

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant
Filière : Sciences biologiques Spécialité: Microbiologie et Hygiène
Hospitalière

Par : BOUBERTAKH Sara
BOUAKER Sara

le : 24- 07 - 2019

Thème

**Etude du profil bactériologique et de la sensibilité de
Klebsiella pneumoniae uropathogène isolé de
l'hôpital militaire de Constantine(HMRUC)**

Jury d'évaluation :

Président de jury : Pr. KHLIFA FOUJIL (Responsable de Laboratoire d'hygiène Daksi-Constantine).

Rapporteur : Dr. BATAICHE.I (MCB. Université de Constantine 1).

Maître de stage : Dr. MEZIANI AHMED AMINE (Maitre-assistant-HMRUC).

Examineur : Dr. OUIBRAHIM .A (MCB. Université de Constantine 1).

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2018-2019

Remerciement

Au terme de ce travail du mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements du fond du cœur à « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la force pour survivre, qui nous a honorés par ce savoir, en nous portant aide pour achever ce modeste travail.

Nous tenons à remercier infiniment notre encadreur Mme Bataïche Insaf, vous nous avez guidés tout au long de notre travail en nous apportant vos précieux et pertinents conseils.

Nous vous remercions pour votre gentillesse, votre modestie et votre soutien lors de la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier notre directeur de stage le médecin responsable du laboratoire de Microbiologie Dr Meziani. A. De nous avoir accueilli au sein de l'hôpital universitaire militaire Constantine service de microbiologie et d'avoir accepté de diriger ce travail ; sa rigoureuse scientifique, sa disponibilité et ces qualités humaines nous ont profondément touché

A Dr. Dr. OUIBRAHIM Maître de conférences B, enseignante au département de Biologie Appliquée. Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons aussi à remercier profondément les membres du jury, D Professeur. KHLIFA FOUDIL qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

On remercie Mr KACEM CHAOUCHE N chef du département de Biologie Appliquée qui nous a acceptés parmi ses étudiants en master.

Enfin nous remercierons toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Sara & Sara

Dédicaces

C'est grâce à « Allah », à Lui Seul la louange, que nous avons pu finir ce travail ; et je tiens fermement à signaler que cette aventure nous a permis d'apprendre énormément de connaissances.

A mes professeurs et encadreurs qui m'ont aidé pendant mes années d'études

A maman,

Pour ton amour, tes prières et pour tous les sacrifices inconditionnels que tu as faits pour moi, Je n'en serais pas là sans ton soutien constant, ta bonne humeur permanente.

Je t'aime maman.

A mon père

Sans toi, je n'en serai sûrement pas là, j'espère que tu seras toujours fière de moi, Pour tous tes sacrifices.

A mes très chers frères,

ALI et sa femme « Mebarqa » et ses enfants : CHouaib et Lila.

Abde al-karim et sa femme « Hayat » et ses petits-enfants : Abde al-rahman et Mounib.

Youcef et sa femme « Naouel » et son petite-enfant Abde al-raouf

A ma très chère sœur :

Meriem et son Marie : Adel et ses petits-enfants : Mohamad Kossai et Amani narimene.

Hadjer et Khadidja.

A Mes amis,

A Imene, Amira, Sara mes amis fidèles, Pour tous les bons moments qu'on a passés ensemble. La liste est restée longue mais merci à tous.

A tous mes cousins et cousines, mes oncles.

A mon binôme : Bouaker Sara.

A toute la famille Boubertakhe & Atmane.

Sara

Dédicaces

Je tien a dédié modeste travail à tous ceux qui m'ont encouragé durant toutes mes études.

A mon très cher père : «Hamoudi» Je te dis merci papa pour tout ce que tu as fait pour moi et mes frères, C'est avec beaucoup d'affection et de respect que je t'écris ces quelques mots, tout en sachant que jamais je ne pourrais te remercier pour tout ce que tu as sacrifié pour moi.

Que Dieu vous garde pour nous et fasse mériter de votre bénédiction.

A ma très chère mère : «Souad» 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.

A ma chère sœur : conseillère et amie fidèle, qui m'a prise doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles... À toi Nesrine.

A mes chers frères : mon grand frère Chaqib, AbdAzziz et mon petit frère AbdRarouf.

A tous mes tantes et oncles, mes cousins et cousines.

Je dédie ce travail aussi à mes chères amies : «Asma», «Nour», «Sara», «Ilham», A tous mes collègues de Master MHH Surtout Makongè Flora.

A mon binôme : Boubertakfi Sara.

Dédicace spéciale : À l'homme qui a su guider mes pas égarés vers un horizon plus joyeux

A toi mon cher mari Amine.

Sara

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

| | |
|---|---|
| 1. Introduction..... | 1 |
| 2. Revue bibliographique | |
| 2.1. Généralités sur <i>Klebsiella pneumoniae</i> | |
| 2.1.1. Dénomination..... | 2 |
| 2.1.2. Présentation du genre..... | 2 |
| 2.1.3. Classification..... | 2 |
| 2.1.4. Caractère bactériologiques..... | 3 |
| 2.1.4.1. Caractères morphologiques..... | 3 |
| 2.1.4.2. Caractères cultureux..... | 3 |
| 2.1.4.3. Caractères biochimiques..... | 4 |
| 2.1.4.4. Caractères antigéniques..... | 4 |
| 2.1.5. Habitat..... | 5 |
| 2.1.6. Transmission..... | 5 |
| 2.1.7. Pouvoir pathogène..... | 5 |
| 2.1.7.1. Facteurs de pathogénités..... | 6 |
| 2.1.7.2. La capsule..... | 7 |
| 2.1.7.3. Facteurs d'adhésion..... | 7 |
| 2.1.8. Réservoirs..... | 8 |
| 2.2. Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques | |
| 2.2.1. Les antibiotiques..... | 8 |
| 2.2.1.1. Généralité sur les antibiotiques..... | 8 |
| 2.2.1.2. Définition..... | 9 |
| 2.2.1.3. Critères de classifications..... | 9 |

| | | |
|----------|--|----|
| 2.2.1.4. | Mode d'action..... | 9 |
| 2.2.2. | Notion de la résistance bactérienne..... | 10 |
| 2.2.3. | Types de résistance aux antibiotiques..... | 10 |
| 2.2.3.1. | Résistance naturelle..... | 10 |
| 2.2.3.2. | Résistance acquise..... | 11 |
| 2.2.4. | Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux β -lactamines..... | 11 |
| 2.2.4.1. | Mécanismes de résistance..... | 11 |
| 2.2.5. | Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux aminosides..... | 12 |
| 2.2.6. | Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux quinolones..... | 12 |
| 2.2.6.1. | Résistance par la modification de la cible..... | 13 |
| 2.2.6.2. | Résistance par défaut d'accumulation..... | 13 |
| 3. | MATERIEL ET METHODES | |
| 3.1. | Objectifs et lieu de l'étude..... | 15 |
| 3.2. | Nature de l'étude..... | 15 |
| 3.3. | Echantillonnage..... | 15 |
| 3.4. | Identification bactérienne..... | 16 |
| 3.4.1. | Examen macroscopique (urine)..... | 16 |
| 3.4.2. | Examen microscopique..... | 16 |
| 3.4.2.1. | Examen cytologique..... | 16 |
| 3.4.2.2. | Examen bactériologique..... | 17 |
| 3.4.3. | Identification biochimique..... | 19 |
| 3.4.3.1. | Identification par la Galerie biochimique miniaturisée (RapID ONE)..... | 19 |
| - | Les tests biochimiques de la galerie RapID ONE..... | 21 |
| - | Test à l'oxydase..... | 22 |
| - | Test de catalase..... | 22 |
| 3.5. | Détermination de la résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques par méthode | |

| | |
|--|-----------|
| d'antibiogramme..... | 23 |
| 3.5.1. Antibiogramme..... | 23 |
| 3.5. Analyse statistique..... | 25 |
| 4. RESULTATS ET DISCUSSIONS | |
| 4.1. Identification bactérienne..... | 26 |
| 4.1.1. Aspect macroscopique (urine)..... | 26 |
| 4.1.2. Examen microscopique..... | 26 |
| 4.1.2.1. Examen à l'état frais..... | 26 |
| 4.1.3. Mise en culture de la souche..... | 27 |
| 4.1.4. Examen après coloration de Gram..... | 28 |
| 4.1.5. Coloration au bleu de méthylène..... | 29 |
| 4.1.6. Identification biochimique de la souche..... | 30 |
| 4.1.6.1. Identification par la Galerie biochimique miniaturisée (RapiDONE)..... | 31 |
| 4.1.6.2. Tests complémentaires..... | 32 |
| - Test catalase..... | 33 |
| - Test oxydase..... | 33 |
| 4.2. La résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques..... | 33 |
| 4.2.1. Phénotypes de résistance..... | 34 |
| 4.2.1.1. Phénotype sauvage..... | 35 |
| 4.2.1.2. Phénotype « BLSE »..... | 38 |
| 4.3. Analyses statistiques..... | 39 |
| 4.3.1. Distribution des souches <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon l'origine de prélèvement... | 39 |
| 4.3.2. Distribution des souches <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon le sexe..... | 40 |
| 4.3.3. Fréquence d'isolement de <i>Klebsiella pneumoniae</i> par rapport aux autres germe.. | 41 |
| 4.3.4. Répartition de <i>K. pneumoniae</i> en fonction de services..... | 43 |
| 5. Conclusion..... | 45 |

6. Références bibliographiques

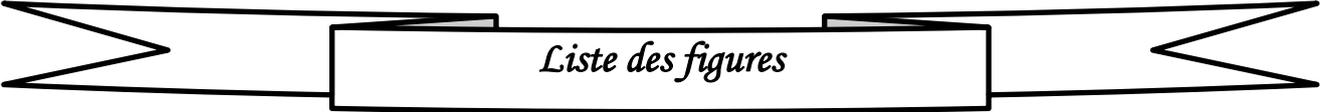
46

Résumés

Annexes

Liste des abréviations

| | |
|--------------|--|
| Kp | : <i>Klebsiella pneumoniae</i> . |
| IN | : Infection nosocomiale. |
| IU | : Infection urinaire. |
| KES | : Klebsiella, Enterobacter, Serratia. |
| AC | : Acide Clavulanique. |
| ATB | : Antibiotique. |
| BLSE | : Bêta-Lactamase a Spectre Etendue. |
| KPC | : <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de Carabapénèmase |
| C1G | : Céphalosporine de la 1 ^{ère} génération. |
| C2G | : Céphalosporine de la 2 ^{ème} génération. |
| C3G | : Céphalosporine de la 3 ^{ème} génération. |
| CMI | : Concentration Minimal Inhibitrice. |
| ECBU | : Examen Cytobactériologique des Urines. |
| GN | : Gélose Nutritive. |
| HK | :Hektoen. |
| ADN | : Acide Désoxyribonucléique. |
| MH | : Muller Hinton. |
| CLSI | : Clinical & Laboratory Standards Institute. |
| AMP | : Ampicilline. |
| AMX | : Amoxicilline. |
| AMC | : Amoxicilline–Acide Clavulanique. |
| TIC | : Ticarcilline. |
| PRL | : Pipéracilline. |
| CZ | : Céfazoline. |
| CTX | :Céfotaxime. |
| CRO | :Céftriaxone. |
| IMP | : Imipenème. |
| AK | : Amikacine. |
| GN | : Gentamicine. |
| NA | : Acide Nalidixique. |
| CIP | : Ciprofloxacine. |
| OFX | : Ofloxacine. |
| CT | : Colistine. |
| SXT | : Triméthoprime-Sulfaméthoxazole. |
| R | : Résistante. |
| S | : Sensible. |
| % | : pourcentage. |
| Sp. | : Espèce. |
| SubSp | : Sous espèce. |



Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: Observation microscopique des bacilles de Friedländer..... | 3 |
| Figure 2: Aspect des colonies de <i>Klebsiellapneumoniae</i> sur milieu Mac Conkey | 4 |
| Figure 3: Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de <i>K.pneumoniae</i> | 6 |
| Figure 4: Différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007)..... | 9 |
| Figure 5: Mécanisme d'action des Quinolones (https://slideplayer.fr , s.d.) | 13 |
| Figure 6: Galerie RapID ONE..... | 20 |
| Figure 7: La première étape de la galerie biochimique RapID ONE | 20 |
| Figure 8: La deuxième étape de la galerie biochimique RapID ONE | 21 |
| Figure 9: La troisième étape de la galerie biochimique RapID ONE..... | 21 |
| Figure 10: test oxydase ((microbeonline.com/oxidase-test-principle-procedure-and-oxidase-positive-organisms , s.d.) | 22 |
| Figure 11: test catalase..... | 23 |
| Figure 12: Observation microscopique des bacilles a l'état frais au « G x 40 » | 27 |
| Figure 13: Aspect macroscopique des colonies sur gélose nutritive | 27 |
| Figure 14: Aspect macroscopique des colonies sur milieu Hektoen..... | 28 |
| Figure 15: Observation microscopique après coloration de Gram au « G x 100 ». | 29 |
| Figure 16: Observation microscopique après coloration de bleu de méthyle (G×100)..... | 29 |
| Figure 17: Résultat de galerie RapIDONE de <i>K.pneumoniae</i> | 30 |
| Figure 18: Rèsultat de test catalase | 33 |
| Figure 19: Rèsultat de test oxydase | 34 |
| Figure 20: Rèpartition des phenotypes de resistance de <i>Klebseilla pneumoniae</i> | 35 |
| Figure 21: Résultat d'antibiogramme (Phénotype sauvage)..... | 36 |

| | |
|---|----|
| Figure 22: Profil de résistance de <i>Klebsiellapneumoniae</i> sauvage n=18 | 38 |
| Figure 23: Résultat d'antibiogramme (phénotype BLSE)..... | 38 |
| Figure 24: Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae BLSE</i> | 39 |
| Figure 25: Repartition des souches <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon l'origine de prélevemnt..... | 40 |
| Figure 26 : Distribution globale des patients atteints d'infection à <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon le sexe. | 41 |
| Figure 27: Répartition globales des germes isolés durant la période | 42 |
| Figure 28: Répartition de <i>Klebsiella pneumoniae</i> en fonction des services | 44 |



Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1: Principaux caractères biochimiques de <i>K. pneumoniae</i> | 4 |
| Tableau 2: Caracteres biochimiques de <i>K.pneumoniae</i> | 30 |
| Tableau 3: Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumonie</i> aux antibiotiques : n=18..... | 35 |
| Tableau 4: Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumonie</i> sauvage..... | 37 |
| Tableau 5: Profil de résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (BLSE)..... | 39 |
| Tableau 6: Répartition selon l'origine de prélèvement | 40 |
| Tableau 7 : Répartition globale des populations selon le sexe | 41 |
| Tableau 8: Répartition globale des germes isolés des prélèvements urinaires..... | 42 |
| Tableau 9: Répartition de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolée en fonction des services | 43 |

Introduction

1. Introduction

L'infection urinaire (IU) est l'une des infections bactériennes les plus fréquentes (Abalikumwe,2004). Depuis des années, les infections urinaires sont devenues un vrai problème de santé publique. Ces infections viennent en deuxième position après les infections respiratoires (Abalikumwe,2004). Elles se rencontrent chez l'enfant, l'adulte et le vieillard, dans les deux sexes. Elles occupent une place importante parmi les motifs de consultation (Kodio,1988).

Les IU sont habituellement causées par les bactéries qui proviennent de la flore intestinale ou de la flore périnéale (Letonturier, 2006). La souche *Klebsiella pneumoniae* est responsable d'un pourcentage important des infections des voies urinaires. Elle est classée comme deuxième espèce bactérienne impliquée dans ce type d'infection et spécialement dans celles non compliquées du tractus urinaire.

L'examen cytot bactériologique des urines (ECBU) est l'examen clé pour le diagnostic positif de l'IU. Il impose sur des conditions rigoureuses de prélèvement, de conservation et de réalisation. Ce test repose sur l'isolement et l'identification des microorganismes responsables et la détermination de la sensibilité ou la résistance de ces germes aux antibiotiques (Abalikumwe,2004).

Le traitement est actuellement basé sur l'utilisation des antibiotiques. Cependant, l'augmentation des taux de résistance aux antibiotiques associée à une récurrence croissante des IU nécessite le développement de stratégies de traitement nouvelles et efficaces pour lutter contre leur prévalence.

C'est dans ce contexte que nous avons choisi ce sujet pour étudier la sensibilité de ce germe uro-pathogène (*Klebsiella pneumoniae*) vis-à-vis quelque antibiotique. Ce travail est réalisé au sein du laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine. Les objectifs de cette recherche visent :

- L'isolement et identification de *Klebsiella pneumoniae* retrouvé dans des prélèvements urinaires reçus au niveau du laboratoire de bactériologie.
- La détermination de leurs profils de sensibilité et de résistance aux antibiotiques par antibiogramme.

