime dans le Pus. Ils ont observé que 43 souches de *K. pneumoniae* sont résistantes à quatre types de Céphalosporines de troisième génération testées à savoir Céftriaxone (58%), Ceftazidime (42%), Céfotaxime (50%), Céftrizoxime (49%).

Selon Shraddha et al. (2014) en Inde, parmi un total de 104 souches de *K. pneumoniae*, 37 souches étaient isolées dans le Pus, le résultat était de 24,32% de *K. pneumoniae* résistantes à l'Imipénème, ce résultat est identique à celui de la présente étude. En effet, dans l'AFC l'Imipénème a montré un comportement spatial isolé et était loin du Pus et même des autres prélèvements.

Dans le Cluster II, l'Ampicilline (AMP) et Céfotaxime (CTX)) appartiennent à la famille des β -lactamines, et Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (SXT) de la famille des Sulfamides sont présentés une distribution spatiale similaire. Ces antibiotiques ont montré un profil de résistance en association avec le Pus. Ce résultat est semblable à ceux rapportés par Hudson et al. (2014), qui ont déclaré que les gènes *sul2* (conférant une résistance aux Sulfamides «SXT»), *bla_{TEM-1}* et *bla_{CTX-M-15}* (conférant une résistance aux β -lactamines «AMP, CTX») sont situés successivement, où le gène *sul2* porté sur le transposon Δ Tn6187, *bla_{TEM-1}* et *bla_{CTX-M-15}* portés sur le transposon Δ Tn2 de même plasmide Kpn2146 (découvert en Inde) (Figure 15, Chapitre 4). De même, Huang et al. (2013), pour le plasmide pKOX-R1 isolé au Taiwan (Figure 13, Chapitre 4) ont trouvé que les gènes *bla_{CTX-M-3}*, *bla_{TEM-1}* (conférant une résistance aux β -lactamines) et *sul1* (conférant une résistance aux Sulfamides) sont portés sur un intégron de même plasmide et la distance entre eux est très courte, ce qui concorde bien avec le résultat de l'AFC de la présente étude. Aussi, Eduardo et al. (2010) ont remarqué que les déterminants génétique *bla_{OXA-2}* et *bla_{CTX-2}* codants pour les β -lactamines, et *sul1* codant pour les Sulfamides sont voisins, ces gènes sont portés sur un intégron de classe I (In17500) situés probablement sur le même plasmide. Par contre, dans un autre plasmide pK245 trouvé en Taiwan par Chen et al. (2006) (Figure 12, Chapitre 4), ils ont remarqué que les gènes *bla_{SHV-2}* (codant pour la résistance aux β -lactamines) et *sul2* (codant pour la résistance aux Sulfamides) sont éloignés.

3.4.3 Résistance aux antibiotiques dans l'Urine: Cluster III

Le profil de la résistance associé à l'Urine (Tableau 37, Figure 32) est Colistine (6,06%), Amikacine (6,45%) et Fosfomycine (48,57%). Cependant, le reste des profils de résistance aux antibiotiques ont montré une association avec les autres prélèvements.

Selon Shahid et al. (2008) en Inde, sur 22 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir de l'Urine, ils ont enregistré un résultat similaire pour l'Amikacine avec 45,5% de résistance. Par contre, ils ont observé un résultat contraire pour Céfotaxime avec 68,2% de résistance. L'AFC montre une association faible de Céfotaxime à l'Urine avec 29,72% de résistance.

Selon Romanus et Egwu. (2011) au Nigeria, sur 72 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir de l'Urine. Ils ont enregistré un taux de résistance de 0% pour l'Imipénème, ce résultat confirme encore le comportement spatial isolé et éloigné de l'Imipénème dans l'Urine avec une résistance de 1,92%. Au contraire, ils ont enregistré un taux de résistance nulle (0%) pour l'Amikacine.

Cabral et al. (2012) au Brésil, sur 11 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir de l'Urine, le profil de résistance aux antibiotiques identifié est : Amoxicilline, Ampicilline, Amoxicilline/Acide Clavulanique, Acide nalidixique, Amikacine et Sulfaméthoxazole/Triméthoprim, ce qui concorde bien avec la présente étude. Contrairement, ils ont enregistré une résistance à l'Imipénème (5 souches étaient résistantes parmi 11 souches) différente par rapport à l'AFC où l'Urine enregistré un taux de résistance de 1,92%.

Selon Al-Jebouri et Mdish. (2013) en Irak à l'hôpital de Tikrit, *K. pneumoniae* a été isolée à partir de 6 patients. Ils ont enregistré des taux identiques à nos taux de résistance aux antibiotiques dans l'Urine pour l'Ampicilline (88,88%) et l'Amoxicilline (100) avec 100% et 90% respectivement. Ces résultats confirment la résistance naturelle de *K. pneumoniae* aux Aminopénicillines (CA-SFM 2015). Aussi, le taux de résistance à l'Acide Nalidixique de la présente étude dans l'Urine (32,69%) concorde bien avec le taux enregistré dans cette étude de 30%.

Selon Shraddha et al. (2014) en Inde, parmi un total de 38 souches de *K. pneumoniae* isolées de l'Urine, le résultat était 31,57% résistantes à l'Imipénème, ce taux est plus élevé par comparaison à la présente étude observé (1,92%).

Selon l'étude réalisée par Parisi et al. (2015) en Italie, le nombre des souches de *K. pneumoniae* résistantes à Colistine dans l'Urine était 12 souches parmi 32 souches sensibles à Colistine. Ce résultat est en agrément avec le Cluster III de l'AFC, où Colistine est associée à l'Urine.

Des résultats très proches pour l'Imipénème (classe des Carbapénème) et Céfotaxime (troisième génération de Céphalosporines) ont été obtenus par Kumar et al. (2014) en Inde. Ils ont trouvé 9 souches de *Klebsiella* spp., dans les Urines avec une résistance de 6,5% et 33,2% pour l'Imipénème et Céfotaxime respectivement. Ces résultats ont confirmé le comportement spatial de l'Imipénème et de Céfotaxime de l'AFC dans l'Urine.

Dans le Cluster III, les antibiotiques Amikacine (AN) de la famille des Aminosides, Colistine (CS) de la famille de Polypeptides et Fosfomycine (FOS) ont montré un comportement spatial similaire. Ces antibiotiques ont présenté une association avec l'Urine dans la présente AFC, nos résultats sont identiques à ceux rapportés par Huang et al. (2013) (Figure 13, Chapitre 4), pour l'Amikacine et Fosfomycine. Ils ont rapporté que les gènes *fosA* (codant pour la résistance aux Fosfomycine), *StrA* et *strB* (codant pour la résistance aux Aminosides) sont portés sur le même plasmide pKOX-R1 (isolé au Taiwan) et la distance entre eux est très courte. Colistine présente un comportement spatial similaire avec Amikacine et Fosfomycine, cela peut indiquer que le déterminant génétique de cet antibiotique peut être proche ou porté sur des mêmes supports génétiques de ceux des deux antibiotiques (AN, FOS).

L'Imipénème (IPM) et Céfazoline (CZ) appartiennent à la famille des β -lactamines présentent un comportement spatial isolé du reste des antibiotiques et prélèvements dans l'AFC. Ce résultat est contraire de celui trouvé par Yan et al. (2010) en Chine (Figure 11, Chapitre 4), qui ont remarqué que les deux gènes *bla_{DHA-1}* codant pour la résistance aux Céphalosporines (CZ) et *bla_{KPC-2}* codant pour la résistance aux Carbapénèmes (IPM) sont portés sur le même plasmide pKP048 et la distance entre les deux est éloignée. Cela peut indiquer que les déterminants génétiques de ces antibiotiques peuvent être proches, et loin des autres gènes codants pour le reste des antibiotiques étudiés (AMX, AMC, NA, CTX, AMP, SXT, AN, CS, FOS).

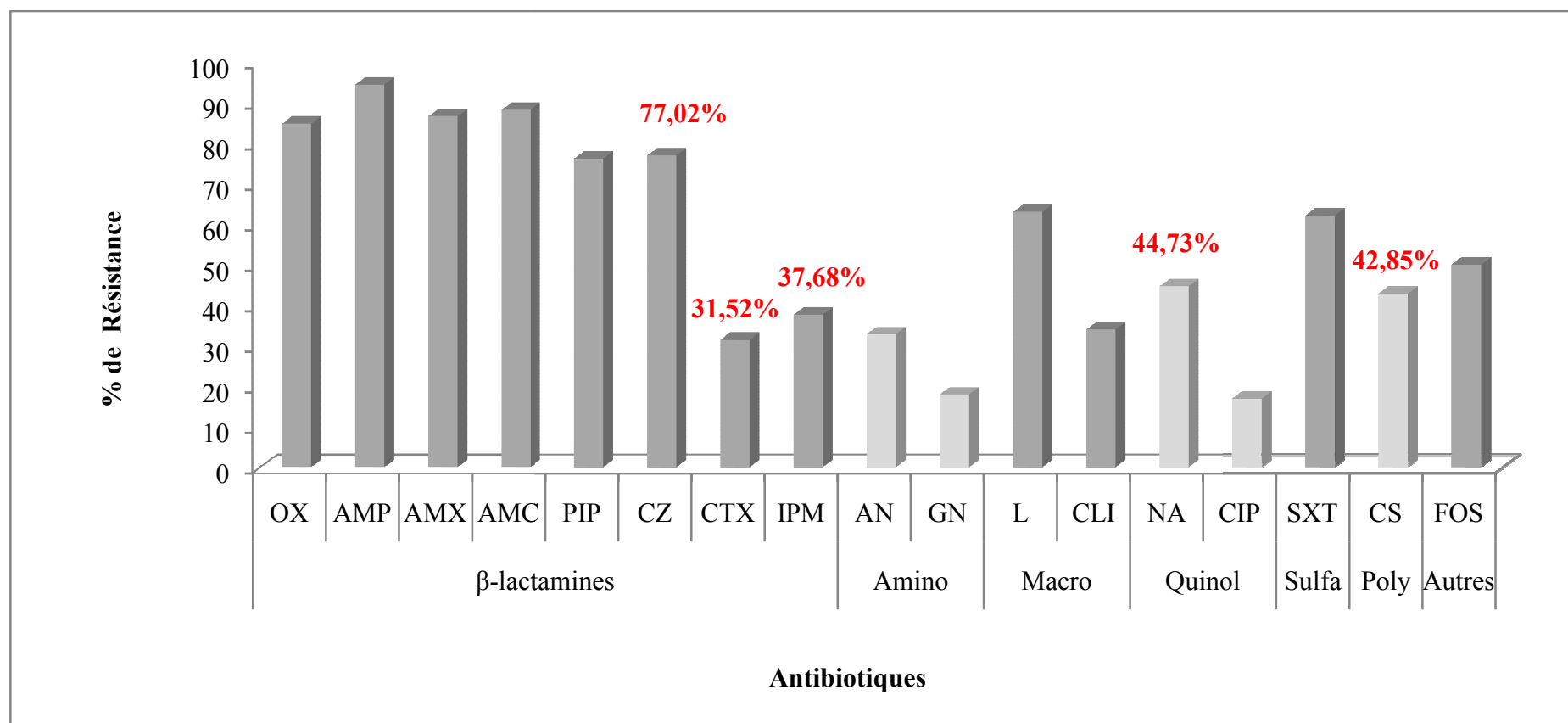


Figure 30 : Antibiorésistance de *Klebsiella* spp. isolées à l'hôpital de Mila de 2007 à 2013.

Amino : Aminosides, **Macro :** Macrolides, **Quinol :** Quinolones, **Sulfa :** Sulfamides, **Poly :** Polypeptides, **OX :** Oxacilline, **AMP :** Ampicilline, **AMX :** Amoxicilline, **AMC :** Amoxicilline/Acide Clavulanique, **PIP :** Pipéracilline, **CZ :** Céfazoline, **CTX :** Céfotaxime, **IPM :** Imipénème, **AN :** Amikacine, **GN :** Gentamycine, **L :** Lincomycine, **CLI :** Clindamycine, **NA :** Acide Nalidixique, **CIP :** Ciprofloxacine, **SXT :** Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, **CS :** Colistine, **FOS :** Fosfomycine.

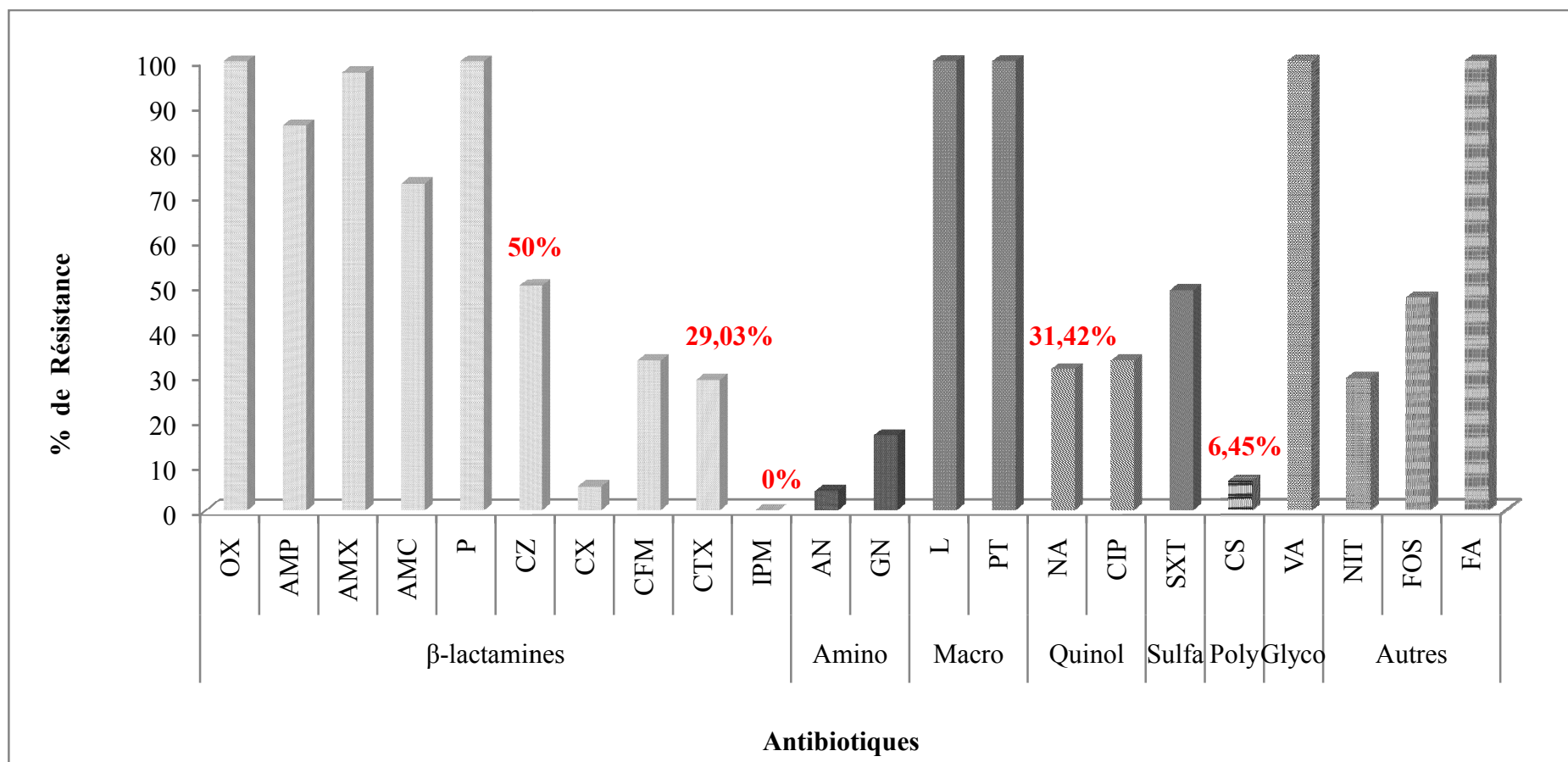


Figure 31 : Antibiorésistance de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila de 2015 à 2016.

Amino : Aminosides, **Macro :** Macrolides, **Quinol :** Quinolones, **Sulfa :** Sulfamides, **Poly :** Polypeptides, **Glyco :** Glycopeptides, **OX :** Oxacilline, **AMP :** Ampicilline, **AMX :** Amoxicilline, **AMC :** Amoxicilline/Acide Clavulanique, **P :** Pénicilline, **CZ :** Céfazoline, **CX :** Céfoxitine, **CFM :** Céfixime, **CTX :** Céfotaxime, **IMP :** Imipénème, **AN :** Amikacine, **GN :** Gentamycine, **L :** Lincomycine, **PT :** Pristinamycine, **NA :** Acide Nalidixique, **CIP :** Ciprofloxacine, **SXT :** Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, **CS :** Colistine, **VA :** Vancomycine, **NIT :** Nitroxoline, **FOS :** Fosfomycine, **FA :** Acide Fusidique.

Conclusion et Perspectives

Les microorganismes pathogènes causent des dégâts très profonds dans le corps humain, ainsi que pour les animaux et les végétaux. Les agents, qui ont la capacité de tuer les microbes ou d'arrêter la multiplication, sont appelés les agents antimicrobiens ou des médicaments, les plus communément utilisés sont les antibiotiques. *K. pneumoniae* est une bactérie pathogène à fort potentiel épidémique et la dissémination des souches résistantes aux antibiotiques est marquée par de grandes disparités géographiques, la fréquence de résistance a continuellement augmenté au cours des dernières décennies. Le développement de la résistance aux antibiotiques est un phénomène complexe, évolutif et inquiétant, pouvant entraîner de grandes difficultés de prise en charge pour les patients, avec des situations d'impasse thérapeutique, et menacer les avancées de la médecine moderne, afin de mieux combattre ce phénomène, il importe que chacun dispose de connaissances sur les mécanismes de la résistance bactérienne et sa prolifération.