*Revue
bibliographique*

2.1. Généralités sur *Klebsiella pneumoniae*

2.1.1. Dénomination

Le genre *Klebsiella* a été nommé par Trevisan en 1887 pour honorer Klebs Edwin, un microbiologiste Allemand du 19ème siècle. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*, connue autre fois sous le nom de pneumobacille de Friedlander. Ce dernier avait décrit cette bactérie dans les poumons d'un patient décédé d'une pneumonie (Freney,2000).

2.1.2. Présentation du genre

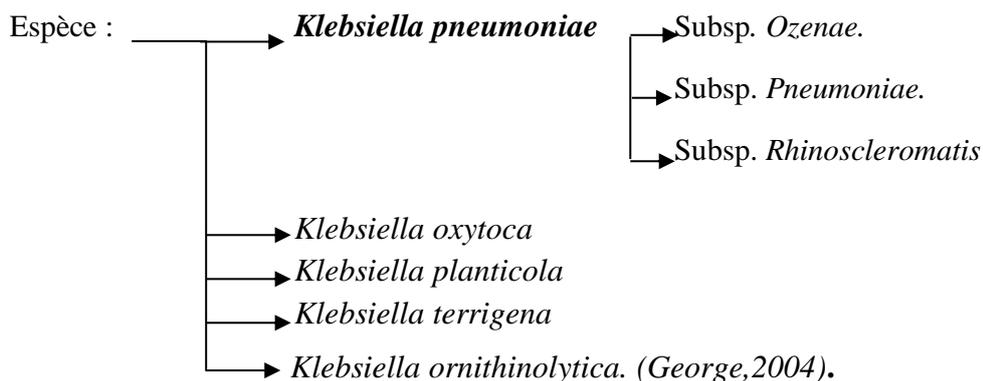
Les espèces du genre *Klebsiella* sont des bactéries en forme de bâtonnet et font partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Elles se distinguent par leur immobilité constante, et leur groupement en diplobacilles. Elles sont souvent encapsulées et forment des colonies mucoïdes (Janda, 2006).

Ce genre comporte 5 espèces différenciées par des caractères biochimiques, l'espèce type est *Klebsiella pneumoniae* parce qu'elle est la plus fréquemment retrouvée en clinique humaine (Brisse,2006). Cette bactérie possède toutes les caractéristiques des *Enterobacteriaceae*.

C'est une bactérie commensale de l'homme et des animaux. Elle est responsable d'infections communautaires (urinaires et respiratoires) et d'infections opportunistes chez les malades hospitalisés (Avril,2000).

2.1.3. Classification

Règne : Bacteria
 Embranchement : Proteobacteria
 Classe : Gamma Proteobacteria
 Ordre : Enterobacteriales
 Famille : *Enterobacteriaceae*
 Genre : *Klebsiella*



2.1.4. Caractères bactériologiques

2.1.4.1. Caractères morphologiques

Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, diplobacilles généralement capsulées, non sporulées, anaérobies facultatifs (**Figure1**) (El Fertas-Aissani,2012).

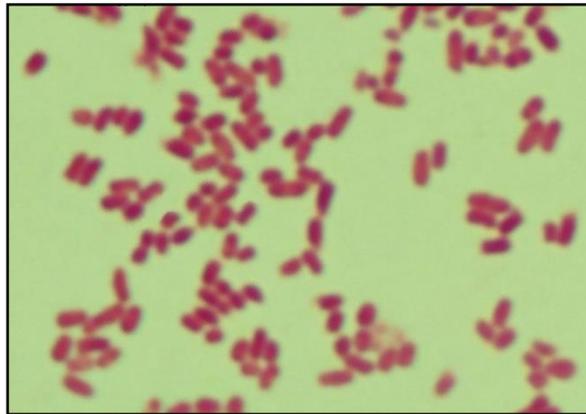


Figure 1: Observation microscopique des bacilles de Friedländer.

2.1.4.2. Caractères cultureux

K. pneumoniae se développe en aéro-anaérobiose. Sur les milieux classiques d'isolement pour entérobactérie (Hektoen, Mac Conkey,) après une incubation de 18 à 24 h à 30 ou à 37 °C (**Figure2**), les colonies sont d'un diamètre de 3 à 4 mm, ronde, lisses, lactose positives, bombées, brillantes, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine (Minon,1989 ., Freney ,2000).

En milieu liquide (bouillon nutritif, eau peptonée), la culture est rapide (quelques heures) à 30° et 37° C pour *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* avec parfois dépôt muqueux et collerette visqueuse en surface. A 10° C, seules se développent *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella planticola* et 60 % des souches de *Klebsiella oxytoca*. 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 (Minon,1989).

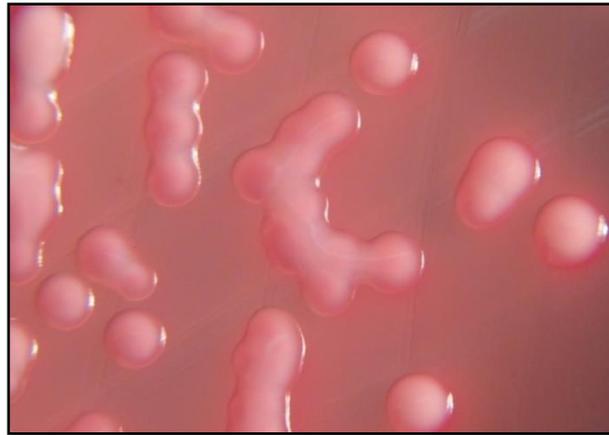


Figure 2:Aspect des colonies de *Klebsiella pneumoniae* sur milieu Mac Conkey.

2.1.4.3. Caractères biochimiques

Les klebsiella sont des bactéries immobiles, non sporulées, aéro-anaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive, ODC négative, ADH négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives, bêta-glucuronidase négative, ne produisant pas d'hydrogène sulfuré et fermentant de nombreux sucres dont l'inositol. Réaction de Voges-Proskauer positive (VP+) et uréase + (Jarlier,2000).

Klebsiella pneumoniae peut être définie comme une Entérobactérie immobile, VP +, RM -, uréase +, ONPG +, β -xylosidase +, H₂S -, indole -, désaminase oxydative -, LDC +, ODC -, lipase, DNase et gélatinase -, KCN +, fermentant de nombreux substrats glucidiques avec production de gaz, utilisant le citrate de Simmons et le malonate (**Tableau1**).

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

| Glucose | Indole | ONPG | Gaz | Mobilité | VP | RM | TDA | H ₂ S | ODC | ADH | LDC | citrate |
|---------|--------|------|-----|----------|----|----|-----|------------------|-----|-----|-----|---------|
| + | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | + | + |

2.1.4.4. Caractères antigéniques

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

- Antigènes « O » somatiques : la recherche des antigènes « O » présente peu d'intérêt pratique, en raison de la difficulté de leur détermination (caractère thermostable).

Antigènes « K » capsulaires : au moins 77 antigènes K ont été décrites chez *K. pneumoniae*, K1 à K72, K74, K79 à K82. Les souches les plus souvent pathogènes pour l'homme et les animaux appartiennent aux types capsulaires 1 et 2, plus rarement 3 et 4.

Antigène d'adhérence : appelé fimbriae, de nature protéique, porté par des pili communs (Minon,1989 ; Freney ,2000).

2.1.5. Habitat

Klebsiella pneumoniae est une espèce pathogène opportuniste (Brisse,2006). Elle est répandue dans la nature on peut l'isoler de l'eau, de végétaux, sol et d'aliments divers. Cette espèce est rencontrée dans la flore fécale de 30 à 40% des animaux et de l'homme (bactérie ubiquitaire présente dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des hommes et des animaux en tant que bactérie commensale), elle végète sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires supérieures. Fréquente dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale (Avril,2000).

2.1.6. Transmission

K. pneumoniae est responsable d'infections spontanées dans 25% des cas, mais surtout d'infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter (Arafa, 2009).

La transmission de ces bactéries d'un patient à un autre se fait facilement par les mains du personnel soignant ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical (cathéter, masque à oxygène...) (Raud,2003), ou moins souvent par la contamination de l'environnement.

La transmission de *K. pneumoniae* est très facile et rapide mais ne se propage pas dans l'air. Elle est pathogène chez l'immunodéprimé, souvent traité par les antibiotiques, chez lequel elle est parfois inoculée lors de manœuvres dans un but diagnostique ou thérapeutique.

2.1.7. Pouvoir pathogène

Klebsiella pneumoniae est le chef de file du groupe des entérobactéries pathogènes opportunistes très incriminé dans les infections nosocomiales, il est responsable d'infections diverses : infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires, hépatiques intra-abdominales, bactériémies, septicémies, Infections de sites opératoires (Sekhri,2011).

Il est responsable d'environ 10% des infections nosocomiales (Chung,1992), l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les IU soit de 6 à 17% d'infection (Ben Haj Khelifa,2012).

K. pneumoniae fait partie du groupe KES qui est d'une grande importance en clinique hospitalière (Podschun, 1998).

K. pneumoniae subsp. Pneumoniae est surtout actuellement un agent d'infection nosocomiale, responsable des infections urinaires sur sonde, de bactériémies de pneumonies, d'infections de sites opératoires et d'infections néonatales (Carpenter, 1990).

K. pneumoniae subsp. Ozaenae est responsable d'une rhinite chronique atrophique décrite sous le nom d'ozène. Cette infection se manifeste par une ulcération chronique de la muqueuse nasale pouvant aboutir à une perforation du cartilage nasal, accompagnée de décharges nasales purulentes (Podschun, 1998).

K. pneumoniae subsp. Rhinoscleromatis est responsable du rhinosclérome, infection granulomateuse chronique des voies aériennes supérieures, dont quelques cas ont été rapportés chez des patients infectés par le VIH. (Strampfer, 1987).

K. pneumoniae occupe une place importante dans la pathologie infectieuse du nouveau-né. En effet, les infections nosocomiales à *K. pneumoniae* dans les services de néonatalogie sont fréquentes, notamment dans les unités de soins intensifs et chez les prématurés (Bennet, 1985).

2.1.7.1. Facteurs de pathogénicité de *K. pneumoniae*

Les termes facteurs de pathogénicité et facteurs de virulence sont souvent utilisés comme synonymes. Mais certains auteurs font une distinction claire entre les deux : le terme pathogénicité définit la capacité de la bactérie à causer une maladie alors que la virulence est la mesure où le degré de pathogénicité (Chung, 1992).

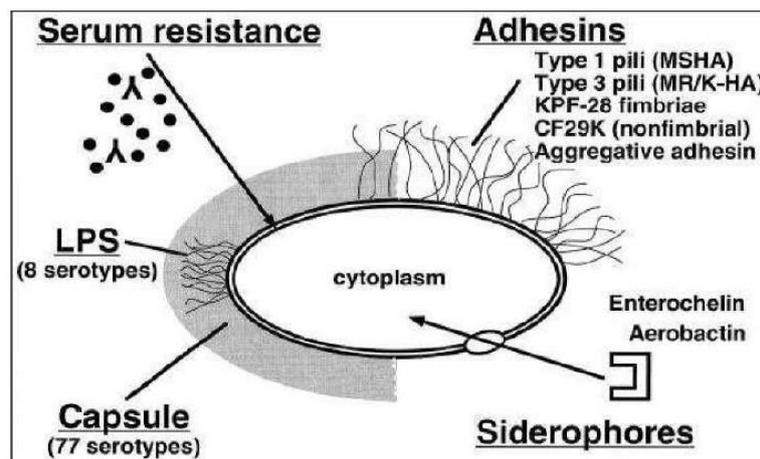


Figure 3: Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de *K.pneumoniae* (Podschun, 1998)

- **Antigènes de surface**

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

- **Le lipopolysaccharide**

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

2.1.7.2. La capsule

La capsule a été le premier facteur de virulence décrit (Hsieh,2012). Elle confère à *Klebsiella pneumoniae* un fort pouvoir invasif en protégeant les bactéries de la phagocytose et du pouvoir bactéricide du sérum (Lai,2000 ; Held,2000 ; ofek,2001). C'est une véritable enveloppe de nature polysaccharidique présentant un antigène K (Hennequin,2007). In vitro, la présence d'une capsule diminue l'attachement aux cellules intestinales HCT-8 et aux cellules vésicales T-24. Toutefois, in vivo la capsule n'inhibe pas la colonisation de l'intestin et elle semble être un facteur de virulence important dans les infections urinaires. Divers modèles expérimentaux montrent qu'il existe une relation entre la taille de la capsule et l'intensité du pouvoir pathogène. Parmi les 77 sérotypes capsulaires K1, K2, K4 et K5 sont les plus pathogènes (Lai,2000., Fung,2000).

2.1.7.3.Facteurs d'adhésines

Différentes adhésines ont été mises en évidence chez *K. pneumoniae*. Ces molécules jouent un rôle essentiel dans la première étape du processus infectieux. Les propriétés d'adhésion des entérobactéries sont généralement médiées par différents types de pili ou fimbriae. Ce sont des structures protéiques non flagellaires et filamenteuses formant des appendices à la surface des bactéries qui ont la capacité d'agglutiner les érythrocytes. Ils sont formés de différentes sous-unités.

Les deux types de fimbriae les plus rencontrés chez *K. pneumoniae* ont le type 1 et le type 3.

- Les fimbriae de type 1 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 (Struve, 2008).

- Les propriétés des fimbriae de type 3 sont moins bien connues. Ils sont impliqués dans l'adhésion de *K. pneumoniae* à différents types cellulaires, par exemple aux épithéliums urinaire et respiratoire. Leur rôle comme facteur de virulence reste hypothétique dans plusieurs modèles d'infections (urinaire, pulmonaire). Néanmoins, du fait que ces structures semblent faciliter l'adhésion à des supports inertes et avoir un rôle dans la formation de biofilm, elles pourraient participer à la physiopathologie des infections urinaires sur sonde (Sebghati, 1998).

- **Sidérophores**

C'est la possibilité des bactéries à capter le fer environnant grâce à des structures particulières, les sidérophores. Dans l'organisme de l'hôte, le fer n'est pas à l'état libre mais associé à des glycoprotéines telles que la transferrine et la lactoferrine. En effet la captation du fer est essentielle à la croissance et à la réplication *in vivo* des bactéries et joue un rôle dans l'installation et la progression de l'infection (Podschun,1998 ; Carniel,1999) (**Figure 2**).

2.1.8. Réservoirs

Les principales sources de *Klebsiella pneumoniae* sont notamment les suivantes :

- *K. pneumoniae* : présente dans tous les sites anatomiques du corps humain, le plus souvent dans les voies respiratoires et les voies urinaires ;
- *K. ozaenae* : présente le plus souvent dans les écoulements nasaux ; voies respiratoires, voies urinaires et sang ;
- *K. rhinoscleromatis* : peut être retrouvé dans les écoulements nasaux et sang (sérum) (Botelho-Nevers,2007).

2.2. Resistance de *Klebsiella Pneumoniae* aux Antibiotiques

2.2.1. Les antibiotiques

2.2.1.1. Généralité sur les antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être classés en se basant sur différents critères tels que leurs origines, leurs structures et leurs mécanismes d'action. L'action antibactérienne s'effectue selon quatre principaux mécanismes : une inhibition de la synthèse des constituants de la paroi, un blocage de la synthèse des protéines, un blocage de la synthèse des acides

nucléiques et une altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique (Modibo, 2006).

2.2.1.2. Définition

Les antibiotiques sont des molécules à activité antibactérienne. Ils sont soit d'origine biologique (β -lactamines, aminosides, macrolides, polypeptides) semi synthétiques ou synthétiques (sulfamides, quinolones). Ils agissent spécifiquement sur des cibles moléculaires perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries (synthés protéiques, synthèse des acides nucléiques, réplication, transcription, transport transmembranaire...) (Bryskier, 1999).

2.2.1.3. Critères de classifications

Les antibiotiques peuvent être classés selon leur mode d'action, leur spectre d'activité, l'origine de la molécule et la structure chimique. Au sein de la même famille, les antibiotiques peuvent aussi être regroupés en fonction des modifications successives apportées à leur structure chimique pour élargir leur spectre d'activité ou améliorer leur pharmacologie. On parle de "génération d'antibiotiques" telles les céphalosporines et les quinolones (Bryskier, 1999).

2.2.1.4. Mode d'action

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire sur une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie au niveau de **(Figure04)**.

- La paroi bactérienne.
- La membrane cytoplasmique.
- La synthèse des protéines.
- La synthèse des acides nucléiques.
- La synthèse des folates (Yala et Mohamadi, 2001).

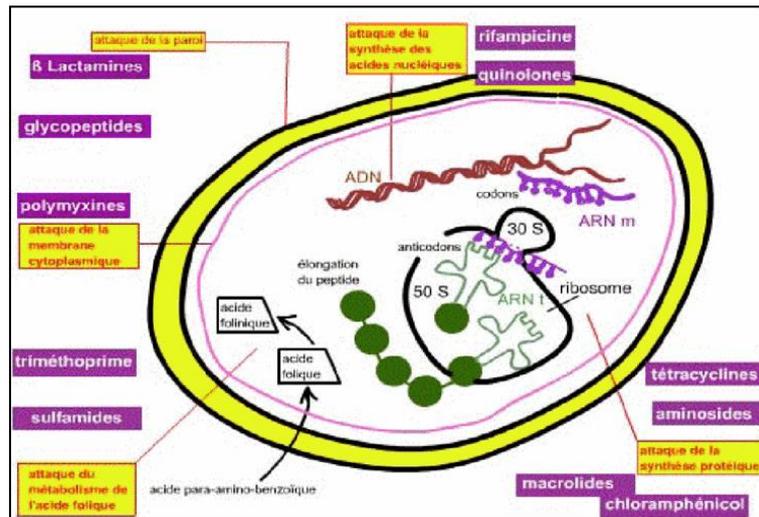


Figure 4: Différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007).

2.2.2. Notion de la résistance bactérienne

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

2.2.3. Types de résistance aux antibiotiques

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

2.2.3.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les cellules de toutes les souches. Elle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal. La résistance naturelle a pour support génétique le chromosome bactérien et elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques (Fauchère et Avril, 2002).

Les mécanismes de la résistance naturelle peuvent être l'imperméabilité de la paroi bactérienne ou la synthèse d'enzymes naturelle chromosomiques. *K. pneumoniae* est

naturellement résistante aux aminopénicillines (amoxicilline, ticarcilline) par production d'une β -lactamase de classe A d'espèce (chromosomique), inhibé par l'acide clavulanique (Hazggman,1997).

2.2.3.2.Résistance acquise

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

2.2.4. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux β -lactamines

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

2.2.4.1.Mécanismes de résistance de *Klebsiella pneumoniae*

La résistance naturelle ou acquise aux β -lactamines est caractérisée par au moins deux mécanisme qui peuvent par ailleurs être combinés : Enzymatique et non enzymatique. Parmi les mécanismes de résistance effectués par voie enzymatique on cite :

- Pénicillinase

➤ Phénotype pénicillinase à bas niveau

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

➤ Phénotype pénicillinase à haut niveau

Chez *Klebsiella pneumoniae* le phénotype pénicillinase à haut niveau se caractérise par la résistance à très haut niveau aux amino et carboxypénicillines, et par une réduction de l'activité des uréedopénicillines et des céphalosporines de première et de deuxième génération ainsi par une réduction de l'activité des pénicillines (Ampicilline, Ticarcilline, Pipéracilline et Amoxicilline) associées aux inhibiteurs de β -lactamases.

- **Céphalosporinase de haut niveau**

Ce sont des β -lactamases plasmidique de classe C d'ambler qui présentent une résistance à l'ensemble des β -lactamines excepté les carbapénèmes et notamment aux C3G par acquisition d'un gène plasmidique (AmpC) (Gueudet et al., 2009).

- **Carbapénèmases**

Les carbapénèmases de classe A, les plus fréquentes, sont les carbapénèmases de type KPC (Nordmann, 2010). Son activité est partiellement inhibée par l'acide clavulanique ou le tazobactam. Parmi les céphalosporines de troisième génération, les KPC hydrolysent le plus efficacement le céfotaxime. (Grall et al., 2011). Les souches qui produisent KPC expriment également d'autres β -lactamases dont de nombreux types de BLSE. Les souches *Klebsiella pneumoniae* productrice carbapénèmase (KPC) apparaissent donc le plus souvent multirésistantes aux β -lactamines (Nordmann, 2010).

- **β -lactamase à spectre élargi (BLSE)**

Depuis le milieu des années 1980, notamment chez *Klebsiella pneumoniae*, et presque exclusivement en milieu hospitalier, des phénotypes de résistance acquise caractérisés par une forte diminution de l'activité des pénicillines, des céphalosporines de première, deuxième et troisième génération. Ces phénotypes se caractérisent de plus par une très forte synergie entre les β -lactamines inactivées et les inhibiteurs de β -lactamases de type acide clavulanique (disque d'Augmentin). On peut noter que certaines BLSE sont caractérisées par une activité faible vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération.

2.2.5. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux aminosides

Comme la plupart des entérobactéries, *Klebsiella* présente une résistance aux aminosides gentamicine alors que leur résistance à l'amikacine, ciprofloxacine est faible. La résistance acquise résulte d'une mauvaise pénétration de l'aminoside à l'intérieur de la cellule bactérienne ou de la modification enzymatique des antibiotiques (Archambaud et Clave, 2008).

2.2.6. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux quinolones :

La résistance des bactéries, notamment *Klebsiella pneumoniae*, aux fluoroquinolones est devenue préoccupante tant en milieu hospitalier qu'en médecine communautaire (Leshner et Brundage, 1962).

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

2.2.6.1. Résistance par la modification de la cible

Ce mécanisme de résistance correspondant à une modification de cible de l'antibiotique avec une altération de l'ADN gyrase et de la topoisomérase. La perte d'affinité pour la cible provient de modification structurale dans une région appelée la QRDR (Quinolone Resistance Determining Region), où sont trouvées la majorité des mutations responsables de la résistance aux fluoroquinolones (Archamboud et Clave, 2008) (**Figure 05**).

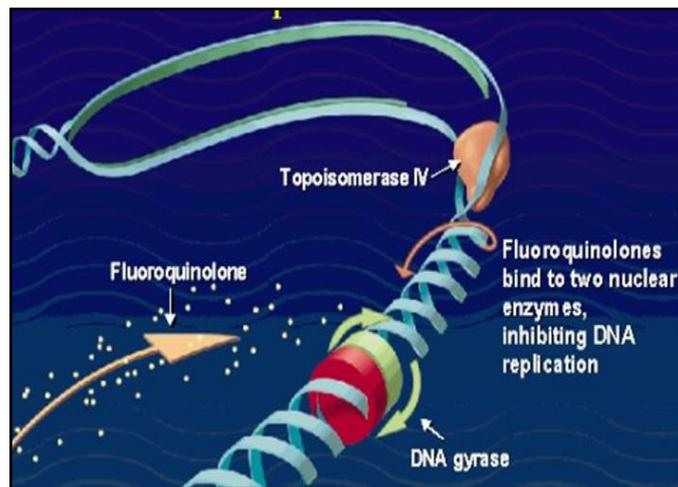


Figure 5: Mécanisme d'action des Quinolones (<https://slideplayer.fr>, s.d.)

2.2.6.2. Résistance par défaut d'accumulation

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

*Matériel &
méthodes*

3. Matériel et méthodes

3.1. Objectifs et lieu de l'étude

Notre travail s'inscrit sur l'étude de la sensibilité bactérienne de la souche *Klebsiella pneumoniae* isolée des urines. L'isolement de ce dernier a été effectué au niveau du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) « COMMANDON BENBAATOUCHE ABDELALI » au niveau du palliase d'examen cyto bactériologique des urines.

De ce fait, il consiste à :

- L'identification de *Klebsiella pneumoniae* retrouvé dans des prélèvements reçus au niveau du laboratoire de bactériologie.
- La détermination de leurs profils de résistance aux antibiotiques par antibiogramme.

3.2. Nature de l'étude

D'une part, une étude prospective a été réalisée sur une période de 4 mois (janvier-Avril) de l'an 2019.

D'autre part, une étude rétrospective est réalisée sur une période de 2 ans 2017 / 2018 qui a pour objectif, la synthèse des données relatives du taux des infections urinaires dû à *Klebsiella pneumoniae* et leur profil de résistance obtenues des registres de réception au niveau du laboratoire.

3.3. Echantillonnage

178 prélèvements ont été examinés durant la période de l'étude à partir de patients de plusieurs catégories (Traitement ambulatoire, patients hospitalisés), et des différents services du HMRU de Constantine (médecine interne, gastrologie, réanimation, urologie, urgence, néphrologie, neurologie, oncologie, gynécologie, maladie infectieuse et pédiatrie).

✓ Recueil des urines

Après lavage hygiénique des mains et réalisation d'une toilette soignée au savon ou aux antiseptiques doux de la région vulvaire ; suivi d'un rinçage ; le sujet élimine le premier jet, pour ne recueillir dans le tube à urine stérile que les 20 ml, en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient.

✓ Acheminement

Pour éviter toute prolifération bactérienne le transport au laboratoire se fera le plus vite possible (pas plus de 2 heures), au-delà de ce délai le flacon d'urine sera placé dans un récipient contenant de la glace.

✓ Renseignement accompagnant le prélèvement

Les renseignements qui accompagnent le prélèvement sont indispensables ; ils concernent le nom et prénom, l'âge, le sexe du patient, le service, et le traitement (**Annexe 1**).

Ces renseignements permettant au personnel du laboratoire d'améliorer l'examen cyto bactériologique des urines et son interprétation.

3.4. Identification bactérienne

3.4.1. Examen macroscopique (urine)

L'urine normale a une couleur claire, d'aspect jaune citron tandis que l'urine infectée est souvent trouble, d'odeur nauséabonde et de couleur plus foncée. Parfois, on note même la présence de sédiments tantôt blanchâtres (phosphates), tantôt rouge brique (acide urique). Son intérêt est limité car une urine trouble n'est pas forcément le signe d'une infection.

3.4.2. Examen microscopique

Cet examen concerne l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU). Ce dernier doit être pratiqué avant de démarrer tout traitement antibiotique et permet de mettre en évidence la présence ou non d'une infection urinaire chez un patient.

L'examen d'ECBU comprend :

- La cytologie : compte des leucocytes et des hématies par ml.
- La bactériologie : identification et compte des germes, exprimé en unités formant colonies (UFC) par millilitre (ml). Cette identification est couplée à un antibiogramme.

3.4.2.1. Examen cytologique

- **Analyse quantitative**

Permet de connaître le nombre figuré par unités de volume (Leucocytes ; hématies ...etc.) ; cette quantification est effectuée manuellement ou bien par un système automatique de comptage (Piette, 2008). La lecture sera réalisée en comparant nos résultats avec ceux mentionnés dans le tableau de l'annexe 02.

- **Analyse qualitative**

Cet examen permet d'observer et d'apprécier les cellules présentes dans l'échantillon (hématies, leucocytes, cristaux, levures). Il est réalisé en déposant une goutte d'urine sur la

cellule Nageote à l'aide d'une pipette pasteur sans coloration puis examiner sous microscope optique à l'objectif $\times 40$.

3.4.2.2. Examen bactériologique

- **Examen directe à l'état frais**

C'est un examen de mise en œuvre très simple qui permet d'apprécier la morphologie des bactéries, leur mode de regroupement, et surtout leur mobilité. Il est réalisé en déposant sur une lame porte objet stérile, une goutte de l'eau distillée et une goutte d'urine puis de recouvrir d'une lamelle en évitant d'emprisonner les bulles d'air. La préparation est examinée au microscope optique au grossissement $\times 40$.

- **La mise en culture**

La mise en culture a pour but l'isolement et la numération des espèces bactériennes et plus spécifiquement les entérobactéries (*K. pneumoniae*). C'est la seule méthode qui permet une identification exacte des bactéries qui colonisent l'urine.

Les entérobactéries ne sont pas exigeantes et sont cultivés sur gélose ordinaire, gélose nutritive (GN), et sur milieu Hektoen (milieu sélectif). Dans un premier temps, l'ensemencement est réalisé en prélevant une öse d'urine qui est déposé sur les milieux de cultures à l'aide de l'anse de platine par la technique des stries :

- Sur gélose nutritive GN (**Annexe3**) : la GN est un milieu qui convient à la culture des germes ne présentent pas d'exigences particulières.
- Sur milieu Hektoen (**Annexe3**) : le milieu Hektoen est un milieu sélectif pour *K.pneumoniae*.

- **Technique**

- Homogénéiser le prélèvement urinaire.
- Ensemencer par inondation avec 1ml du prélèvement sur les boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive.
- Pour chaque prélèvement urinaire on fait une uroculture sur GN avec un dénombrement des germes (bactériens) et une deuxième uroculture sur milieu Hektoen pour l'isolement des bacilles à Gram négatif (*K. pneumoniae*).
- Incuber les boîtes à 37°C pendant 18 à 24h.

- **Isolement et purification**

Après l'incubation des boîtes, l'aspect des colonies ayant poussé sur le milieu GN de culture a été examiné et selon la nécessité (si les boîtes contiennent plusieurs types de colonies), on procède à la purification de la souche en réalisant des repiquages successifs (sur le même milieu d'isolement) afin d'obtenir des souches pures. L'identification de la souche étudiée (*K. pneumoniae*) est réalisée par l'étude de coloration de Gram, plus plusieurs tests biochimiques.

- **Examen direct après coloration au bleu de méthylène**

La coloration au bleu de méthylène est une coloration très simple qui permet d'observer les bactéries (forme, taille, mode de regroupement).

- **Technique**

- Réaliser un frottis bactérien et le fixer à la chaleur
- Le recouvrir de bleu de méthylène et laisser agir 20 min
- Rincer à l'eau distillée
- Sécher entre 2 feuilles de papier de joseph.

- **Observation**

Examiner à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile avec un éclairage important. Toutes les cellules apparaissent en couleur bleu ;

- La morphologie des bactéries : bacilles, coques...
- Leur mode de groupement : isolées, par 2, en amas, en chaînettes.
- La présence de cellules (polynucléaires, lymphocytes et cellules épithéliales...) et germes.

- **Examen direct après coloration de Gram**

- **Principe et technique**

La coloration de Gram est la coloration de base de la bactériologie. C'est une coloration double qui permet de différencier les bactéries non seulement d'après leur forme et leur disposition, mais surtout d'après leur affinité pour les colorants liée à la structure de la paroi.

Elle permet de renseigner sur (Le type Gram + ou Gram-, la forme des bactéries, la taille, le mode de regroupement).

La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes qui consistent à :

- Faire un frottis sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne ;
- Fixer le frottis à la flamme d'un bec bunsen ;
- Recouvrir le frottis de la solution de violet de gentiane on laisse agir une minute ;
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- Recouvrir la préparation de lugol, laisser agir 30 secondes ;
- Rejeter le lugol puis laver à l'eau ;
- Décolorer à l'alcool on le laissant agir pendant 30 secondes ;
- Rincer à l'eau courante et recouvrir la lame de solution de fuchsine diluée, laisser agir 30 secondes ;
- Rejeter la fuchsine, laver abondamment la lame à l'eau, puis l'égoutter, et la sécher entre deux feuilles de papier buvard propres.

- **Lecture**

La lecture se fait au grossissement x 100 avec une goutte d'huile à immersion. *Klebsiella pneumoniae* apparaissent en couleur roses (Gram négatif), alors que les autres bactéries à Gram positif sont colorées en violet.

3.4.3. Identification biochimique

L'identification des caractères biochimiques de la souche *Klebsiella pneumoniae* est effectuée à l'aide de la galerie biochimique miniaturisées (galerie Rapid one) plus des tests complémentaires (test d'oxydase et test de catalase).

3.4.3.1. Identification par la Galerie biochimique miniaturisée (RapID ONE)

- **Principe**

Les tests utilisés avec le système Rapid one reposent sur la détection de la dégradation microbienne de substrats spécifiques par différents indicateurs (virage de couleurs).

Le système RapID ONE se compose des plaquettes RapID ONE et du réactif RapID ONE (**annexe8**). Chaque plaquette RapID ONE est constituée de plusieurs cavités réactives moulées (cupules) à la périphérie d'un plateau jetable en plastique (**Figure 6**).

Les cavités réactives (cupules) contiennent des réactifs déshydratés et le plateau autorise l'inoculation simultanée de toutes les cavités par une quantité prédéterminée d'inoculum. Après incubation de la plaquette, les résultats positifs sont déterminés par observation d'un virage de couleur. Dans certains cas, il est nécessaire d'ajouter des réactifs dans les cavités pour provoquer ce virage de couleur.

Le modèle résultant de scores positifs et négatifs au test sert de base à l'identification de l'isolat du test en comparant les résultats obtenus à des modèles de réactivité enregistrés dans une base de données, *via* l'utilisation d'Electronic RapID Compendium (ERIC™).