Le présent travail a concerné 56 souches de *K. pneumoniae* isolées à partir de différents services hospitaliers, de différents prélèvements, et de patients de différents âge et sexes. Cette étude a permis de fournir des données épidémiologiques sur les souches de *K. pneumoniae* au niveau de l'hôpital de Mila, de Janvier 2015 à Février 2016. Afin de connaître l'état de la résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* et son évolution.

En termes d'évolution la résistance aux antibiotiques des souches de *K. pneumoniae*, la situation au niveau de l'hôpital de Mila, de 2007 à 2016 sont contrastées. Pour la résistance totale à l'Imipénème, une forte diminution a été remarquée de 37,68% (2007 à 2013) et de 28,57% (2014 à 2015) à 0% (2015 à 2016). Concernant la résistance au Céfotaxime, une faible diminution de la résistance a été remarquée de 35,71% (2014-2015) et de 31,52% (2007-2013) par rapport à 29,03% (2015-2016). Au sujet de la résistance aux Quinolones, une diminution de la résistance à l'Acide Nalidixique a été enregistrée de 50% (2014-2015) et 44,73% (2007-2013) à 31,42% (2015-2016). Pour la résistance à Colistine, une diminution distincte de la résistance a été notée, de 42,85% (2007-2013) et 21,42% (2014 à 2015) à 6,45% (2015-2016).

A l'ombre des résultats de recherche, on peut conclure que l'état de la résistance à l'Imipénème et à Colistine, à l'hôpital de Mila en Algérie se trouve dans une situation intermédiaire par rapport aux pays développés et sous développés. La différence dans certains cas est probablement due à la différence géographique des isolats bactériens, l'environnement, type de maladie, service hospitalier et déterminisme génétique de la

résistance aux antibiotiques. Par contre, la situation de la résistance à Céfotaxime de *K. pneumoniae* à l'hôpital de Mila en Algérie est proche aux autres pays du monde.

La présente étude révèle que les antibiotiques Imipénème, Amikacine, Céfoxitine et Colistine restent très efficace dans le traitement des infections dues aux *K. pneumoniae* au niveau de l'hôpital de Mila, vue leur sensibilité remarquable observés de 100%, 95,75%, 94,74% et 93,55% respectivement.

Dans l'AFC trois clusters principaux sont remarqués, regroupant les phénotypes de résistance aux antibiotiques et les natures des prélèvements. Le Cluster I situé dans la partie Nord-Est du graphique regroupe le profil de résistance à Amoxicilline (AMX), Amoxicilline/Acide Clavulanique (AMC) et l'Acide Nalidixique (NA) en association avec le Vagin. Le Cluster II situé dans la partie sud rassemble le profil de résistance à Ampicilline (AMP), Céfotaxime (CTX) et Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (SXT) en association avec le Pus. Le Cluster III situé dans le centre du graphique, regroupe le profil de résistance à Amikacine (AN), Colistine (CS) et Fosfomycine (FOS) en association avec l'Urine. Cependant, l'Imipénème (IPM) et Céfazoline (CZ) sont isolés du reste des antibiotiques et prélèvements, et sont situés dans la partie Nord Ouest du graphique.

L'association des phénotypes de résistance au prélèvement est expliquée par la résistance élevée de *K. pneumoniae* dans le prélèvement. Par contre, l'éloignement des phénotypes de résistance au prélèvement est expliqué par la faible résistance de *K. pneumoniae* dans celui-ci.

La présente AFC révèle que les deux antibiotiques Imipénème et Céfazoline restent très efficace dans le traitement des infections dues aux *K. pneumoniae* au niveau de l'hôpital de Mila, vue leur sensibilité remarquable observés de 98,37% et 50% respectivement. Ce comportement est constaté par l'éloignement de ces deux phénotypes par rapport aux autres Clusters.

Le modèle développé par analyse spatiale en utilisant l'AFC, a permis d'observer les distributions spatiales des phénotypes de résistance aux antibiotiques et des prélèvements. L'analyse des associations de prélèvements et des antibiotiques a permis d'élucider les profils de résistance typiques pour chaque nature de prélèvements.

Les résultats de ce travail ont une importance cruciale dans l'adaptation de l'antibiothérapie en fonction du profil de résistance et la nature du prélèvement, aboutissant à l'amélioration de l'efficacité du traitement, la réduction de la durée de séjour hospitalier du malade et le cout de la prise en charge. D'autre part, ils contribuent à la

prévention et la limitation de la dissémination de la résistance aux antibiotique et son évolution.

En conclusion nous recommandant de mettre on œuvre une stratégie, une réglementation et un contrôle rigoureux de la résistance aux antibiotiques en milieu hospitalier et externe, et d'adopter le modèle développé dans notre étude comme protocole pour la conduite des traitements d'antibiothérapie dans le cas des infections engendrées par *K. pneumoniae* à l'hôpital de Mila.

Références

- Abesaid D., Read I., Umphrey J et al. (1999) Infusion therapy team and dressing changes of central venous catheters. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 20: 101-105.
- Al-Jebouri M. M., Mdish S. A. (2013) Antibiotic resistance pattern of bacteria isolated from patients of urinary tract infections in Iraq. *Open Journal of Urology.* 3: 124-131.
- Anonyme 1. (2016) Centers for disease Controle and Prevention. *Klebsiella pneumoniae* in Healthcare Settings. Available. <http://www.cdc.gov/HAI/organisms/Klebsiella/Klebsiella.htm>.
- Anonyme 2. (2014) Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière. Ministère de l'agriculture et du développement rural. Réseau algérien de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). 7^{ème} édition. 179p. [http:// www.sane.dz/aarn](http://www.sane.dz/aarn).
- Arafa S. N. (2011) Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences. Université Mentouri de Canstantine (Algérie). 187p.
- Ayan M., Kuzucu C., Durmaz R., Aktas E., Cizmeci Z. (2003) Analysis of three outbreaks due to *Klebsiella* species in a neonatal intensive care. *Unit. J. Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 24: 495-500.
- Bagley S.T. (1985) Habitat association of *Klebsiella* species. *Infect. Control.* 6: 52-58.
- Belbel Z. (2014) Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse pour l'obtention du grade de Doctorat en Microbiologie. Université Badji Mokhtar Annaba (Algérie). 146p.

- Ben Haj Khalifa A., Khedher M. (2012) Epidémiologie des souches de *Klebsiella* spp. uropathogènes productrices de β -lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien, 2009. *Pathologie Biologie*. Elsevier Masson. 60: 1-5.
- Benmesmoudi L. N. (2015) Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse Pour l'obtention du Grade de Docteur en Sciences. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen (Algérie). 84p.
- Björg C. H. (2011) Aminoglycoside resistance in clinical Gram-negative isolates from Norway. University Hospital of North-Norway. 106p.
- Boubendir A. (2015) Résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* à l'hôpital de Mila en Algérie : Incidence, Epidémiologie et Analyse spatiale. Congrès International: Biotechnologie au Service de la Société. Faculté des Sciences et Techniques. Fès, Maroc. 22-24 Octobre 2015.
- Boutet-Dubois A., Pantel A., Sotto A., Lavigne J. P. (2012) Les entérobactéries productrices de carbapénémases. *Alin. as*. Lettre d'information du CCLIN Sud-Est (France). 2: 1-5.
- Brisse S., Duijkeren E. (2005) Identification and antimicrobial susceptibility of 100 *Klebsiella* animal clinical isolates. *Vet. Microbiol.* 105: 307-312.
- Cabral A. B., Rita de Cássia de Andrade Melo., Vieira Maciel M. A., Souza Lopes A. C. (2012) Multidrug resistance genes, including *bla_{KPC}* and *bla_{CTX-M-2}*, among *Klebsiella pneumoniae* isolated in Recife, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 45(5): 572-578.

-Caiqian L., Bangrong X., Xiaoyan Y., Yongmei F., Yaqun F., Yongbiao Z. (2015) Molecular epidemiology of aminoglycosides resistance on *Klebsiella pneumonia* in a hospital in China. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 8(1): 1381-1385.

-Camara M., Diop-ndiaye H., Ba-diallo A., Karam F., Mbow M., Faye A., Diop-diop M., Diagnesamb A., Toupane M., Mbengue A. S., Toure-kane N. C., Mboup S., Gaye-diallo A. (2013) Epidémiologie des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de β -lactamases a spectre élargi dans un hôpital universitaire au Sénégal. Laboratoire de bactériologie-virologie. Centre Hospitalier National Universitaire (CHNU) Aristide Le Dantec. 1(2): 33-37.