Figure 6: Galerie biochimique **RapID ONE**

- **Technique**

Après le développement des souches sur GN la préparation de la suspension bactérienne consiste en transfert, en condition aseptique, d'une colonie bien isolée vers un tube qui contient 1 à 2 ml d'eau physiologique stérile. La technique est décrite comme suit :

- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.
- Après avoir ajouté la suspension, tout en maintenant la plaquette en contact avec une surface plane, écarter la plaquette des cavités réactives en la plaçant à un angle d'environ 45 degrés (**Figure 7**).

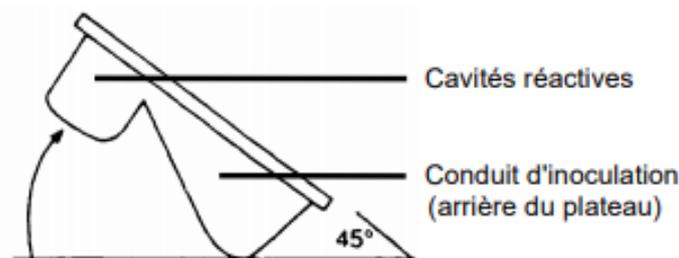


Figure 7 : La première étape de la galerie biochimique RapID ONE

- Alors qu'elle est toujours penchée, agiter doucement la plaquette pour obtenir une distribution homogène de l'inoculum le long des déflecteurs arrière, comme sur l'illustration figure8.

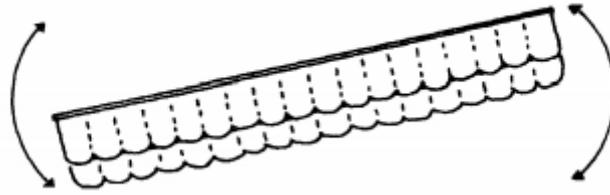


Figure 8 : La deuxième étape de la galerie biochimique RapID ONE

- Tout en stabilisant la plaquette en position horizontale (le plus simple est de faire reposer le fond des cavités réactives sur la paillasse), faire basculer doucement la plaquette vers les cavités réactives jusqu'à ce que l'inoculum s'y écoule depuis les déflecteurs (**figure 9**). Tout l'inoculum doit s'évacuer de la partie arrière de la plaquette



Figure 9 : La troisième étape de la galerie biochimique RapID ONE

- Remettre la plaquette en position horizontale. Le cas échéant, tapoter doucement la plaquette sur la paillasse pour évacuer l'air emprisonné dans les cavités.
 - Mettre à incuber les plaquettes inoculées entre 35 et 37°C dans un incubateur pendant 4 heures.
 - La lecture se fait selon un catalogue analytique (**Annexe 4, 5**).
- **Les tests biochimiques de la galerie RapID ONE**

Les identifications s'effectuent en associant les résultats des tests réalisés sur les plaquettes RapID ONE à d'autres tests de laboratoire (ex : coloration de Gram, oxydase) pour définir un profil ressemblant statistiquement à la réactivité connue de taxons enregistrés dans la base de données du système RapID. Ces profils sont comparés à l'aide du tableau différentiel RapID ONE ou déterminés à partir d'un microcode (**annexe 05**).

- **Test à l'oxydase**

La recherche de l'oxydase présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne l'identification taxonomique des bactéries à Gram négatif.

✓ Principe

Le test de l'oxydase est fondé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C. Cette enzyme oxyde le réactif pour former un composé coloré en violet « l'indophénol » (Savadogo et Boubkeur, 2016).

✓ Technique

A l'aide d'une pipette pasteur, une colonie de la bactérie à identifier et écraser sur le papier.

✓ Lecture

La présence d'une cytochrome oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration rouge virant rapidement au violet très foncé. A l'inverse, si la couleur du papier ne change pas, la souche est donc à oxydase négative (**Figure 10**).

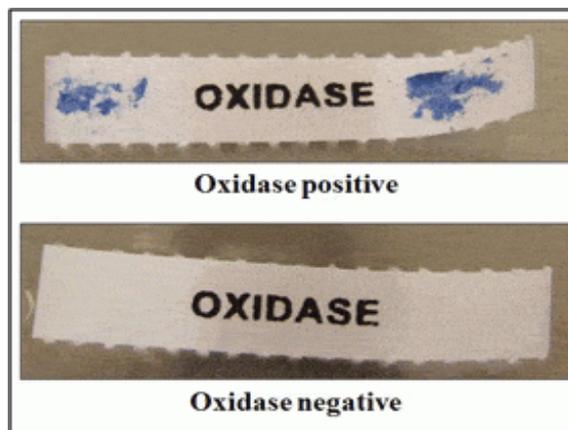


Figure 10: test oxidase ((microbeonline.com/oxidase-test-principle-procedure-and-oxidase-positive-organisms, s.d.)

- Test de catalase

Il permet la détection de l'enzyme « catalase » qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



Ce test s'effectue sur une lame porte objet propre. Une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée (à 10 volumes) à l'aide d'une pipette Pasteur.

- **Lecture** : La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène (**Figure 11**).

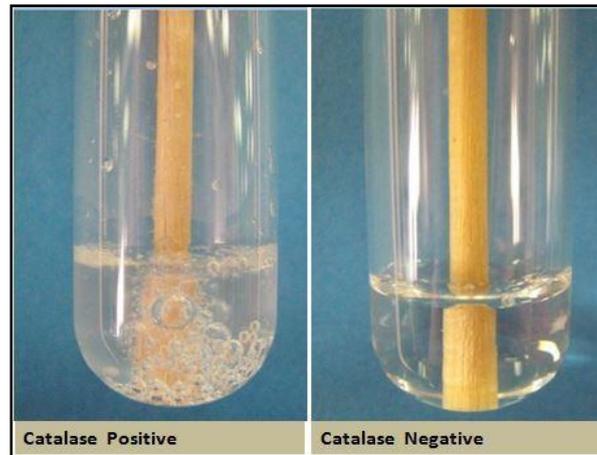


Figure 11: test catalase

3.5. Détermination de la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques « Antibiogramme »

La résistance des souches aux antibiotiques est testée par la méthode de diffusion en milieu gélosé « Muller Hinton (MH) ». C'est une technique rapide basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration de l'antibiotique obtenu après sa diffusion à partir du disque. La croissance bactérienne s'arrête lorsque les bactéries sont en contact avec la concentration minimale d'inhibition autour du disque d'antibiotique.

3.5.1. Antibiogramme

L'antibiogramme est l'examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre chacune des molécules antibactériennes utilisables et la souche bactérienne isolée d'un patient. Le résultat contribue à évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance (**Moukha, 2018**).

Pour chaque souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée, un antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton. La technique de l'écouvillonnage et la mesure des diamètres se font selon les recommandations du Clinical & Laboratory Standards Institute « **CLSI** ». Les résultats de cet examen peuvent aider les médecins dans le choix de l'antibiotique approprié pour la thérapie.

- **Technique**

- **Milieu**

Gélose MH, coulée en boîtes de Pétri sur épaisseur de 4mm, et séchée.

- **Inoculum**

À partir d'une culture pure de 18 à 24h sur milieu d'isolement, on prélève à l'aide d'une anse ou une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées de *Klebsiella pneumoniae*, puis on les dissocie dans 10 ml d'eau physiologique stérile, bien homogénéiser la suspension bactérienne, dont sa charge doit être équivalente à 0,5 Mac Ferland.

- **Ensemencement par écouvillonnage**

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum
- L'essorer en le passant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 3 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;
- Recharger l'écouvillon pour chaque boîte de Pétri.

- **Choix des antibiotiques :**

Les antibiotiques testés lors de la réalisation de l'antibiogramme des entérobactéries sont (**Annexe 06**):

- ❖ **β-lactamines**

Ampicilline (AMP), Amoxicilline (AMX), Amoxicilline-acide clavulanique (AMC), Ticarcilline (TIC), Pipéracilline (PRL), Céfazoline (CZ), Céfotaxime (CTX), Céftriaxone (CRO), Imipénème (IMP).

- ❖ **Aminosides**

Amikacine (AK), Gentamicine (GN).

- ❖ **Quinolones**

Acide nalidixique (NA), Ciprofloxacine (CIP), Ofloxacine (OFX).

- ❖ **Autres**

Colistine (CT), Triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT).

➤ Application des disques d'antibiotiques

- Les disques choisis sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée, en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu.
- Environ 6 ou 7 disques d'antibiotiques sont déposés sur une boîte de 90 mm, deux disques doivent être éloignés au minimum de 30 mm, de plus 15mm sont éloignés du disque au bord de la boîte.

➤ Incubation

Laisser diffuser les disques après leur application à température ambiante pendant 15 min, puis incuber dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

➤ Lecture et interprétation de l'antibiogramme

La lecture de l'antibiogramme se fait par la mesure des diamètres d'inhibition à l'aide du pied à coulisse ou par une règle graduée. Les résultats sont comparés aux valeurs critiques standards, pour classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible (S), Intermédiaire (I), Résistante (R) (**Annexe 07**).

3.6. Résultat statistique

L'étude statistique est effectuée à l'aide de l'logiciel « Excel » à partir d'une étude rétrospective réalisée sur une période de 2 ans (2017-2018) par des données obtenues des registres de réception au niveau du laboratoire.

Un total de 178 souches de *Klebsiella pneumoniae* sont étudiées. De plus, les analyses statistiques de l'année 2019 (étude prospective) a révélé de nombreux cas touchés par la même souches uropathogène. Les distributions des cas obtenues sont évaluées selon :

- L'origine de prélèvement.
- Le sexe.
- La fréquence d'isolement par rapport aux autres germes
- Le service.

Les résultats sont représentés par des tableaux et des camemberts.

*Résultats &
discussions*

4. Résultats et discussions

Ce travail s'inscrit sur l'étude de la sensibilité bactérienne de la souche pathogène *Klebsiella pneumoniae* isolée des urines. L'objectif de cette étude s'articule sur, (i) L'identification de *Klebsiella pneumoniae* retrouvé dans des prélèvements reçus au niveau du laboratoire de bactériologie à l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine ; (ii) La détermination de leurs profils de résistance aux antibiotiques par antibiogramme. De plus, de cette étude prospective réalisée une autre étude rétrospective est effectuée (de l'année 2017 au 2018) afin de bien déterminer cette infection.

4.1. Identification bactérienne

4.1.1. Aspect macroscopique (urine)

Il consiste à observer à l'œil nu la limpidité de l'urine et sa couleur ; il permet de constater l'existence d'une éventuelle hématurie. Son intérêt est limité car une urine trouble n'est pas forcément le signe d'une infection, plusieurs aspects ont été observés sur les malades que nous ayons suivis :

- Urine claire ou jaune brun : renseigne sur la concentration en eau de l'urine.
- Urine trouble ou purulente : cet aspect suggère la présence des leucocytes.
- Urine sanglante : présence des hématies.

4.1.2. Examen microscopique

L'examen microscopique est un moyen de diagnostic indispensable, car souvent, on notera aucune anomalie macroscopique ou visible à l'œil nu, d'où la nécessité de rechercher des bactéries et des éléments cellulaires de type polynucléaire au microscope optique.

4.1.2.1. Examen à l'état frais

Permet de voir la morphologie et la mobilité des bactéries. De ce fait, des bactéries, des leucocytes, des hématies et des cristaux ont été observées dans quelques échantillons des urines (**Figure12**).

L'observation par microscope optique des cellules de nos échantillons à l'état frais révèle la présence de cellules type bacilles immobiles. Ces cellules ont le même aspect microscopique de la souche recherchée *Klebsiella pneumoniae*.

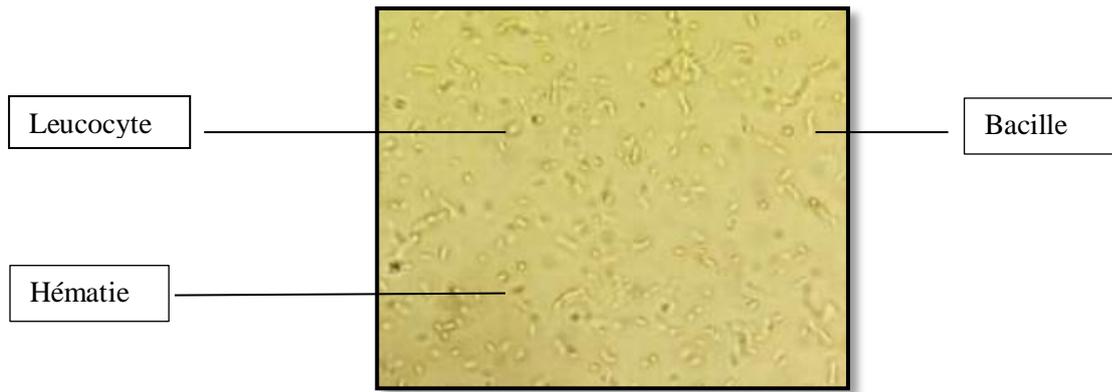


Figure 12 : observation microscopique d'un échantillon (urine) à l'état frais au « G x 40 ».

4.1.3. Mise en culture de la souche

L'observation des caractères cultureux de la souche isolée sur les boîtes de Pétri, après la mise en culture sur GN, pendant 24h d'incubation à 37 C°, nous a permis de voir la forme et l'aspect des colonies. La souche recherchée forme des colonies bombées souvent très muqueuses parfois filante à l'anse de platine, larges, grasses et luisantes.

- **Gélose nutritive (GN)**

Les observations des boîtes incubées montrent qu'il y a des colonies muqueuses de 3-4 mm de diamètre avec une tendance à la confluence (**Figure13**).

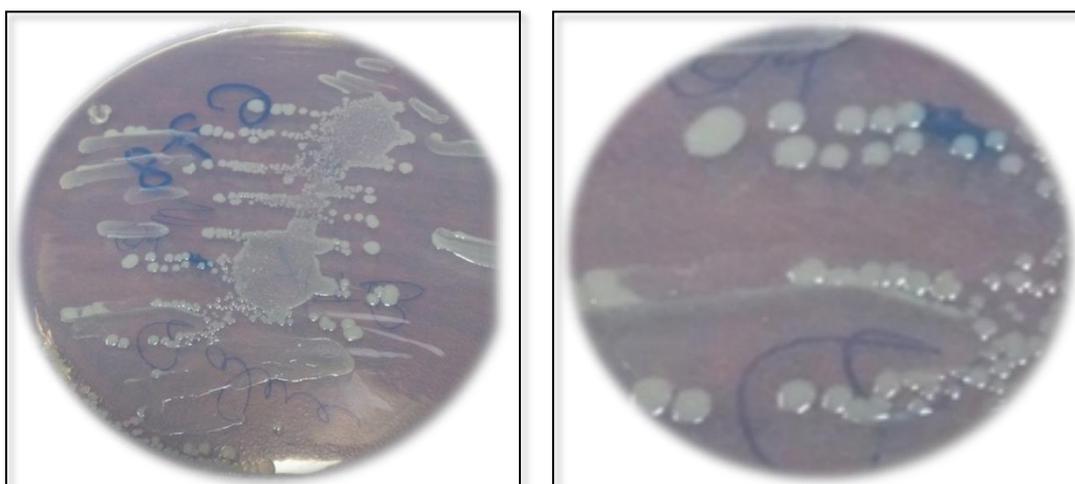


Figure 13: Aspect macroscopique des colonies isolées sur gélose nutritive.

• Sur milieu Hektoen

La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant l'isolement et différenciation des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques (urines).

L'aspect des colonies sur milieu Hektoen est en relation de la capacité de *Klebsiella pneumoniae* à fermenter le lactose mis dans le milieu. Cela conduit à une production d'acide qui abaisse le pH et modifie l'indicateur de pH placé dans le milieu qui vire du vert au jaune-oronge. Notre souche se présente sous formes de grosses colonies muqueuses, bombées, lactose (+), ayant un aspect d'une goutte de miel, avec une tendance à la confluence (**Figure13**). Ces résultats sont compatibles avec ceux mentionnés par Illiaquer (2010) qui a travaillé sur *K. pneumoniae* sur milieu Hektoen qui a obtenu des colonies, bombées et brillantes et qui apparaissent lactose positive avec un virage de l'indicateur coloré.

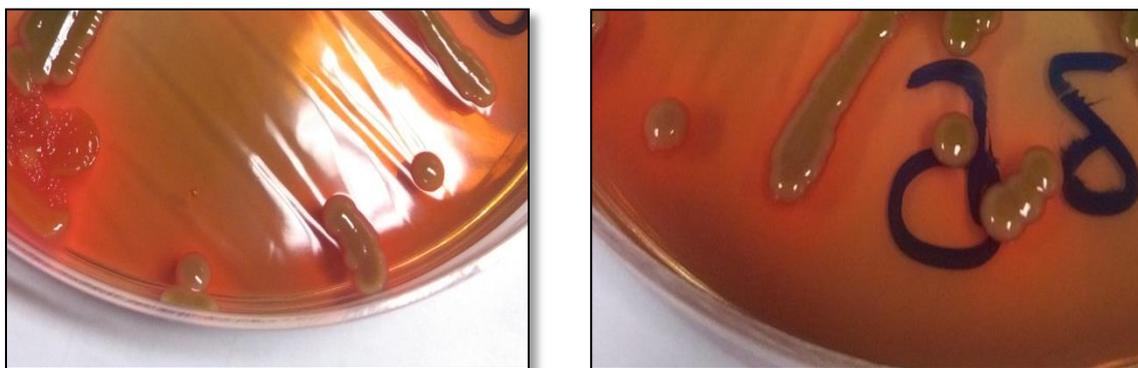


Figure 13 : Aspect macroscopique des colonies sur milieu Hektoen.

4.1.4. Examen après coloration de Gram

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

L'observation à l'objectif x 100 de la souche recherchée après coloration de Gram (**Figure 14**), nous a révélé que notre souche est à Gram négatif et ont une forme en bacilles coloré en rose. Ceci est compatible avec les résultats de Gueye (2007) qui dit que les souches de *Klebsiella pneumoniae*, se présentent sous forme de bacilles ou diplobacilles colorés en rose.

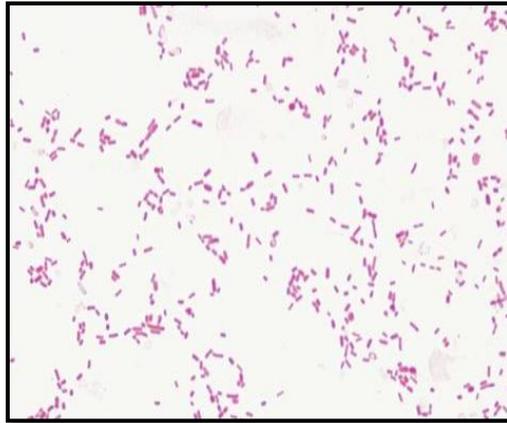


Figure 14 : Observation microscopique après coloration de Gram au « G x 100 ».

4.1.5. Coloration au bleu de méthylène

Cette coloration permet de déterminer la nature des leucocytes et d'apprécier la morphologie des bactéries. Après l'examen à l'**objectif x100 à immersion** (avec une goutte d'huile) avec un éclairage important sur un microscope optique, les structures colorables de la souche isolée apparaissent en bleu (**Figure 15**).

L'observation de notre souche après coloration de bleu de méthylène nous a indiqué que cette dernière a une forme de bacilles et son regroupement est en diplobacilles. Ce résultat est compatible avec celui Boughachiches et Ebais (2016) qui a trouvé le même type de cellule de *K. pneumoniae*.

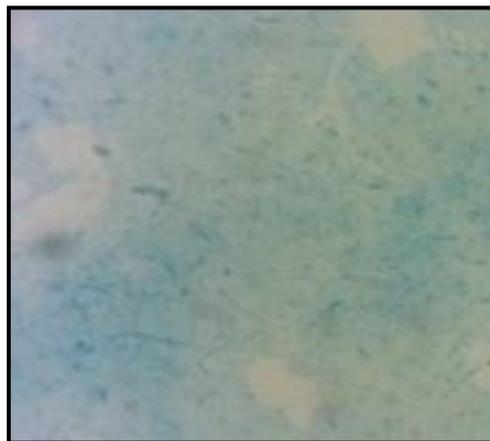


Figure 15 : Observation microscopique après coloration de bleu de méthylène (G×100).

4.1.6. Identification biochimique de la souche

4.1.6.1. Identification par la Galerie biochimique miniaturisée (RapID ONE)

L'identification des caractères biochimiques est effectuée à l'aide de galerie biochimique miniaturisée, la galerie **RapID ONE**, plus des tests complémentaires (test d'oxydase et test de catalase).

La galerie se compose de 18 microtubes contenant des substrats déshydratés pour la mise en évidence d'enzymes ou de fermentation de sucres. Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisés à partir d'une culture pure, qui réhydrate les substrats. Les résultats des réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par un changement spontané ou révélé par l'addition de réactifs (réactif RapID ONE et réactif spot Indole RapID) (**Figure 16**).

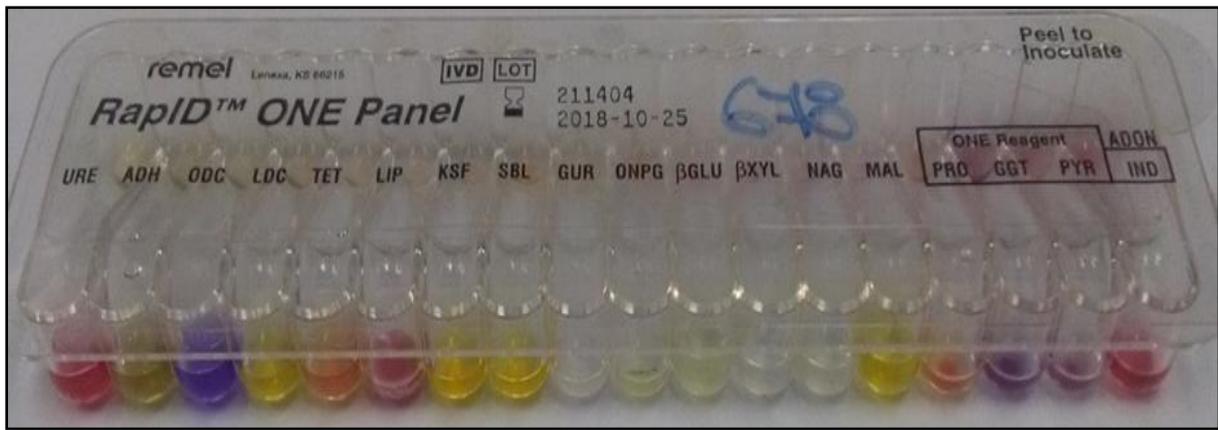


Figure 16 : Résultat de la galerie RapID ONE de *Klebsiella pneumoniae*.

De la même manière, nous obtenons un profil numérique sur la fiche de résultat (**annexe1**).

A l'aide du logiciel d'identification Rapid TM one ; entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres. Le tableau suivant montre les principaux résultats de la galerie biochimique RapID ONE de la souche isolée. Ces résultats et après l'analyse par le logiciel d'identification indiquent que notre souche est *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau 1: caractères biochimiques de *K.pneumoniae*.

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----------|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| URE | ADH | ODC | LDC | TET | LIP | KSF | SBL | GUR | ONPG | β -GLU | β -XYL | NAG | MAL | PRO | GGT | PYR | IND |
| + | - | - | - | - | - | + | + | - | + | + | - | - | - | + | + | + | - |

Les résultats du tableau sont interprétés de la manière suivante :

- 1) **URE (Urée)** : L'hydrolyse de l'urée produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur. Donc l'apparition de la couleur rouge nous a indiqué que notre souche est à urée positive et possède l'enzyme uréase.
- 2) **ADH (Arginine)** : L'hydrolyse du substrat acide aminé (arginine) produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur. Donc l'apparition de la couleur vert-jaune nous a indiqué que notre souche est à ADH négatif et ne possède pas l'enzyme décarboxylase bactérienne de l'arginine.
- 3) **ODC (Ornithine)** : L'apparition de la couleur violacée brillant nous a indiqué que notre souche est à ODC négatif et donc elle ne possède pas l'enzyme décarboxylase bactérienne de l'ornithine.
- 4) **LDC (Lysine)** : L'apparition de la couleur jaune nous a indiqué que notre souche est à LDC négatif et donc elle ne possède pas l'enzyme décarboxylase bactérienne de la lysine.
- 5) **TET (Thiol aliphatique)** : L'hydrolyse du composé thiol produit des éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur, l'apparition de la couleur orange nous a indiqué que notre souche est à TET négatif, donc elle n'a pas la capacité d'oxyder le thiol.
- 6) **LIP (Ester d'acide gras)** : L'hydrolyse de l'ester d'acide gras provoque la libération d'éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur, l'apparition de la couleur rouge nous a indiqué que notre souche est de LIP négatif, donc elle ne possède pas l'enzyme de l'estérase.
- 7) **KSF (Aldéhyde de glucose)** : L'hydrolyse des hydrates de carbone produit des éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur. L'apparition de la couleur jaune signifie que notre souche a une KSF positif. Donc elle possède l'enzyme hydrolytique qui dégrade le glucose et qui est excrétée par *Klebsiella pneumoniae* dans le milieu.
- 8) **SBL (Sorbitol)** : Apparition de la couleur jaune nous a indiqué que notre souche est de SBL positif et donc elle peut métaboliser le sorbitol.
- 9) **GUR « 4-Nitrophenyl β -D-glucuronide »** : L'hydrolyse enzymatique du groupement glycoside ou phosphoester-aryl substitué incolore entraîne la libération d'oxygène ou p-nitrophényl jaune, on a remarqué une légère coloration et donc notre souche est de GUR négatif.

- 10) ONPG** : substrat appeler « **σ -nitrophényl- β , D-galactoside** », notre souche est d'ONPG positif donc elle possède l'enzyme β -galactosidase qui est capable de scinder le lactose en galactose et glucose qui se traduit par un virage de couleur en jaune. L'utilisation du lactose par *Klebsiella pneumoniae* requiert deux enzymes : • la lactose perméase qui permet au lactose de pénétrer dans la bactérie • la β -galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose.
- 11) β GLU** (**ρ -nitrophényl- β , D-glucoside**) : un virage de couleur en jaune indique que notre souche est β GLU positif, donc elle possède l'enzyme de glycosidase.
- 12) β XYL** (**ρ -nitrophényl- β , D-xyloside**) : absence de la coloration nous a indiqué que notre souche est β XYL négatif, donc elle ne possède pas de l'enzyme xylosidase.
- 13) NAG** (**ρ -nitrophényl-N-acétyl- β , D-glucosaminide**) : absence de la coloration indique que notre souche est NAG négatif, donc elle ne possède pas de l'enzyme glucosaminidase.
- 14) MAL (Malonate)** : L'utilisation du malonate produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur, l'apparition d'une couleur jaune nous a indiqué que notre souche est de MAL négative (absence de malonate décarboxylase).
- 15) PRO (Proline- β -naphthylamide)** : L'hydrolyse enzymatique du substrat acrylamide entraîne la libération de β -naphthylamine libre qui est détectée par le réactif RapID ONE. L'apparition d'une couleur rose soutenu nous a indiqué que notre souche est de PRO positif (absence de la proline déshydrogénase).
- 16) GGT (γ -glutamyl- β -naphthylamide)** : l'apparition d'une coloration violette indique que notre souche est GGT positif, elle possède l'enzyme de gamma- glutamyl aminopeptidase.
- 17) PYR (Pyrrolidonyl- β -naphthylamide)** : une coloration violacée indique que notre souche est PYR positif donc elle possède l'enzyme de pyrrolidonyl peptidase.
- 18) IND (Tryptophane)** : L'utilisation du tryptophane provoque la formation d'indole qui est détecté par le réactif spot indole RapID. L'apparition d'une coloration rouge après l'addition de réactif spot indole RapID, indique que notre souche est indole négatif et donc absence de l'enzyme de tryptophanase.

4.1.6.2. Tests complémentaires

- Test catalase

Technique en tube à hémolyse : on dépose quelques colonies de la souche à tester dans un tube à hémolyse contenant 0,5 à 1 mL d'eau oxygénée, sur la paroi du tube, à la limite de l'eau oxygénée. La présence d'une catalase positive se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène (**Figure 17**).

La présence de bulles d'oxygène nous a indiqué que notre souche isolée est à catalase positive ; caractéristique de *Klebsiella pneumoniae*.



Figure 17: test catalase

- Test oxydase

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

L'absence de la coloration violette révèle un résultat négatif sur le papier d'oxydase, donc notre souche isolée *Klebsiella pneumoniae* a une oxydase négative (**Figure 18**). Ces résultats sont compatibles avec celui trouvés par Nouri et Ziadi chibane (2015).



Figure 18 : test oxydase

4.2. La résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller-Hinton. Après 24h d'incubation et pour chaque antibiotique on mesure le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne et cela est fait à l'aide d'un pied à coulisse métallique. Deux boîtes sont utilisées pour tester la sensibilité de bactérie *Klebsiella pneumoniae* vis à-vis des antibiotiques :

Boîte 1 : Amikacine, Ofloxacine, Ciprofloxacine, Gentamycine, Colistine.

Boîte 2 : Amoxicilline + Acide clavulanique, Céftriaxone, Céfoxitime, Céfazoline, Ticarcilline, Imipenème.

La sensibilité aux antibiotiques : le diamètre mesurer permet donc d'indiquer si les germes sont sensibles ou résistants à l'antibiotique testé. Les diamètres critiques sont définis pour chaque antibiotique par le Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). Les diamètres d'inhibition autour des disques sont mesurés, puis ils sont comparés aux diamètres critiques rassemblés dans l'annexe 02.

Il convient de noter toutefois sur une fiche de résultat d'antibiogramme (Annexe 03), et on peut les classer en 3 catégories Sensible (S), Résistante (R), Intermédiaire (I) (annexe08).

4.2.1. Phénotypes de résistance

L'analyse phénotypique est réalisée sur 18 souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées au niveau de paillasse d'examen cyto bactériologique des urines. Deux souches est en faveur d'une production de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) représentées avec un pourcentage

de (11.1%), Le reste des souches (16 souches) représente les 88.9% de phénotype sauvage (Figure 19).

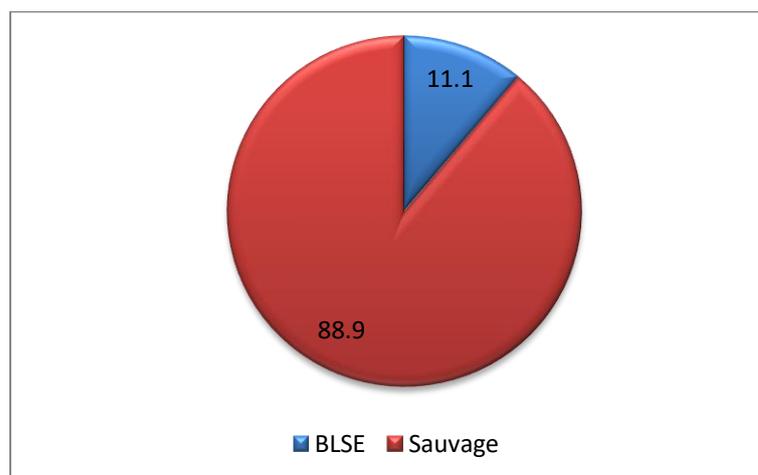


Figure 19 : Répartition des phénotypes de résistance de *Klebsiella pneumoniae*.

Klebsiella pneumoniae sont naturellement résistantes à l'Amoxicilline et la Ticarcilline due à la production d'une pénicillinase bas niveau. Pour le Céfotaxime, la résistance est de 44.4 %.

. Ces germes restent sensibles à l'imipénème et la Colistine (**tableau 03**).

Tableau 3 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques : n=18

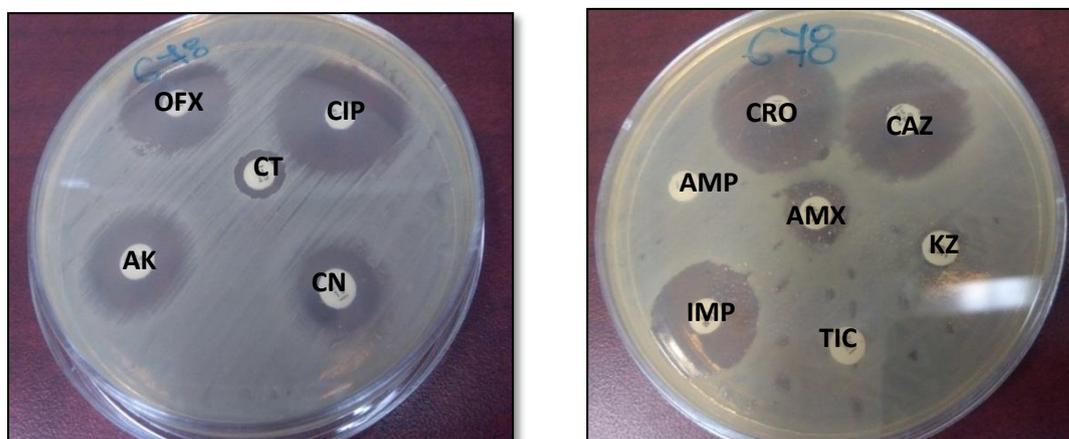
| Antibiotique | Nombre de souche (n) | Nombre de résistance | % de résistance |
|-------------------------------|----------------------|----------------------|-----------------|
| Amoxicilline+ Ac.clavulanique | 18 | 13 | 72.2 |
| Céfazoline | 18 | 13 | 72.2 |
| Céfotaxime | 18 | 8 | 44.4 |
| Imipénème | 18 | 0 | 0 |
| Gentamicine | 18 | 9 | 50 |
| Amikacine | 18 | 4 | 22.2 |
| Ciprofloxacine | 18 | 7 | 38.9 |
| Colistine | 18 | 0 | 0 |

4.2.1.1. Phénotype sauvage

Ce phénotype est le plus observé chez toutes les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées au niveau des prélèvements urinaires.