-Cambou E., Guillard T. (2012) Antibactériens agissant sur la synthèse et la conformation des acides nucléiques. *Rev. Scie. Tech. Off. Int. Epiz.* 31(1): 65-76.

-Capone A., Giannella M., Fortini D., Giordano A., Meledandri M., Ballardini M., Venditti M., Bordi E., Capozzi D., Balice M. P., Tarasi A., Parisi G., Lappa A., Carattoli A., Petrosillo N. (2012) High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. *Clin. Microbiol. Inf.* 19: 23-30.

-Carle S., Pharm B., Sc M. (2009) La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel.* 42: 06-21.

-CA-SFM (2015) Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. EUCAST EURONEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 116p.

-Castanheira M., Bell J. M., Turnidge J. D., Mathai D., Jones R. N. (2009) Carbapenem resistance among *Pseudomonas aeruginosa* strains from India: evidence for nationwide endemicity of multiple metallo-beta-lactamase clones (VIM-2, -5, -6 and -11 and the newly characterized VIM-18). *Antimicrob. Agent. Chemother.* 53(3): 1225-1227.

- Chen Y.T., Shu H.Y., Hui Li L., Lien Liao T., Ming Wu K., Ru Shiao Y., Jou Yan J., Ih-Jen Su., Feng Tsai S., Lauderdale T. L. (2006) Complete Nucleotide Sequence of pK245 98-Kilobase Plasmid Conferring Quinolone Resistance and Extended-Spectrum- β -Lactamase Activity in a Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolate. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 50(11): 3861-3861.
- Chen L., Chavda K. D., Fraimow H. S., Mediavilla J. R., Melano R. G., Jacobs M. R., Banomo R. A., Kreiswirth B. N. (2012) Complete nucleotide sequences of *bla*_{KPC-4} and *bla*_{KPC-5} harboring IncN and IncX plasmids from *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in New Jersey. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 57(1): 269-276.
- Cherkaoui A., Emonet S., Renzi G., Riat A., Greub G., Schrenzel J. (2014) Bêtalactamases à spectre étendu et carbapénémases chez les Enterobacteriaceae. *Rev. Med. Suisse.*10: 2142-2148.
- Claudia V., Francesca L., Maria P. B., Gianfranco D., Pietro E. V. (2014) Antibiotic resistance related to biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae*. *Pathogens.* 3: 743-758.
- Cryz SJ. JR., Furer F., Germanier R. (1984) Experimental *Klebsiella pneumoniae* burn wound sepsis: role of capsular polysaccharide. *Infect. Immun.* 43(1): 440-1.
- Delarras C. (2007) Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et Documentation. Paris (France). ISBN : 97827430. Lavoisier : 476p.
- Diallo K. K. (2010) Fréquence d'isolement des *Klebsiella* spp. au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel TOURE de (2002) à (2010) Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie. Université de Bamako. 96p.
- Djelouat S. (2009) Les entérobactéries : L'essentiel. [En ligne]. <http://knol.google.com/k/salim-djelouat/mes-knols/>. Consulté le 16 Mai 2011.

- Djelouat S. (2011) *Klebsiella, enterobacter, Hafnia et Serratia*. Knol. 8: 46p.
- Doublet B., Bousquet-Mélou A., Madec J. Y. (2012) Le concept « One Health » en antibiorésistance et les flux de gènes. *Innovations Agronomiques*. 24: 79-90.
- Drancourt M., Bollet C., Carta A., Rousselier P. (2001) Phylogenetic analyses of *Klebsiella* species delineate *Klebsiella* and *Raoultella* gen. nov. with description of *Raoultella ornithinolytica* comb. nov. *Raoultella terrigena* comb. nov. and *Raoultella planticola* comb. nov. *Int. J. Sys. Evol. Microbiol.* 51: 925-932.
- Edler L. (2001) Biometry the Role of the biostatistician. Introduction to clinical Drug Research. Vienna school of clinical Drug Research: 22-26.
- Eduardo C. C., Luciene A. R. M., Ana Lúcia da C. D. (2010) CTX-M–producing *Klebsiella* spp. in a Brazilian hospital: what has changed in 6 years?. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 68: 186-189.
- Ejikeugwu P. C., Ugwu C. M., Araka C. O., Gugu T. H., Iroha I. R., Adikwu M. U., Esimone C. O. (2012) Imipenem and meropenem resistance amongst ESBL producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *Int. Res. J. Microbiol.* 3: 339-344.
- El Bouamri M. C., Arsalane L., El Kamouni Y., Zouhair S. (2015) Antimicrobial susceptibility of urinary *Klebsiella pneumoniae* and the emergence of carbapenem-resistant strains: A retrospective study from a university hospital in Morocco, North Africa. *African Journal of Urology*. 21: 36-40.
- Elhani D., Bakir L., Aouni M. (2011) Changement de l'épidémiologie de *Klebsiella pneumoniae* productrice de β -lactamases à spectre élargi. *Ann. Biol. Clin.* 69(5): 523-529.

- Essayagh T., Karimou A., Elhamzaoui S. (2012) Carbapénémases chez *Klebsiella pneumoniae* . antibiogramme, E-test et test de Hodge. *Ann. Biol. Clin.* 70: 299-304.
- Farah A., Boutefnouchet N., Dekhil M., Bouzerna N. (2007) *Klebsiella pneumoniae* productrices de β -lactamases a spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville de Annaba, Algérie. *Scientific Study and Research*. 2: 199-214.
- Fauchere J. L., AVRIL J. L. (2002) Bactériologie générale et médicale. Ellipses édition marketing. 237-53p.
- Flaudrois J. P. (2004) Bactério. Gén. croissance bactérienne Cours de bactériologie médicale DCEM1 UFR médecine Lyon Sud-Laboratoire de biométrie, biologie évolutive UMR 5558. 1, 3, 10.
- Frasson I., Lavezzo E., Franchin E., Toppo S., Barzon L., Cavallaro A., Richter S. N. (2012) Antimicrobial Treatment and Containment Measures for an Extremely Drug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* ST101 Isolate Carrying pKPN101-IT, a Novel Fully Sequenced *bla_{KPC-2}* Plasmid. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 50(11): 3768-3772.
- Fred C. T., Rajinder K. K., Portia P. W., Roberta B.C., Sheila S., David L., Kamile J. R., James W. B., John E. M. J., Bruce H. (2006) Carbapenem Resistance in *Klebsiella pneumoniae* Not Detected by Automated Susceptibility Testing. *Emerging Infectious Diseases*. 12: 1209-1213.
- Galani I., Xirouchaki E., Kanellakopoulou K., Petrikkos G., Giamarellon H. (2002) Transerable plasmid mediating resistance to multiple antimicrobiol agents in *Klebsiella pneumoniae* isolates in Greece. *Clin. Microbiol. Infect.* 8: 579-588.
- Garnier F., Denis F. (2007) Bactériologie médical: Techniques usuelles: Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29: 251- 254p.

- Giani T., Pini B., Arena F., Conte V., Bracco S., Migliavacca R., the AMCLI-CRE Survey Participants, Pantosti A., Pagani L., Luzzaro F., Rossolini G. M. (2013) Epidemic diffusion of KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy: results of the first countrywide survey, 15 May to 30 June 2011. *Euro. Surveill.* 18: 1-9. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20489>.
- Grall N., Andremont A., Armand-Lefèvre L. (2011) Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ?. *J. Ant. Inf.* 16: 16p.
- Gueye O. (2007) Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a gram négatif. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat). Université Cheikh Anta Diop de Dakar (Mali). 97p.
- Guiraud J. P. (1998) Microbiologie alimentaire. 255. Ed Dunod.
- Habeb I., Al-Azawi S. (2014) Detection of Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) in *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Urinary Tract Infections. *AL-Qadisiya. Med. J.* 10(18): 168-173.
- Haverkorn M. L., Michel M. F. (1979) Nosocomial *Klebsiellas*. I, Colonization of hospitalized patients. *J. Hyg.* 82: 177-193.
- HCSP. (2010) Haut Conseil de la santé publique. Commission spécialisée Sécurité des patients : infections nosocomiales et autres évènements indésirables liés aux soins et aux pratiques. Maîtrise de la diffusion des bactéries commensales multirésistantes aux antibiotiques importées en France lors de la prise en charge de patients rapatriés ou ayant des antécédents d'hospitalisation à l'étranger. Ministère de la Santé et des Sports. France. 2^{ème} version. 38p.

- Huang T. W., Wang G. T., Lauderdale T. L., Liano T. L., Lai J. F., Tan M. C., Lin A. C., Chen Y. T., Tsai S. F., Chang S. C. (2013) Complete sequences of two plasmids in a *bla*_{NDM-1}-Positive *Klebsiella oxytoca* isolate from Taiwan. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 57(8): 4072-4076.
- Hudson C. M., Bent Z. W., Meagher R. J., Williams K. P. (2014) Resistance determinants and mobile genetic elements of an NDM-1 encoding *Klebsiella pneumoniae* Strain. *Plos One.* 9(6): 1-14.
- Hussain T., Jamal M., Nighat F., Andleeb S. (2014) 3rd Generation Cephalosporin Resistance in *Klebsiella pneumoniae* from Pus Samples. *World. J. Zool.* 9(4): 276-280.
- Jain A., Mondal R. (2008) TEM & SHV genes in extended spectrum β -lactamase producing *Klebsiella* species & their antimicrobial resistance pattern. *Indian. J. Med. Res.* 128: 759-764.
- Jarlier V., Carbonne A., Astagneau P., Coignard B. (2004) Cas groupés d'infections à *Klebsiella pneumoniae* résistante à toutes les bêta-lactamines y compris à l'Imipénème en région parisienne. Note d'information technique InVS/RAISIN aux responsables des CCLIN et coordinateurs des réseaux BMR. *Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN)*. (France). Version 2. 84p.
- Joly B., Reynaud A. (2002) Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic. 79-80-83p.
- Jonas D., Spitzmüller B., Daschner F. D., Verhoef J., Brisse S. (2004) Discrimination of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* phylogenetic groups and other *Klebsiella* species by use of amplified fragment length polymorphism. *J. Res. Microbiol.* 155: 17-23.
- Kabbaj H., Seffar M., azouk S., Handour N., Amor M., Razin R., Belefquih B., Alaoui A. E. (2012) Tigecycline in vitro activity against extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteriaceae in a moroccan hospitale. *J. biol. Méd.* 1(3): 200-203.

- Khezari H. (2013) Classification of Cephalosporin Antibiotics. <http://www.medimom.com>.
- Kaoutar B., July C., l'Herite au F., Barbut F., Robert J., Denis M et al. (2004) Nosocomial infections and hospital mortality: a multicenter epidemiology study. *J. Hosp. infect.* 58: 268-75.
- Kassis-Chikhani N. (2012) *Klebsiella pneumoniae* pathogène nosocomial résistance et virulence. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en Microbiologie. Université Pierre et Marie Curie. Ecole doctorale : Complexité du vivant (515): Paris VI. 190p.
- Kirn T. J., Weinstein M. P. (2013) Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin. Microbiol. Inf.* 19: 513-520.
- Kouta K. (2009) Infections urinaires chez les diabétiques adultes. En vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures en Biologie. Université Kasdi-Merbah-Ouargla (Algérie). 78p.
- Kumar A., Chakraborti S., Joshi P., Chakrabarti P., Chakraborty R. (2011) A multiple antibiotic and serum resistant oligotrophic strain, *Klebsiella pneumoniae* MB45 having novel dfrA30, is sensitive to ZnO QDs. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 10: 19.
- Kumar A. R. (2013) Antimicrobial sensitivity pattern of *Klebsiella pneumoniae* isolated from pus from tertiary care hospital and issues related to the rational selection of antimicrobials. *J. Chem. Pharm. Res.* 5(11): 326-331.
- Kumar R., Dahiya S. S., Hemwani K., Srivastava P. (2014) Isolation of human pathogenic bacteria causing urinary tract infection and their antimicrobial susceptibility pattern in a tertiary care hospital, Jaipur, India. *Int. Res. J. Med. Scie.* 2(6): 6-10.

- Labid A. (2015) étude fréquentielle des bactéries responsables des infections septicémiques chez les enfants dans la région d'ANNABA. Thèse Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Microbiologie. Université Badji Mokhtar-Annaba (Algérie). 157p.
- Lascols C., Podglajen I., Verdet C., Gautier V., Gutmann L., Soussy C. J., Colletz E., Cambau E. (2008) A plasmid-borne *Shewanella algae* gene, *qnrA3*, and its possible transfer in vivo between *Kluyvera ascorbata* and *Klebsiella pneumoniae*. University Paris 12. *J. bacteriol.* 190(15): 5217-5223.
- Lavigne J. P. (2007) Effet des antibiotiques et mécanismes de résistance. Cours de bactériologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes. 3p.
- Le Minor L., Véron M. (1989) Bactériologie médicale, 2ème édition, Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 2: 428-432.
- Lobril J. R. (1998) Réévaluation du modèle de croissance de Monod : effets des antibiotiques sur l'énergie de maintenance. Thèse Université de Lyon I, France. 42-77.
- Lozniewski A., Rabaud C., Nancy. (2010) Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins. CCLIN Sud-Est. 4p.
- Ma L., Lin C. J., Chen J. H., Fung C. P., Chang F. Y., Lai Y. K., Lin J. C., Siu L. K., the Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistant Project. (2009) Widespread dissemination of Aminoglycoside resistance genes *armA* and *rmtB* in *Klebsiella pneumoniae* isolates in Taiwan producing CTX-M-Type extended-spectrum β -Lactamases. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 53(1): 104-111.
- Mammeri H. (2009) Mode d'action des antibiotiques. MCU-PH, service de bactériologie, CHU Amiens. 36p.

- Medić D., Gusman V., Mihajlović-Ukropina M., Jelesić Z., Milosavljević B. (2012) Bloodstream infections in children caused by extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Arch. Biol. Scie.* 64(4) : 1339-1347.
- Meradi L., Djahoudi A., Abdi A., Bouchakour M., Perrier Gros Claude J. D., Timinouni M. (2011) Résistance aux quinolones de types qnr, *aac (6')-Ib-cr* chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie. *Pathologie Biologie.* 59: 73-78.
- Miriagou V., Papagiannitsis C., Kotsakis S., Loli A., Tzelpi E., Legakis N., Tzouveleki L. (2010) Sequence of pNL194, a 79.3-kilobase IncN plasmid carrying the *bla_{VIM-1}* Metallo-β-Lactamase gene in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 54(10): 4497-4502.
- Mohamudha Parveen R., Harish B. N., Parija S. C. (2010) Emerging carbapenem resistance among nosocomial isolates of *klebsiella pneumoniae* in south india. *Int. J. Pharm. Biol. Scien.* 11p.
- Muylaert A., Mainil J. G. (2012) Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur «contagiosité». Service de bactériologie, département des maladies infectieuses et parasitaires, faculté de médecine vétérinaire, université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège. *Ann. Méd. Vét.* 156: 109-123.
- Muylaert A., Mainil J. G. (2013) Résistances aux fluoroquinolones: la situation actuelle. *Ann. Méd. Vét.* 157: 15-26.
- Naas T., Cuzon G., Villegas M. V., Lartigue M. F., Quinn J. P., Nordmann P. (2008) Genetic structures at the origin of acquisition of the beta-lactamase *bla_{KPC}* gene. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 52: 1257-63.

- Neuner E. A., Yeh J. Y., Hall G. S., Sekeres J., Endimiani A., Bonomo R. A., Van Duin D. (2011) Treatment and outcomes in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 69: 357-362.
- Nicklin J., Graeme-Cooke K., Paget T., Killington R. (2000) L'essentiel en Microbiologie. Ed Berti. 130-133.
- Olaitan A. O., Diene S. M., Kempf M., Berrazeg M., Bakour S., Gupta S. K., et al. (2014) Worldwide emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from healthy humans and patients in Lao PDR, Thailand, Israel, Nigeria and France owing to inactivation of the PhoP/PhoQ regulator mgrB: an epidemiological and molecular study. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 44: 500-7.
- Ortega M., Marco F., Soriano A., Almela M., Martínez J. A., López J., Pitart C., Mensa J. (2011) Cefotaxime resistance and outcome of *Klebsiella* spp. bloodstream infection. *Eur. J. Clin. Microbiol. Inf. Diseases*. 30: 1599-1605.
- Pagano L., Caira M., Treçarichi E. M., Spanu T., Di Blasi R., Sica S., Sanguinetti M., Tumbarello M. (2014) Carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* and Hematologic Malignancies. 20(7): 1235-1236.
- Parisi S. G., Bartolini A., Santacatterina E., Castellani E., Ghirardo R., Berto A., Franchin E., Menegotto N., De Canale E., Tommasini T., Rinaldi R., Basso M., Stefani S., Palù G. (2015) Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* strains producing carbapenemases and increase of resistance to colistin in an Italian teaching hospital from January 2012 To December 2014. *BMC Infectious Diseases*. 15: 244.
- Patricia A. B., Carl U., Noriel M., Steven J. P., James J. R., Karen B. (1997) Imipenem Resistance in *Klebsiella pneumoniae* Is Associated with the Combination of ACT-1, a Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamase, and the Loss of an Outer Membrane Protein. *Antimicrob. Agents. Chemother*. 41: 563-569.