On remarque que notre souche est résistante aux antibiotiques qui appartiennent à la famille des bêta-lactamines (Ampicilline, Amoxicilline, Ticarcilline et Amoxicilline + acide clavulanique) et la céphalosporine de 2^{ème} génération, mais elle reste sensible aux autres

familles d'antibiotiques (**Figure20**). Ceci est dû à une résistance chromosomique intrinsèque, innée qui affecte toutes les souches de la même espèce.



Boite 1

Boite 2

Figure 20 : Résultat d'antibiogramme (Phénotype sauvage).

- **Les bêta- lactamines :**

La résistance de *Klebsiella pneumoniae* est élevée (100 %) aux bêta-lactamine à : Amoxicilline, Ampicilline, Ticarcilline. Cette résistance est due à la production de d'une β -lactamase de classe A (pènecillinase bas niveau) de nature chromosomique ce qui fait de ce germe naturellement résistant. Ces résultats sont en conformité avec ceux rapportés par Nabti et Mimouni, (2009).

En ce qui concerne l'association Amoxicilline+ acide clavulanique, on remarque que nos souches présentent un taux de résistance de 70,2 %. Ces résultats sont en conformité avec ceux de Nabti et Mimouni,(2009) qui ont trouvé un taux de résistance de 50% ; cependant, les travaux de Mérens et Malec,(2008) mentionnent un faible taux de 11,7%.

- **Les céphalosporines :**

Pour les céphalosporines de 1^{ère} génération, 72,2% des souches sont résistantes à la Céfazoline, pour les céphalosporines de 2^{ème} génération, 44,4% des souches sont résistantes à la Céfoxitime.

Selon les pourcentages obtenus on remarque que les céphalosporines sont moins actives sur les souches étudiées. Ces résultats sont en conformité avec les études de Nabti et Mimouni, (2009).

Pour l'imipénème, les souches de *K. pneumoniae* conservent une excellente sensibilité avec un taux de résistante de 0%, cette observation est en conformité avec celle rapportée par Nabti et Mimouni,(2009).

- **Les aminosides**

On note les taux de résistances suivants : 22,2% pour l'Amikacine et 50% pour Gentamycine, contrairement à nos résultats, le pourcentage de résistance à la gentamycine obtenu par Mérens et Malec (2008) est de 5% c-à-d. que notre souche a développé une résistance à Amikacine et à la gentamycine. De plus, on note que notre souche est sensible à la colistine à 100%.

- **Les Quinolones**

Les souches de *K. pneumoniae* étudiées présentent un taux de résistance égale à 38,9% pour les fluoroquinolones, ciprofloxacine. On remarque que ce taux est élevé, résultats éloignés des taux rapportés par Sakhri (2011), qui révèle des taux égaux à 0% pour Ciprofloxacine.

Plus de détails sur le Profil de la résistance (sauvage) aux antibiotiques des souches isolées de *Klebsiella pneumoniae* sont mentionnés dans le tableau 4 et la figure 22.

Tableau4 : Profil de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* sauvage.

| | pénicilline | | | | Céphalosporine | | | Carba | Aminoside | | Quinolone | | | Divers | |
|---------------|-------------|-----|-----|-----|----------------|----|-----|-------|-----------|----|-----------|----|-----|--------|----|
| | AMP | AMX | AMC | TIC | PIP | KZ | CAZ | CRO | IMP | AN | GN | NA | OFX | CIP | CT |
| Urines | R | R | S | R | R | S | S | S | S | S | R | R | R | R | S |
| | R | R | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| | R | R | S | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| | R | R | S | R | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S |
| | R | R | R | R | R | R | S | S | S | S | S | R | R | R | S |
| | R | R | R | R | R | R | S | S | S | S | R | S | S | S | S |
| | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | R | R | R | R | S |
| | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | R | R | R | R | S |
| | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S | S | S | S |
| | R | R | S | R | R | R | R | R | S | S | R | S | S | S | S |
| | R | R | R | R | R | R | S | S | S | S | S | S | R | S | S |
| | R | R | R | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | R | S | S | S | S |
| | R | R | S | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |

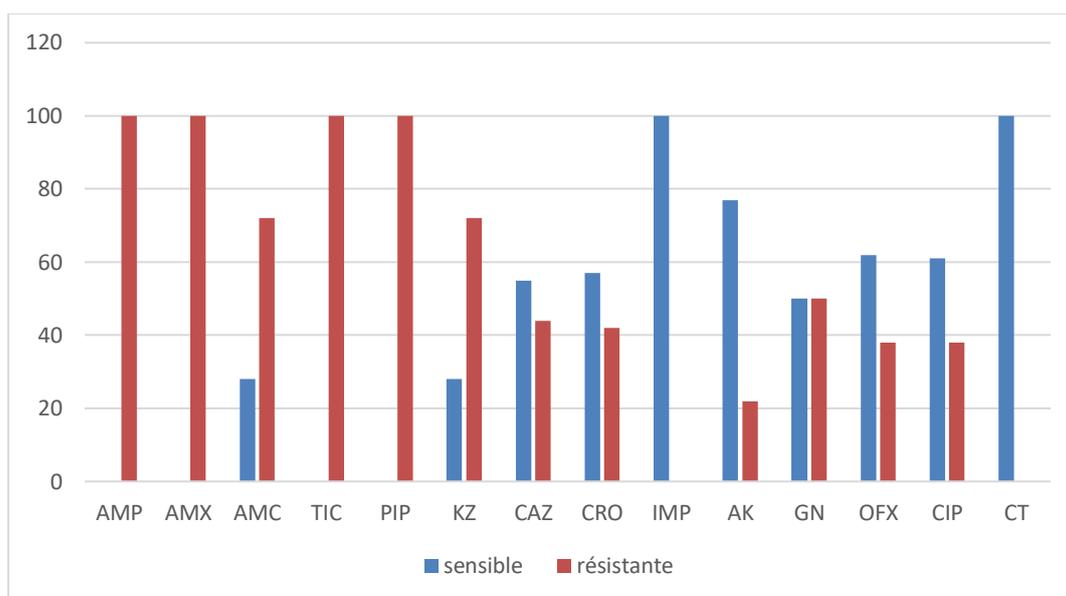
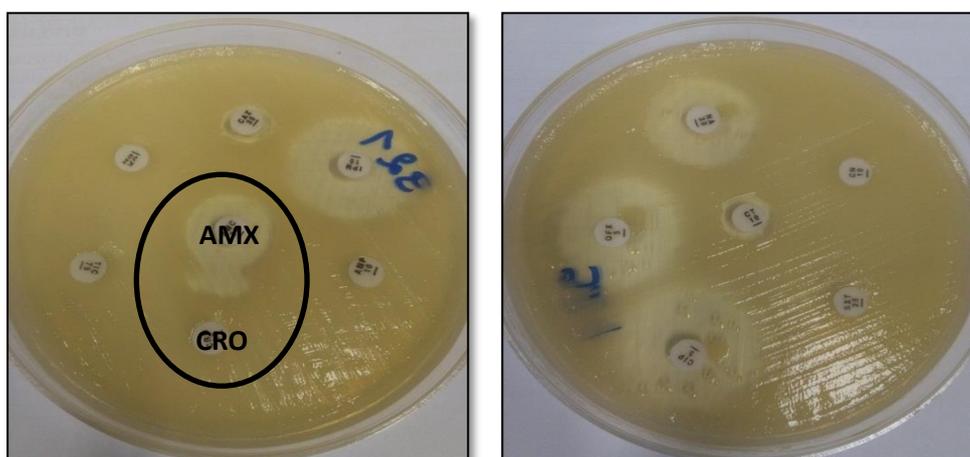


Figure 22 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* sauvage n=18

4.2.1.2. Phénotype « BLSE »

Ce phénotype affecte une fraction des souches au sein d'une espèce bactérienne.

La présence de phénotype BLSE a été confirmée par des images de synergie caractéristiques entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de 3ème génération (**Figure 23**).



Boite 1

Boite 2

Figure 24 : Résultat d'antibiogramme (phénotype BLSE)

Parmi les 18 souches observées de *Klebsiella pneumoniae*, deux souches isolées présentes le phénotype de Bêta-lactamase à spectre étendue avec un pourcentage de 11,1%.

Ces souches sont résistantes à toutes les familles d'antibiotique mais reste toujours sensible à l'imipénème et la Colistine (tableau 5 et Figure 24).

Tableau 5: Profil de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*(BLSE).

| Urines | Pénicilline | | | | | Céphalosporine | | | Carbapénème | Aminoside | | Qn /Fqn | | Divers |
|--------|-------------|-----|-----|-----|-----|----------------|-----|-----|-------------|-----------|----|---------|-----|--------|
| | AMP | AMX | AMC | TIC | PIP | KZ | CAZ | CRO | IPM | AK | GN | OFX | CIP | CT |
| | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R |
| R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R | S |

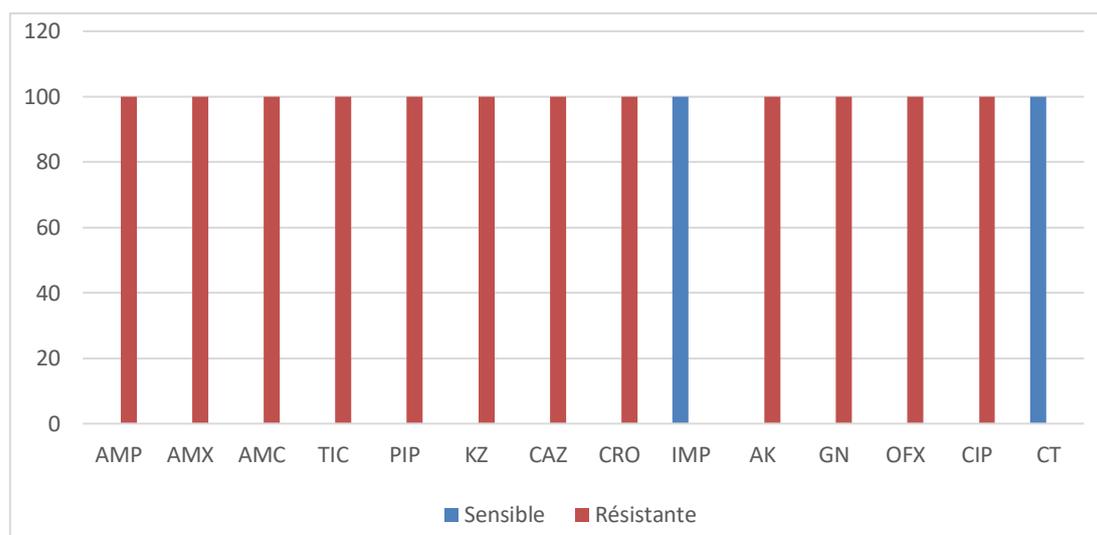


Figure 24: Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* BLSE

Ce phénotype nécessite la réalisation des tests de confirmation comme le test de double disque « test espagnole ».

4.3. Analyses statistiques

L'étude statistique est analysée à partir d'une étude rétrospective réalisée sur une période de 2 ans (2017-2018) par des données obtenues des registres de réception au niveau du laboratoire.

Un total de 178 souches de *Klebsiella pneumoniae* est étudié. De plus, les analyses statistiques de l'année 2019 (étude prospective) a révélé 18 cas touchés par la même souche uropathogène.

4.3.1. Distribution des souches *Klebsiella pneumoniae* selon l'origine du prélèvement

D'après les résultats illustrés au-dessus une prédominance des souches hospitalières avec une moyenne de 65% par rapport aux souches communautaires avec une moyenne de 35% (**tableau 6 et figure 25**). Conformément aux données de la littérature, l'espèce *Klebsiella pneumoniae* est plus fréquemment isolée à l'hôpital qu'en communauté. Ces résultats sont concordants avec ceux de Nouri et Ziadi (2015)

Tableau 6 : Répartition selon l'origine de prélèvement.

| Origines | 2017 (J-D) | | 2018 (J-D) | | 2019 (J-A) | |
|------------------------------|---------------|------|---------------|------|---------------|-------|
| | Effectifs | % | Effectifs | % | Effectifs | % |
| Souches hospitalières | 53 | 68.8 | 60 | 72.3 | 11 | 54.54 |
| Souche communautaires | 24 | 31.2 | 23 | 27.7 | 7 | 45.46 |
| Totales | 77 | 100 | 83 | 100 | 18 | 100 |

J : Janvier **D** : Décembre **A** : Avril

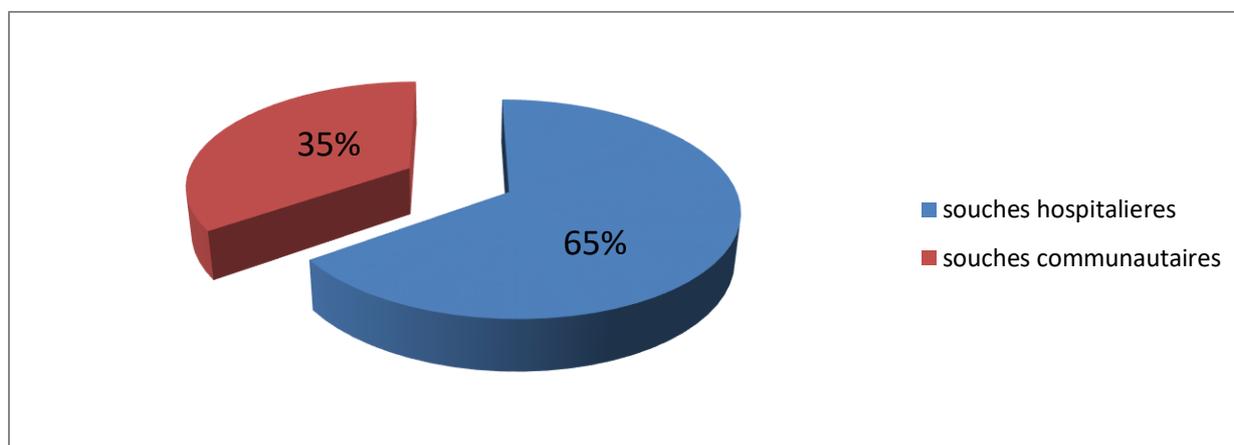


Figure 25 : Repartition des souches *Klebsiella pneumoniae* selon l'origine de prélevemnt

4.3.2. Distribution des souches *Klebsiella pneumoniae* selon le sexe

D'après les résultats, l'infection à *Klebsiella pneumoniae* au niveau de l'hôpital touche plus la population masculine avec une fréquence moyenne de 53% par rapport à la population féminine qui ne représente que 47% (**tableau7 et figure 26**). Ces résultats sont expliqués par la prédominance des hommes au niveau des services et sont concordants avec ceux de Boughachiche et Sebais (2016) avec une prédominance masculine trouvées qui arrive jusqu'au 55% hommes et 45% femmes.

Tableau 7 : Répartition globale des populations selon le sexe

| Sexe | 2017 (J-D) | | 2018 (J-D) | | 2019 (J-A) | |
|--------------|---------------|------|---------------|-----|---------------|------|
| | Effectifs | % | Effectifs | % | Effectifs | % |
| Homme | 34 | 44.2 | 51 | 61 | 11 | 61.1 |
| Femme | 43 | 55.8 | 32 | 39 | 7 | 38.9 |
| Total | 77 | 100 | 83 | 100 | 18 | 100 |

J : Janvier D : Décembre A : Avril

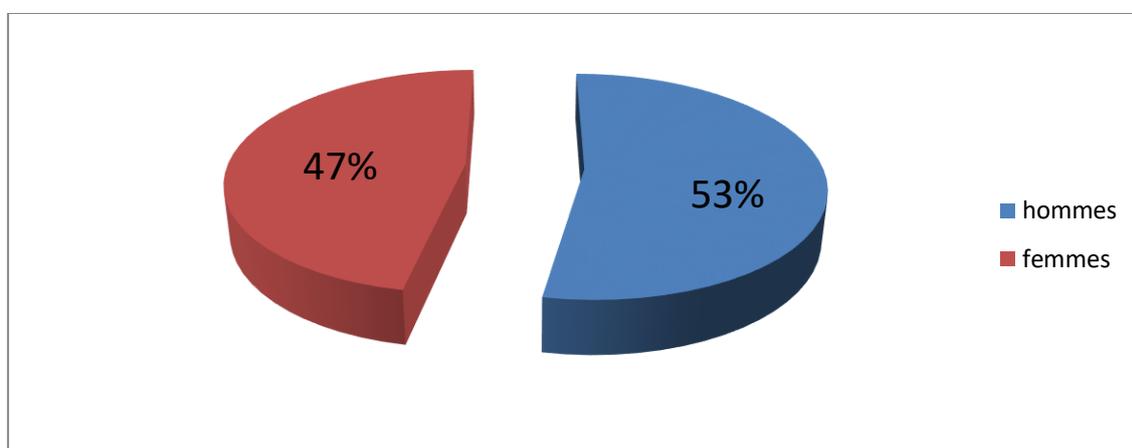


Figure26 : Distribution globale des patients atteints d'infection à *Klebsiella pneumoniae* selon le sexe.