- Pérez-Moreno M. O., Centelles-Serrano M. J., Cortell-Ortolà M., Fort-Galifa I., Ruiz J., Llovet-Lomberte M. I., Picó-Plana E., Jardí-Baiges A. M. (2011) Molecular epidemiology and resistance mechanisms involved in reduced susceptibility to Amoxicillin/clavulanic acid in *Klebsiella pneumoniae* isolates from a chronic care centre. *Int. J. Antimicrob. Agent. Spain.* 37: 462-466.
- Pina P., Pangon B., Rio Y., Chardon H., Lallali A. K., Allouch P. Y. (2000) Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques en Unités de soins intensifs. *J. Path. Biol.* 48: 485-489.
- Podschi R., Ullmann U. (1998) *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin. Microbiol. Rev.* 11(4): 589-603.
- Pool K. (2004) Resistance to β -lactam antibiotics. *Cellular and Molecular Life Science.* 61: 2200-2223.
- Poudyal A., Howden B. P., Bell J. M., Gao W., Owen R. J., Turnidge J. D., Nation R. L., Li J. (2008) In vitro pharmacodynamics of colistin against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 62: 1311-1318.
- Quevauvilliers J., Somogyi A., Fingerhut A. (2011) Dictionnaire médicale avec atlas anatomique. 6^{ème} édition. 1561p.
- RAISIN. (2009) RAISIN-a national program early warning investigation and surveillance of healthcare associated infection in France. Descenlos JC.RAISIN working group. *eurosurveil* 2009 ; 14(46): 19408 .
- RAISIN. (2015) Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales. CCLIN Est Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'Est. Protocole de surveillance des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques. 14p.

- Reinert P. (2010) Développement et santé. 199: 56p.
- Rodriguez-Martinez J. M., Poirel L., Pascual A., Nordmann P. (2006) Plasmid-mediated Quinolone resistance in Australia. *Microbial Drug Resistance*. 12(2): 99-102.
- Romanus I. I., Egwu O. A. (2011) Analysis of antibiotic susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* isolated from different clinical specimen in enugu state. *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences*. 5(3): 1609-1614.
- Shahid M., Malik A., Akram M., Agrawal L. M., Khan A. U., Agrawal M. (2008) Prevalent phenotypes and antibiotic resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at an Indian tertiary care hospital: plasmid-mediated cefoxitin resistance. *Int. J. Infec. Diseases*. 12: 256-264. <http://intl.elsevierhealth.com/journals/ijid>.
- Shraddha P. G., Prasad N. G., Nagaraju V., Kher S. (2014) Carbapenem resistance profile amongst *escherichia coli* and *klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital in Ahmednagar, Maharashtra. *Int. J. Med. Res. Health. Scie*. 3: 424-427.
- Sarathbabu R., Ramani T. V., Bhaskara rao K., Panda S. (2012) Profil de sensibilité aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* isolée à partir d'échantillons de crachats, d'urine et de pus. *IOSR. J. pharm. Scie. Biol. (IOSRJPBS)*. 1(2): 4-9.
- Sarno R., Gillivary G. M., Sherratt D., Actis L. A., Tolmasky M. E. (2002) Complete nucleotide sequence of *Klebsiella pneumoniae* multiresistance plasmid pJHCMW1. *Antimicrob. Agent. chemother*. 46(11): 3422-3427.
- Sebghati T. A., Korhonen T. K., Hornick D. B., Clegg S. (1998) Characterization of the type 3 fimbrial adhesins of *Klebsiella* strains. *Infect. Immun*. 66: 2887-94.

- Senouci Bereksi M et Abdelouahid D. E. (2010) Méthodes et Techniques en Bactériologie. Office des Publication Universtaire (Ben-Aknoun ; Alger) : 2010. 131p.
- Shamim M., Mumtaz A., Irum A., Naeem A., Masood ul H., Abdul H. (2008) Aerobic vaginal pathogens and their sensitivity pattern. *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad.* 20(1): 113-117.
- Spicer J. W. (2000) Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie: Flammarion. 42-3p.
- Struve C., Bojer M., Krogfelt K. A. (2008) Characterization of *Klebsiella pneumoniae* type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on virulence. *Infect. Immun.* 76: 4055-65.
- Sylvain B., Francine G., Grimont P. A. (2006) The Genus *Klebsiella*. *Prokaryotes.* 6: 159-196.
- Tlamçani Z., Ellaia K., Benomar A., Kabbaj H., Alaoui A. E., Seffar M. (2009) La résistance aux fluoroquinolones chez des souches de *Klebsiella* spp. productrices de bêtalactamase à spectre étendu isolées dans les urines. *Ann. Biol. Clin.* 67: 553-556.
- Toroglu S., Keskin D. (2011) Antimicrobial resistance and sensitivity among isolates of *Klebsiella pneumoniae* from hospital patients in Turkey. *Int. J. Agric. Biol.* 13: 941-946.
- Vatopoulos A. (2008) High rates of metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece-a review of the current evidence. *Euro surveillance.* 13(4): 1-3.

- Villa L., Poirel L., Nordmann P., Carta C., Carattoli A. (2012) Complete sequencing of an IncH plasmid carrying the *bla*_{NDM-1}, *bla*_{CTX-M-15} and *qnrB1* genes. *J. Antimicrob. Chemother.* 67: 1645-1650.
- Yang J., Dongliang ., Ping S., Zhihui Z., Yunsong. (2010) Complete Nucleotide sequence of *Klebsiella pneumonia* multidrug resistance plasmid pKP048, Carrying *bla*_{KPC-2}, *bla*_{DHA-1}, *qnrB4*, and *armA*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 54(9): 3967-3969.
- Walsh C. (2003) Antibiotics: actions, origins, resistance. American society for microbiology, Washing, D. C. ton.
- Wang G., Huang T., Surendraiah P. K. M., Wang K., Komal R., Zhuge J., Chern C. R., Kryszuk A. A., King C., Wormser G. P. (2013) CTX-M β -Lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Suburban New York, New York, USA. 19(11): 1803-1810.
- Zeyauallah., Kaul V. (2015) Prevalence of urinary tract infection and antibiotic resistance pattern in saudi arabia population. *Global. J. Biol. Agric. Health. Scie.* 4(1): 206-214.

Annexe 1 : Formule des milieux de culture

Hektoen (Senouci Bereksi et Abdelouahid, 2010).	Composition
Protéose-peptone.....	12g
Extrait de levure.....	3g
Chlorure de sodium.....	5g
Thiosulfate de sodium.....	5g
Sels biliaries.....	9g
Salicine.....	2g
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5g
Lactose.....	12g
Saccharose.....	12g
Fuschine Acide.....	0,1g
Bleu de bromothymol.....	0,065g
Agar.....	14g
Eau distillée.....	1000 ml

pH 7,5

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

Mueller-Hinton (Senouci Bereksi et Abdelouahid, 2010).	Composition
Infusion de viande de bœuf	300,0
Hydrolysate de caséine.....	17,5g

Amidon..... 1,5g

Agar..... 17,0g

pH finale 7,4 (environ)

(Stérilisation à 121°C pendant 15 min).

Bouillon Nutritif (Senouci Bereksi et Abdelouahid, 2010).

Composition

Macération de viande (eau distillée + extrait de viande)..... 1L

Peptone trypsique..... 15g

NaCl ou KCl..... 5g

pH..... 7,2-7,4

(Stérilisation à 115°C pendant 20 min)

Gélose Nutritive : bouillon nutritif solidifié par l'addition d'agar-agar (Senouci Bereksi et Abdelouahid, 2010).

Composition

Macération de viande (eau distillée + extrait de viande)..... 1L

Peptone trypsique..... 15g

NaCl ou KCl..... 5g

Agar..... 15 à 20g

pH final 7,2-7,4

(Stérilisation à 115°C pendant 20 min)

Mannitol-Mobilité (Senouci Bereksi et Abdelouahid, 2010).**Composition**

Peptone de viande.....	20g
Agar.....	4g
Mannitol.....	2g
KNO ₃	1g
Rouge de phénol à 1%.....	4ml

pH finale 7,6 -7,8

(Stériliser à 110°C pendant 30 min).

Citrate de Simmons (Senouci Bereksi et Abdelouahid, 2010).**Composition**

Sulfate de magnésium.....	0,2g
Phosphate mono-ammoniaque.....	1g
Phosphate bipotassique.....	1g
Citrate de sodium.....	2g
Chlorure de Sodium.....	5g
Bleu de bromothymol.....	0,08g
Agar.....	15g

pH finale 6,8

(Stériliser à 120 °C pendant 15 min)

TSI (Senouci Bereksi et Abdelouahid, 2010).

Composition

Extrait de viande de bœuf.....	3g
Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	20g
Chlorure de sodium.....	5g
Citrate ferrique.....	0,3g
Thiosulfate de sodium.....	0,3g
Lactose.....	10g
Saccharose.....	10g
Glucose.....	1g
Rouge de phénol.....	0,05*L
Agar.....	12g

pH final 7,4

*Ou 5ml de solution à 1%.

(Stériliser à 120°C pendant 15 min).

Urée-Indole (Senouci Bereksi et Abdelouahid, 2010).

Composition

L-tryptophan.....	0,3g
KH ₂ PO ₄	0,1g
K ₂ HPO ₄	0,1g

NaCl.....	0,5g
Urée.....	2g
Alcool à 95°.....	1 ml
Rouge de phénol à 1%	0,25 ml
Eau distillée.....	100 ml

pH final 6,7

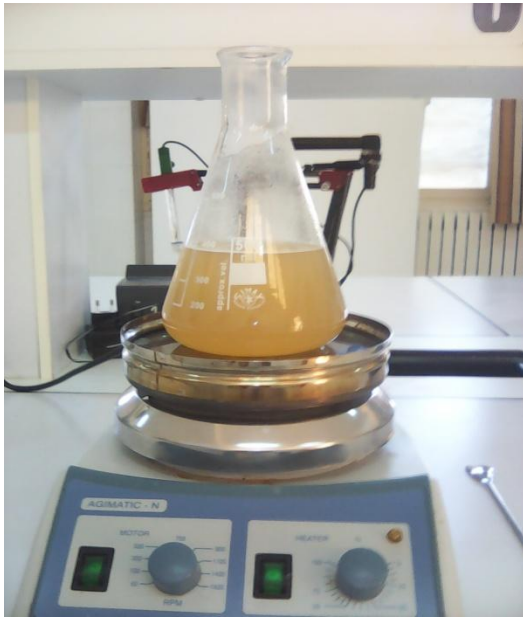
(Stériliser Par filtration)

Annexe 2 : Préparations des milieux de culture

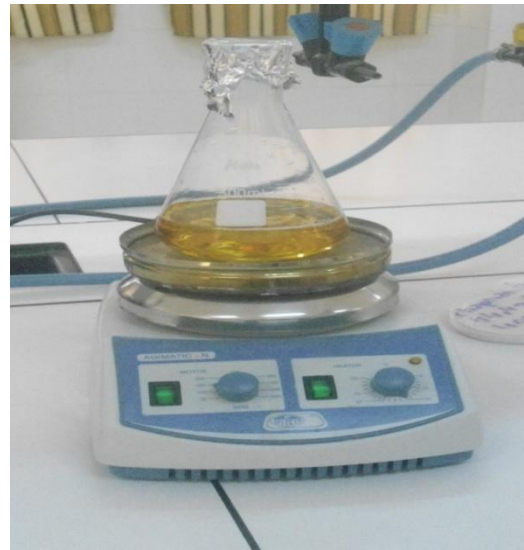
Hektoen



Mueller-Hinton



Bouillon Nutritif



Annexe 3

WILAYA DE MILAETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIERFRERES MEGHLAOUI-MILALABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE

N°...../

NOM :...../PRENOM :...../AGE :...../

DOMICILE :...../SERVICE :...../CODE PATIENT :...../

NATURE DE PRELEVEMENT :...../

EXAMEN CYTO-BACTERIOLOGIQUE

LEUCOCYTES :...../HEMATIES :...../BACTERIE :...../

AUTERS :...../GERME ISOLE :...../

ANTIBIOGRAMME

ANTIBIOTIQUE	ABREV	S	I	R	ANTIBIOTIQUE	ABREV			
PENICILLINE	P				GENTAMYCINE	GM			
AMPICILLNE	AM				TETRACYCLINE	TE			
AMOXICILLINE	AMX				MINOCYCLINE	MNO			
AUGMENTIN	AMC				LINCOMYCINE	L			
TICARCILLINE	TIC				COLISTINE	CS			
PIPERACILLINE	PIP				TRIMEETOPRIME	IMP			
OXACILLINE	OX				TRIM+SULFAMIDE	SXT			
IMIPENEME	IPM				FURANES	FT			
CEFALOXINE	CN				ACIDE NALIDIXIQUE	NA			
CEFAZOLINE	CZ				ACIDE FUSIDIQUE	FOS			
CEFOTAXIME	CTX				NITROXOLINE	NI			
CEFTAZIDIME	CAZ				FOSFOMYCINE	FOS			
CEFSULODINE	CFS				VANCOMYCINE	VA			
TOBRAMYCINE	TM				PRISTINAMYCINE	PT			
AMIKACINE	AN				CHLORAMFHENICOL	C			

S :Sensible

I :Intermédiaire

R :Résistance

MILA LE :...../

LE RESPONSABLE DU SERVICE DE BACTERIOLOGIE

Annexe 4 : Antibiorésistance totale de 82 souches (26 : 2014/2015 et 56 : 2015/2016) de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila, selon la nature de prélèvement.

Familles	Antibiotiques	% de Résistance			Total
		PU	PV	PP	
β-lactamines	OX	2* (2)** 100***	1 (1) 100	1 (1) 100	4 (4) 100
	AMP	8 (9) 88,88	0 (0) 0	1 (1) 100	9 (10) 90
	AMX	39 (39) 100	1 (1) 100	3 (4) 75	43 (44) 97,72
	AMC	29 (37) 78,37	2 (2) 100	5 (6) 83,33	36 (45) 80
	CZ	16 (29) 55,17	0 (1) 0	0 (2) 0	16 (32) 50
	CX	0 (17) 0	0 (1) 0	1 (1) 100	1 (19) 5,26
	CFM	1 (3) 33,33	0 (0) 0	0 (0) 0	1 (3) 33,33
	CTX	11 (37) 29,72	0 (3) 0	1 (2) 50	12 (42) 28,57
	IPM	1 (52) 1,92	0 (3) 0	0 (6) 0	1 (61) 1,63
	P	1 (1) 100	0 (0) 0	0 (0) 0	1 (1) 100
Aminosides	AN	2 (47) 4,25	0 (3) 0	2 (6) 33,33	4 (56) 7,14
	GN	2 (15) 13,33	0 (0) 0	0 (2) 0	2 (17) 11,76
Macrolides	L	2 (2) 100	0 (0) 0	0 (0) 0	2 (2) 100
	PT	2 (2) 100	0 (0) 0	0 (0) 0	2 (2) 100
Quinolones	NA	14 (40) 35	1 (2) 50	2 (3) 66,66	17 (45) 37,77
	CIP	3 (12) 25	0 (0) 0	1 (4) 25	4 (16) 25
Sulfamides	SXT	28 (52) 53,84	1 (3) 33,33	4 (5) 80	33 (60) 55
Polypeptides	CS	2 (33) 6,06	0 (2) 0	1 (4) 25	3 (39) 7,69
Glycopeptides	VA	2 (2) 100	1 (1) 100	1 (1) 100	4 (3) 100
Autres	NIT	5 (16) 31,25	0 (0) 0	0 (1) 0	5 (17) 29,41
	FOS	17 (35) 48,57	0 (1) 0	1 (3) 33,33	18 (39) 46,15
	FA	2 (2) 100	0 (0) 0	1 (1) 100	3 (3) 100
	RIF	0 (0) 0	0 (1) 0	1 (1) 100	1 (2) 50

PU : Prélèvement Urinaire, PV : Prélèvement Vaginal, PP : Prélèvement de Pus, OX : Oxacilline, AMP : Ampicilline, AMX : Amoxicilline, AMC : Amoxicilline/Acide Clavulanique, CZ : Céfazoline, CX : Céfoxitine, CFM : Céfixime, CTX : Céfotaxime, IMP : Imipénème, P : Pénicilline, AN : Amikacine, GN : Gentamycine, L : Lincomycine, PT : Pristinamycine, NA : Acide Nalidixique, CIP : Ciprofloxacine, SXT : Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, CS : Colistine, VA : Vancomycine, NIT : Nitroxoline, FOS : Fosfomycine, FA : Acide Fusidique, RIF : Rifampicine.

*Nombre de souches résistantes, **Nombre de test d'antibiogramme, ***Pourcentage de résistance.

Annexe 4 : Antibiorésistance totale de 82 souches (26 : 2014/2015 et 56 : 2015/2016) de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila, selon la nature de prélèvement.