4.3.3. Fréquence d'isolement de *Klebsiella pneumoniae* par rapport aux autres germes

La distribution totale des espèces isolées des prélèvements urinaires, montre que la prédominance d'*Escherichia coli* et qui occupe la première place avec 49,27%. Tandis que *Klebsiella pneumoniae* occupe la deuxième place avec 25,7%. En troisième et quatrième positions on trouve les Levures et *Pseudomonas aeruginosa* avec 29,7 % et 17,5 respectivement. Pour l'ensemble des souches *Staphylococcus aureus*, *Entérocoque faecalis*,

Streptocoque B, il est clair qu'elles représentent 5% (tableau8 et figure 27). Ces résultats sont en bonne accord avec ceux obtenus par Bezziche et Bounemur (2018) qui ont noté que *Klebsiella pneumoniae* occupe toujours la 2ème place parmi les germes responsables des infections urinaires.

Tableau8: Répartition globale des germes isolés des prélèvements urinaires.

| Germes | 2017 (J-D) | | 2018 (J-D) | | 2019 (J-A) | |
|-----------------------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|
| | Effectifs | % | Effectifs | % | Effectifs | % |
| <i>E. coli</i> | 110 | 50,2 | 202 | 52,7 | 22 | 44,9 |
| <i>K. Pneumoniae</i> | 54 | 24,7 | 83 | 21,7 | 15 | 30,6 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 18 | 8,2 | 27 | 3,2 | 3 | 6,1 |
| <i>Entérocoque sp</i> | 6 | 2,7 | 9 | 2,3 | 1 | 2,04 |
| <i>Levure</i> | 17 | 7,8 | 29 | 7,6 | 7 | 14,3 |
| <i>S.aureus</i> | 4 | 1,8 | 9 | 2,3 | 0 | 0 |
| <i>P. mirabilis</i> | 8 | 3,6 | 9 | 2,3 | 0 | 0 |
| <i>Streptocoque B</i> | 1 | 0,5 | 9 | 2,3 | 1 | 2,04 |
| <i>E. faecalis</i> | 1 | 0,5 | 6 | 1,6 | 0 | 0 |

J : Janvier D : Décembre A : Avril

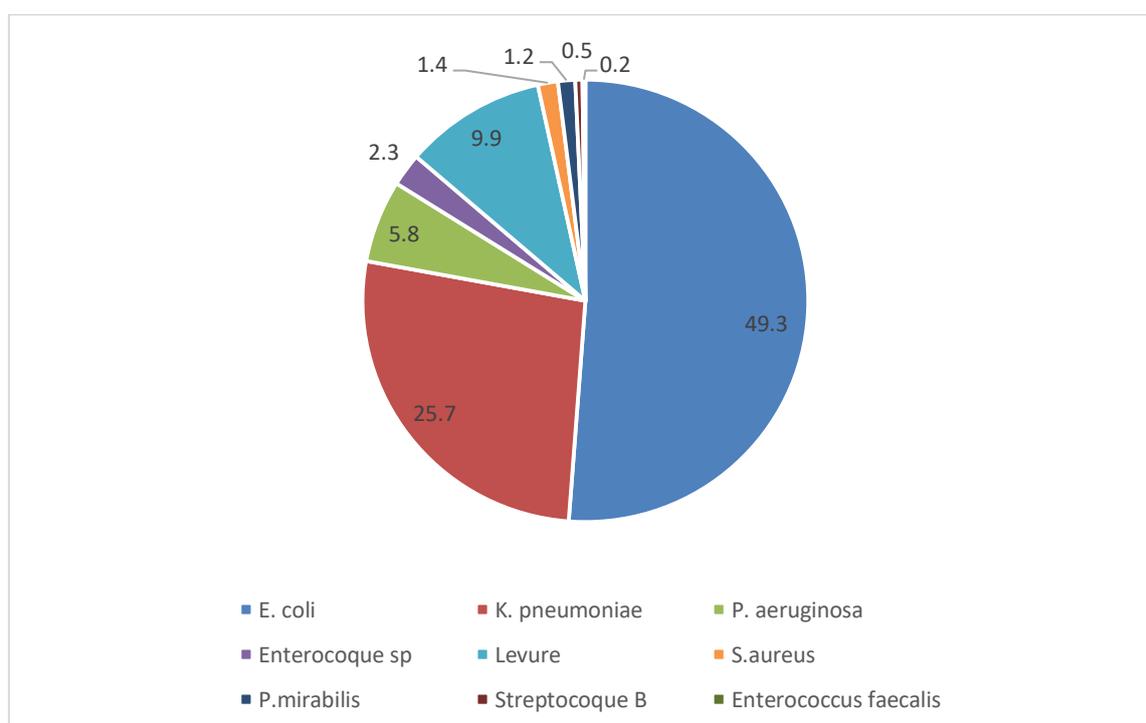


Figure27 : Répartition globales des germes provoquant des infections urinaires.

4.3.4. Répartition de *K. pneumoniae* en fonction de services :

La figure 28 et le tableau 9 montrent la répartition de *Klebsiella pneumoniae* en fonction de service. Le service de médecine interne occupe la première position avec 23,7%, suivi par le service de réanimation qui représente 18%. Il vient en troisième position le service de néphrologie avec 15,5%, suivi par le service de pédiatrie avec 10% puis le service de gastrologie avec 8,1 % ensuite, le service d'urologie qui vient en sixième position avec 3,4% puis le service d'urgence avec 6% et en huitième place en classe le service gynécologie et des maladies infectieuses avec 4%. En dernier, on trouve le service de neurologie et oncologie avec 2,5%. Nos résultats concernant notre souche (*Klebsiella pneumoniae*) sont, en partie, en bon accord avec ceux obtenus par **Gasmi et Salhi** (2018) concernant la classification des services de médecine interne, de réanimation et des infections urinaires globale ; Tandis qu'il existe une différence entre nos résultats et les résultats de ces auteurs concernant le service de gynécologie (pourcentage de 13,33). Cette différence est probablement liée à l'hygiène de l'individu ou à l'environnement dans le service lui-même.

Tableau 9 : Répartition de *Klebsiella pneumoniae* isolée en fonction de services

| Services | 2017 (J-D) | | 2018 (J-D) | | 2019 (J-A) | |
|----------------------------|---------------|------|---------------|----|---------------|------|
| | N° de cas | % | N° de cas | % | N° de cas | % |
| Médecine interne | 2 | 9,5 | 14 | 28 | 6 | 33,3 |
| Gastrologie | 3 | 14,3 | 1 | 2 | 0 | 0 |
| Réanimation | 4 | 19 | 9 | 18 | 3 | 16,7 |
| Urologie | 0 | 0 | 2 | 4 | 1 | 5,5 |
| Urgence | 2 | 9,5 | 4 | 8 | 0 | 0 |
| Néphrologie | 5 | 23,8 | 3 | 6 | 3 | 16,7 |
| Neurologie | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 5,5 |
| Oncologie | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 5,5 |
| Gynécologie | 1 | 4,8 | 1 | 2 | 1 | 5,5 |
| Maladie infectieuse | 0 | 0 | 6 | 12 | 0 | 0 |
| Pédiatrie | 3 | 14,3 | 2 | 4 | 1 | 11,1 |

J : Janvier **D** : Décembre **A** : Avril

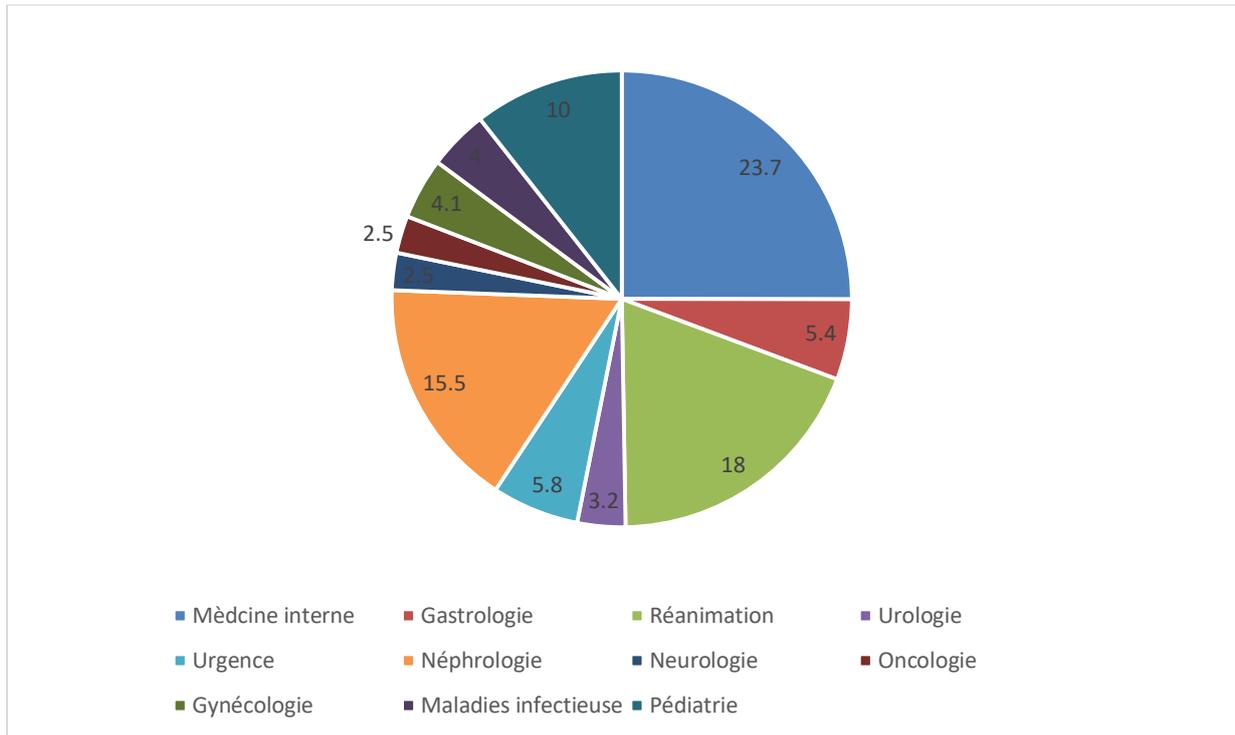


Figure 18 : Répartition de *Klebsiella Pneumoniae* en fonction de services.

Conclusion

5. Conclusion

Notre travail a concerné une étude rétrospective et prospective afin d'étudier le profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* au niveau de laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine. De ce fait, et après isolement et identification des souches par la galerie Rapid one, il a été collecté 18 souches de type *K. pneumoniae* à partir des urines

De ces souches et après avoir faire les tests de sensibilité bactériennes vis-à-vis différents antibiotiques, on constate deux phénotypes différents de *K. pneumoniae*:

- Le premier type de souches représente des souches sauvages (avec 88,9 %), qui résistent naturellement aux bêta-lactamines.
- Le deuxième type de souches représente des souches résistantes (avec 11,1%), par la production de bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE).

L'étude rétrospective (dans la période du Janvier 2017 à Décembre 2018), plus, l'étude statistiques prospective de l'année 2019, ont été analysés suivants : l'origine de prélèvement, sexe des patients, la classification par rapport aux autres germes et selon les services.

D'après les résultats, il a été remarqué que les pourcentages les plus élevés reviennent aux souches hospitaliers (65%), la population masculine (53%), *Klebsiella pneumoniae* qui occupe la deuxième place avec pourcentage (25,7%) Et selon les services, la médecine interne prédominance (23,7%), respectivement.

Face à nos résultats de résistance, il est indispensable de faire un suivi continu de l'évolution de cette dernière aux agents antimicrobiens est donc crucial pour guider le praticien dans son choix de traitement.

La lutte contre la transmission croisée est fondamentale. Il convient pour cela de dépister au plus vite les patients colonisés par des germes multirésistants qui constituent un réservoir et d'appliquer une stratégie d'isolement spécifique destinée à protéger les autres malades. Par ailleurs, nous conseillons d'utiliser les antibiotiques correctement et surtout lorsqu'il est vraiment nécessaire pour éviter tout phénomène de résistance.

Nous recommandons aussi de mettre en œuvre une stratégie, une réglementation et un contrôle rigoureux de l'hygiène en milieu hospitalier pour limiter de la dissémination des bactéries.

Références

bibliographiques

6. Références bibliographique

1. Abalikumwe F. , Investigation sur les bacteries responsables d'infection urinaires et leur diagnostic, Mémoire de Fin d'étude de Licencie en Sciences Biomédicales(2004), Kigali Health Institute - Rwanda.
2. N. ARAFA , F. SMATI, J. M. SCHEFTEL, O. MEUNIER, Caracterisation Phenotypique et Genotypique de Souches de Klebsiellapneumoniae Subsp pneumoniae Isolées à l'Hopital Universitaire de Constantine, Algerie, Sciences & Technologie C – N°30 Décembre (2009), pp.43-49.
3. Archambaud M., Clave D., Fiche technique : Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU Toulouse.(2008) Fiche technique-Bactériologie 83 EN.FTBAC.14610611.01.
4. Avril JL., Dabernat H., Denis F. et MONTEIL H., Bactériologie clinique. 2^{ème} ed. Ellipses 2000- Paris, PP 149-153.
5. Ben Haj Khalifa A. et Khedher M. , Epidémiologie des souches de Klebsiella spp.uropathogènes productrices de β -lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien, Pathologie Biologie 60 N°2 (2012) e1-e5.
6. Bennet, R., M. Eriksson, B. Melen, and R. Zetterstrom. 1985. Changes in the incidence and spectrum of neonatal septicemia during a fifteen-year period. Acta Paediatr.Scand. 74(1985) pp687-690.
7. Botelho-Nevers E., Gouriet F., Lepidi H., Couvret A., Amphoux B., Dessi P., Raoult D., Chronic nasal infection caused by Klebsiella rhinoscleromatis or Klebsiella ozaenae: two forgotten infectious diseases, International Journal of Infectious Diseases Vol. 11 N°5(2007), pp423—429.
8. Brisse S, Grimont F Et Grimont P. A. D., The Genus Klebsiella, Prokaryotes, Vol. 6 (2006) pp 159-196.
9. Brisse S., Duijkeren E V., Identification and antimicrobial susceptibility of 100 Klebsiella animal clinical isolates. Veterinary Microbiology, Vol. 105 N°(3-4)(2005) pp: 307-312.
10. Bryskier A., Antibiotiques, Agent antibactériens et antifongiques., ed. Ellipses (1999); Paris, pp : 54- 436-445.
11. Carl S., La Résistance aux antibiotique : un enjeu de santé publique imporant.le parrainage des antimicrobiennes, Pharmactuel, Vol.42 N°2 (2009) .pp47 .
12. Carniel, E., The Yersinia high-pathogenicity island, Int. Microbiol., Vol. 2(1999).pp161-167.