Familles	Antibiotiques	% de Résistance			Total
		PU	PV	PP	
β-lactamines	OX	2* (2)** 100***	1 (1) 100	1 (1) 100	4 (4) 100
	AMP	8 (9) 88,88	0 (0) 0	1 (1) 100	9 (10) 90
	AMX	39 (39) 100	1 (1) 100	3 (4) 75	43 (44) 97,72
	AMC	29 (37) 78,37	2 (2) 100	5 (6) 83,33	36 (45) 80
	CZ	16 (29) 55,17	0 (1) 0	0 (2) 0	16 (32) 50
	CX	0 (17) 0	0 (1) 0	1 (1) 100	1 (19) 5,26
	CFM	1 (3) 33,33	0 (0) 0	0 (0) 0	1 (3) 33,33
	CTX	11 (37) 29,72	0 (3) 0	1 (2) 50	12 (42) 28,57
	IPM	1 (52) 1,92	0 (3) 0	0 (6) 0	1 (61) 1,63
	P	1 (1) 100	0 (0) 0	0 (0) 0	1 (1) 100
Aminosides	AN	2 (47) 4,25	0 (3) 0	2 (6) 33,33	4 (56) 7,14
	GN	2 (15) 13,33	0 (0) 0	0 (2) 0	2 (17) 11,76
Macrolides	L	2 (2) 100	0 (0) 0	0 (0) 0	2 (2) 100
	PT	2 (2) 100	0 (0) 0	0 (0) 0	2 (2) 100
Quinolones	NA	14 (40) 35	1 (2) 50	2 (3) 66,66	17 (45) 37,77
	CIP	3 (12) 25	0 (0) 0	1 (4) 25	4 (16) 25
Sulfamides	SXT	28 (52) 53,84	1 (3) 33,33	4 (5) 80	33 (60) 55
Polypeptides	CS	2 (33) 6,06	0 (2) 0	1 (4) 25	3 (39) 7,69
Glycopeptides	VA	2 (2) 100	1 (1) 100	1 (1) 100	4 (3) 100
Autres	NIT	5 (16) 31,25	0 (0) 0	0 (1) 0	5 (17) 29,41
	FOS	17 (35) 48,57	0 (1) 0	1 (3) 33,33	18 (39) 46,15
	FA	2 (2) 100	0 (0) 0	1 (1) 100	3 (3) 100
	RIF	0 (0) 0	0 (1) 0	1 (1) 100	1 (2) 50

PU : Prélèvement Urinaire, PV : Prélèvement Vaginal, PP : Prélèvement de Pus, OX : Oxacilline, AMP : Ampicilline, AMX : Amoxicilline, AMC : Amoxicilline/Acide Clavulanique, CZ : Céfazoline, CX : Céfoxitine, CFM : Céfixime, CTX : Céfotaxime, IMP : Imipénème, P : Pénicilline, AN : Amikacine, GN : Gentamycine, L : Lincomycine, PT : Pristinamycine, NA : Acide Nalidixique, CIP : Ciprofloxacine, SXT : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, CS : Colistine, VA : Vancomycine, NIT : Nitroxoline, FOS : Fosfomycine, FA : Acide Fusidique, RIF : Rifampicine.

*Nombre de souches résistantes, **Nombre de test d'antibiogramme, ***Pourcentage de résistance.

Annexe 5 : Antibiorésistance de 26 souches de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila en 2014.

Date	Sexe	Age	NP	AMP	AMC	CZ	CS	NA	AN	SXT	CTX	FOS	CIP	IPM	GN	VA	AMX	OX	FA	P	FOX	RIF
22/01/14	F	44A	PU						S		S		S	S		R		R				
26/01/14	F	37A	PU		R			S		S	S											
26/01/14	H	33A	PU		R			R		R	S						R					
04/02/14	F	4M	PP		R		S		S		R		R		S			R	R			
08/02/14	F	03A	PU		R			S			S				S							
16/02/14	H	56A	PU	R	R			S			S				S							
24/03/14	F	24A	PU		R				S	R	S		S		S							
25/03/14	F	20A	PV	R			S		S	S	S			S		R		R				S
30/03/14	F	05A	PU		R		S	R	S	R	S		R	S								
15/04/14	F	57A	PV	R	R		S	R	S	R	R			S								
03/06/14	H	67A	PU					R		R	R		S		S							
06/07/14	F	24A	PU				R	R		R			S	R								
31/08/14	H	05A	PV	R							S											R
18/09/14	/	/	Mur		R		S					R		S						R		
18/09/14	/	/	Maltas				R		S	R	S	S		R								S
18/09/14	/	/	Drap		S		S					S		R	S	R						
18/09/14	/	/	Matlas				R		S	R	R	S	S									
18/09/14	/	/	Drap									R		R	S	R						
17/11/14	H	24A	PU				S															
23/11/14	F	24A	PP		R		S		R	R		S	S	S								
23/11/14	F	05A	LP		R		S		S			S	S							R		
23/11/14	H	43A	PP		R		S	R	S	R			S	S			R					R
26/11/14	F	Ind	PU																			
26/11/14	F	34A	PP		R				R	R		S	S	S			R					
03/12/14	F	60A	PU		R		S	S				R	S	S			R					
29/12/14	F	Ind	PP																			

F : Femme, **H** : Homme, **A** : Année, **M** : Mois, **S** : Sensible, **I** : Intermédiaire, **R** : Résistant, **NP** : Nature de Prélèvement, **SV** : Service, **Ind** : Indéterminé, **PP** : Prélèvement de Pus, **PU** : Prélèvement Urinaire, **PV** : Prélèvement Vaginal, **LP** : Liquide Pleural.

Annexe 6 : Antibiorésistance de 56 souches de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital de Mila en 2015-2016.

Date	Sexe	Age	NP	AMP	AMC	CZ	CS	NA	AN	SXT	CTX	FOS	CIP	IPM	GN	AMX	NIT	CX	FA	OX	PT	VA	P	L	CFM
11/01/15	H	/	PU					S	S	R		S	S	S		R		S							
11/01/15	F	/	PU					S	S	S		R		S		R	S	S							
11/01/15	H	/	PU					S	S	S		S		S		R		S							
13/01/15	F	/	PU					S	S	S		S	S	S		R		S							
14/01/15	F	26A	PP																						
18/01/15	H	/	PU					R	S	R		S	R	S		R	R	S							
20/01/15	F	28A	PU					S	S	S		S		S		R	S	S							
08/02/15	F	5A	PU				S		S			S	S	S		R									
08/02/15	H	76A	PU				S			S		S		S		R									
24/02/15	F	37A	PU						S					S		R			R	R	R	R	R	R	R

Annexe 7

Fiche de Renseignement

Résistance aux Antibiotique de *Klebsiella* spp.

Médecines :().....

Date:/...../2015

Laboratoire :().....

❖ L'âge du malade :.....

❖ Le sexe :.....

❖ La date de l'hospitalisation :.../.../..... , Externe :.....

❖ Le Service :.....

❖ La nature de prélèvement :

Urée() ; Sang() ; Vagin() ; Pus() ; Externe() ; Inconnu().

❖ L'Etat de santé de malade :.....

❖ Antécédent de maladie ou infection :.....

❖ La date de prélèvement(analyse) :.....

❖ Identification :.....

❖ Résultat de l'antibiogramme :

.....

.....

.....

❖ Autre information :

.....

.....

Résumé

Dans la présente étude réalisée à l'hôpital de Mila de 2015 à 2016, 56 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées et testées vis-à-vis de la résistance aux antibiotiques. Les résultats ont montré que *K. pneumoniae* était résistante à des taux très élevés aux β -lactamines dépassant les 72,72%, excepté pour Céfazoline (50%) et Céfotaxime (29,03%). Par contre, l'Imipénème, Céfoxitine et Colistine restent très efficace dans le traitement des infections dues aux *K. pneumoniae* avec des taux de résistance faibles observés de 0%, 5,26% et 6,45% respectivement. Dans l'AFC trois clusters principaux sont remarqués, regroupant les phénotypes de résistance aux antibiotiques et les natures des prélèvements.

Mots clés : *K. pneumoniae*, résistance aux antibiotiques, nature des prélèvements, Mila, AFC.

Abstract

In the present study realized at Mila hospital, 56 strains of *K. pneumoniae* were isolated during the years 2015-2016 and their resistance to antibiotics were tested. The results showed that *K. pneumoniae* was resistant at high levels to β -lactam antibiotics exceeding 72,72%, except for Cefazolin (50%) and Cefotaxim (29,03%). However, Imipenem, Cefoxitin and Colistin were very effective against *K. pneumoniae* with low levels of resistance observed, 0%, 5,26% and 6,45% respectively. FCA showed three main clusters gathering antibiotic resistance phenotypes with nature of samples.

Keywords : *K. pneumoniae*, antibiotic resistance, nature of samples, FCA, Mila.

الملخص

في هذه الدراسة التي أجريت في مستشفى ميلة تم عزل 56 سلالة من الكلبسيلا الرئوية خلال العام 2015-2016، واختبار مقاومتها للمضادات الحيوية. أظهرت النتائج أن الكلبسيلا الرئوية كانت مقاومة بنسب عالية جدا للمضادات الحيوية من عائلة β -lactamines تفوق 72,72% باستثناء Céfazoline (50%) و Céfotaxime (29,03%). بالمقابل المضادات الحيوية Imipénème, Céfoxitine و Colistine تبقى جد فعالة في علاج الالتهابات التي تسببها الكلبسيلا الرئوية مع نسب منخفضة من المقاومة التي لوحظت 0%، 5,26% و 6,45% على التوالي. في AFC توجد ثلاث مجموعات رئيسية ملاحظة، تجمع الظواهر المقاومة للمضادات الحيوية وأنواع العينات.

الكلمات المفتاحية : الكلبسيلا الرئوية، المقاومة للمضادات الحيوية، أنواع العينات، ميلة، AFC.