13. Carpenter, J. L., Klebsiella pulmonary infections: occurrence at one medical center and review, *Rev. Infect. Dis.*, Vol.12 (1990) pp672-682.
14. Strampfer, M. J., P. E. Schoch, and B. A. Cunha, Cerebral abscess caused by *Klebsiella ozaenae*. *J.Clin.Microbiol.* Vol.25 (1987) pp1553-1554.
15. Chung K.I, Lim T.H, Koh Y, Song J.H, KimW.S, Choi J, Mand Aush Y.H. 1992. Nosocomial pneumonia in medico-surgical intensive care unit. *J. Korean Med. Sci.*, Vol.7(1992) pp241-251.
16. Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie, 1997. (s.d.).
17. Dabernat, H., O. Petitjean, and S. J. P. W. P. Schlemmer. *Infectiologie de A à Z* (1997).pp354-355.
18. El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R., Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. *PATBIO-3048*; (2012) p8.
19. Eyquem A, Alouf J, Montagnier L. *Traite de microbiologie clinique : deuxième mises a jour et compléments*. Piccin, (2000) p84.
20. Freney J, R. F., Hansen W, and Bollet TC., *Précis de bactériologie clinique* (2000).
21. Fung C.P, Hu B.S, Chang F.Y., A 5-year study of the seroepidemiology of *Klebsiella pneumoniae*: high prevalence of capsular serotype K1 in Taiwan and implication for vaccine efficacy, *J. Infect. Dis.*, Vol. 181(2000) pp 2075-2079.
22. George M Garrity., Julia A Bell et Timothy G Lilburn. 2004. Taxonomic Outline of the Prokaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition*.DOI : 10.1007/bergesoutline 200405.
23. Gueudet T., Richter S., Szulc M et Jehl F., Les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques : deux cas de *Klebsiella pneumoniae* produisant une céphalosporinase plasmidique. *MEDMAL-2927*(2009) pp:3.
24. Hazggman S, L. S., An allelic variant of the chromosomal gene of class A beta-lactamase specific of *Klebsiella pneumoniae*. *anti-microbiel agents and chemtherap*, (1997) pp 2705-2709.
25. Held T.K, J. N., Binding to an Opsonophagocytic Activity of O-antigen-specific Monoclonal antibodies against Encapsulated and nonencapsulated *Klebsiella pneumoniae* serotype O1 strains. *Infect Immun*, Vol.68.N°5 (2000) pp2402-2409.
26. Hennequin C., Forestier C. 2007. Influence of capsule and extended-spectrum betalactamases encoding plasmids upon *Klebsiella pneumoniae* adhesion, *Research in Microbiology*, Vol.158(2007)pp 339-347.

27. Hsieh P-F., Lin TL., Yang FL., Wu M-C., Pan YJ., Wu S H., Wang J T. 2012. Lipopolysaccharide O1 Antigen Contributes to the Virulence in *Klebsiella pneumoniae* Causing Pyogenic Liver Abscess, Vol 7.N° 3 (2012) e33155.
28. Iliquer M. (2010). Epidémiologie et caractérisation moléculaire de souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération hors BLSE, isolées entre 2007 et 2009, au C.H.U de Nantes. Université de Nantes-France, p 123.
29. <https://slideplayer.fr>. (s.d.).
30. Fauchère, J.L., *Bactériologie générale et médicale*. Ellipses,(2002) ISBN:9782729807474
31. Janda, J. M., & Abbott, S. L., *The Genera Klebsiella and Raoultella. The Enterobacteria* (2nd ed., (2006) pp. 115-129). Washington, USA: ASM Press.
32. Jarlier V et Nordmann P., Entérobactéries et β -lactamines. ESKA 2000-Précis de bactériologie clinique.
33. Joly B et Reynaud A., Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic., ed. LAVOISIER,(2002) pp 79,80,83.
34. Lai Y.C, Yang S.L, Peng H.L, Chang H.Y., Identification of genes present specifically in a virulent strains of *Klebsiella pneumoniae*, *J. Infect. Immun.*, Vol,68 (2000) pp 7149-7151.
35. Lemozy J. Sirot D. Chanal C. Huc C. Labia R. Dabernat H. Sirot J., First characterization of inhibitor-resistant tem (irt) beta-lactamases in *klebsiella pneumoniae* strains, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*, Vol.39 N°11(1995) pp 2580-2582.
36. Leshner, G. Y., E. J. Froelich, M. D. Gruett, J. H. Bailey, and R. P. Brundage., 1,8-naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents, *J. Med. Pharm. Chem.* Vol 91(1962) pp1063-1065.
37. Letonturier D., *Infections urinaires basses : nouvelles données* », Paris, Médecine, Vol. 2,N°4(2006) pp 150.
38. Mérens A. et Malec J.Y., Evolution de la resistance aux antibiotiques des entérobactéries, l'ONERBA (2008), France.
39. Le Minor L and Véron M. 1989. *Bactériologie médicale*, 2^{ème} édition , Flammarion Médecine-Sciences, Paris.2:428-432.
40. Modibo, F., *Role pathogène et sensibilité aux antibiotiques des Acinetobacter et des Staphylococcus à coagulasse négatif à l'hopitale du point G*. Thèse de *Doctorat*(2006) Université Mouloud Mammeri Algerie .
41. Sekhri –Arafa N., 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 (2011).

42. Nabti M, Mimouni K., Incidence d'Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, et Proteus mirabilis dans les infections urinaires et leur résistance aux antibiotiques. Université Mentouri. Mémoire de diplôme de master (2009).
43. Nordmann P et Carrer A., Les carbapénèmes des entérobactéries. Archives de pédiatrie, Vol.17(2010) pp154-162.
44. Ofek I, Messika A, Kalina M, Keisari Y, Podschun R, Sahly H, Chang D, McGregor D, Crouch E., Surfactant protein D enhances phagocytosis and killing of unencapsulated phase variants of Klebsiella pneumoniae. Infect. Immun. Vol 69 (2001) pp 24-33.
45. Raud P., Etude de la diversité génétique des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de beta-lactamases à spectre étendu (BLSE), isolées au CHU de Nantes-France,(2003) pp 39-41,77-79.
46. Podschun, R. and U. Ullmann., *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin.Microbiol.Rev.,Vol.11(1998) pp 589-603.
47. Sebghati, T. A., T. K. Korhonen, D. B. Hornick, and S. Clegg., Characterization of the type 3 fimbrial adhesins of *Klebsiella* strains. Infect.Immun. Vol.66 (1998) pp2887-2894.
48. Strampfer, M. J., P. E. Schoch, and B. A. Cunha., Cerebral abscess caused by *Klebsiella ozaenae*. J. Clin. Microbiol., Vol. 25(1987) pp1553-1554.
49. Struve C, Bojer M, Krogfelt K.A., Characterization of *Klebsiella pneumoniae* type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on virulence. J. Infect. Immun., Vol.76 N°9 (2008) pp 4055-65.
50. Yala D., Merad A.S., Mohamedi D et Ouar Korich M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb n°91.

Résumés

Résumé

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste responsable des infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter. De même, il est responsable des épidémies qui sont causées par des souches résistantes à une large variété d'antibiotiques.

Notre étude est menée au laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine ; sur une période de 4 mois (Janvier à Avril 2019).

Le but de cette étude est l'identification des souches isolées à partir de prélèvements urinaires reçus de différents services, ainsi que la détermination de leur profil de sensibilité vis-à-vis différents antibiotiques.

D'une part, l'étude prospective montre un total de 18 souches. Parmi elles, deux (qui représentent 11.1%), sont productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Elles sont résistantes à la majorité des antibiotiques mais restent toujours sensible à l'imipénème et la Colistine. De plus, 16 souches (88.9%) présentent le phénotype sauvage avec une fréquence de résistance naturelle estimée à 100 % aux Beta-lactamines (Amoxicilline, Ampicilline) et 70,2 % à Amoxicilline+ acide clavulanique. En outre, Ces souches sont résistantes aux céphalosporines (72,2% à la Céfazoline), malgré qu'elles représentent une sensibilité totale à l'imipénème. Pour les autres antibiotiques ces souches présentent une sensibilité à 100% à la colistine et 50% à la Gentamycine ; pour les Quinolones elles représentent un taux de résistance de 38,9% aux fluoroquinolones et ciprofloxacines.

D'autre part, l'étude statistique réalisée (2017 à 2018) estime un total de 178 souches de *Klebsiella pneumoniae*. De cette étude, il a été remarqué que les pourcentages les plus élevé reviennent aux souches hospitalières (65%), la population masculine (53%), *Klebsiella pneumoniae* occupe la deuxième place avec pourcentage (25,7%), et selon le service, la médecine interne prédominance (23,7%) respectivement.

Enfin, la surveillance régulière des mécanismes de résistance est indispensable pour définir des stratégies préventives et l'usage plus rationnel des antibiotiques.

Mots clés : infection urinaire, *Klebsiella pneumoniae*, résistance, antibiotiques, phénotype sauvage, BLSE.

Abstract

Klebsiella pneumoniae is an opportunistic pathogen responsible for severe and difficult-to-treat nosocomial infections. He is also responsible for outbreaks that are caused by strains resistant to a wide variety of antibiotics.

Our study is conducted in the Bacteriology laboratory of the Military Regional University Hospital of Constantine ; over a period of 4 months (January to April 2019).

The purpose of this study is the identification of strains isolated from urinary samples received from different departments, as well as the determination of their sensitivity profile vis-à-vis various antibiotics.

On the one hand, the prospective study shows a total of 18 strains. Of these, two (representing 11.1%) are producing extended spectrum β -lactamases (ESBL). They are resistant to the majority of antibiotics but are still sensitive to imipenem and Colistin. In addition, 16 strains (88.9%) have the wild type phenotype with a natural resistance frequency estimated at 100% Beta-lactams (Amoxicillin, Ampicillin.) And 70.2% Amoxicillin + Clavulanic acid. In addition, these strains are resistant to cephalosporins (72.2% Cefazolin), although they represent a total sensitivity to imipenem. For other antibiotics these strains are 100% sensitive to colistin and 50% gentamicin; for Quinolones they represent a resistance level of 38.9% to fluoroquinolones and ciprofloxacin.

On the other hand, the retrospective statistical study carried out (2017 to 2019) estimates a total of 178 strains of *Klebsiella pneumoniae*. From this study, it was noted that the highest percentages are for hospital strains (65%), the male population (53%), *Klebsiella pneumoniae* is in second place with percentage (25.7%) and according to the service, internal medicine predominates (23.7%).

Finally, regular monitoring of resistance mechanisms is essential to define preventive strategies and the more rational use of antibiotics.

Key words: urinary tract infection, *Klebsiella pneumoniae*, resistance, antibiotics, wild phenotype, BLSE.

المخلص

Klebsiella pneumoniae هي مسببة مرضية انتهازية مسؤولة عن الالتهابات المستشفيات الحادة التي يصعب علاجها. وهو مسؤول أيضًا عن تفشي الأمراض الناجمة عن سلالات مقاومة لمجموعة كبيرة من المضادات الحيوية. أجريت دراستنا في مختبر البكتيريا في مستشفى الجامعة الإقليمية العسكرية في قسنطينة؛ خلال فترة 4 أشهر (من يناير إلى أبريل 2019).

والغرض من هذه الدراسة هو تحديد سلالات معزولة من عينات البولية الواردة من أقسام مختلفة، وكذلك تحديد الشخصية الحساسة تجاه مختلف المضادات الحيوية.

من ناحية، أظهرت الدراسة المرتقبة أن مجموعة 18 سلالة. اثنان من هذه السلالة تقدر بنسبة (11.1%) تنتج β -lactamase ذات مجال واسع ممتدة (BLSE). فهي تقاوم غالبية المضادات الحيوية لكنها لا تزال حساسة *l'imipenème* و *colistine*. بالإضافة إلى ذلك، فإن 16 سلالة (88.9%) لديها النمط الظاهري من النوع البري مع تردد مقاومة طبيعية تقدر ب 100% β -lactamine وندكر منها (*Amoxicilline*, *Ampicilline*). و 70.2% *Amoxicilline+ acide clavulanique*. بالإضافة إلى ذلك، هذه السلالات تقاوم *céphalosporines* (72.2%)، *Céfazoline*، على الرغم من أنها تبدي حساسية كاملة بالنسبة للمضادات الحيوية الأخرى مثل *l'imipenème*، فإن هذه السلالات حساسة بنسبة 100% *colistine* و 50% من *Gentamycine*؛ بالنسبة *Les Quinolones*، يمثلون مستوى مقاومة قدرها 38.9% *fluoroquinolones* و *ciprofloxacines*.

من ناحية أخرى، فإن الدراسة الإحصائية باثر رجعي التي أجريت في الفترة الممتدة بين (2017 و 2019) تقدر بمجموع 178 سلالة من *Klebsiella pneumoniae*. وفي هذه الدراسة، لوحظ أن أعلى النسب هي لسلالات المستشفى (65%)، السكان الذكور (53%)، و *Klebsiella pneumoniae* في المرتبة الثانية بنسبة (25.7%) ووفقا للمصلحة ليسود الطب الداخلي (23.7%) بالترتيب.

أخيرًا، المراقبة المنتظمة لآليات المقاومة ضرورية لتحديد الاستراتيجيات الوقائية والاستخدام الأكثر عقلانية للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: عدوى المسالك البولية، *Klebsiella pneumoniae*، المقاومة، المضادات الحيوية، النمط الظاهري البري، BLSE.

Annexes

Annexe 01 : Fiche de renseignement d'examen cyto bactériologique des urines au niveau de l'hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC).

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 MINISTERE DE LA DEFENSE NATIONALE
 5^e REGION MILITAIRE
 HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE
 BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE
 LABORATOIRE CENTRAL – UNITE DE MICROBIOLOGIE
 Poste : 50-551

EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES (E.C.B.U)

NOM : **SERVICE** :
PRENOM : **DATE DE RECEPTION** :
AGE : **N° D'ORDRE** :

RESULTAT

CLAIR TROUBLE HEMORRAGIQUE PURULENT

1) EXAMEN MICROSCOPIQUE :

LEUCOCYTES :/mm³ (Seuil= 10/mm³)

EPITHELIALES : ABSENCE RARES NOMBREUSES TRES NOMBREUSES
 BACTERIES : ABSENCE RARES NOMBREUSES TRES NOMBREUSES
 (Bacilles – Cocci)
 EPITHELIALES : ABSENCE RARES NOMBREUSES TRES NOMBREUSES

AUTRES :

1) CULTURE ET NUMERATION (germes / ml)

ABSENCE DE CULTURE ENTRE 10³ ET 10⁴
 INFERIEUR à 10³ SUPERIEUR à 10⁵

2) DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

ABSENCE D'INFECTION URINAIRE.
 PRELEVEMENT A REFAIRE. (VEUILLEZ RAPPELER LE N° DE CET EXAMEN).
 CULTURE CONTAMINEE.
 LEUCOCYTURIE SANS BACTERIURIE.
 AUTRES :

INFECTION URINAIRE A.....

HMRUC, le..... **LEMEDECIN**

Annexe 02: Lecture des résultats d'examen cyto bactériologique des urines ECBU.

| Leucocyteurie /mL | BacterieUFC/mL | Interprétation |
|-------------------|----------------|--|
| $\leq 10^4$ | $< 10^3$ | Pas d'infection |
| $\geq 10^4$ | $\geq 10^5$ | Infection urinaire |
| $< 10^4$ | $10^4 - 10^5$ | Bactériurie sans leucocyte • Contamination du prélèvement avec mise en culture tardive surtout si plusieurs espèces • Infection débutante • Infection sur terrain particulier : femme enceinte, nourrisson, diabétique ou aplasique, immunodéprimé Un nouveau prélèvement est nécessaire |
| $\geq 10^4$ | $< 10^3$ | Leucocyturie sans germe • Infection décapitée par traitement antibiotique précoce avant prélèvement. • Sécrétions génitales |

Annexe 03 : Milieu de culture (Composition en g / l d'eau distillée)• **Gélose nutritive**

| | |
|-------------------------|------|
| Extrait de viande..... | 01g. |
| Extrait de levure..... | 02g. |
| Peptone..... | 05g. |
| Chlorure de sodium..... | 05g. |
| Agar..... | 15g. |
| pH = 7,4 | |

• **Gélose Hektoen**

| | |
|---------------------------------------|-------|
| Protéose-peptone..... | 12g. |
| Extrait de levure..... | 03g. |
| Lactose..... | 12g. |
| Saccharose..... | 12g. |
| Salicine..... | 02g. |
| Citrate de fer III et d'ammonium..... | 1,5g. |
| Sels biliaires..... | 09g. |

Fuchsine acide.....0,1g.
 Bleu de bromothymol.....0,065g.
 Chlorure de sodium......05g.
 Thiosulfate de sodium......05g.
 Agar.....14g.
 pH = 7,5

- Gélose Mueller-Hinton

Infusion de la viande de bœuf.....300ml.
 Peptone de caséine.....17,5g.
 Amidon de maïs.....1,5g.
 Agar.....17g.
 pH = 7,4

Annexe 04: Catalogue analytique de la galerie RapID™ ONE.

| remel | | RapID™ ONE | | | | | | | | | | | | | | | | Report Form | | | |
|--|--|---|-----|-----|-----------------------|----|-----|-----|-----|------|------|------|-----|---|---|-------------------|-----|---|-----|--|--|
| Reference #, No. de référence, Referenz-Nr: _____ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Date, Date, Datum: _____ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tech, Tech, Techn.: _____ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Source, Source, Quelle: _____ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Reagent / Réactif / Reagenz | None, Aucun, Keine, | | | | | | | | | | | | | RapID ONE Reagent / Réactif RapID ONE / RapID ONE Reagens | None / Aucun / Keine | RapID Spot Indole | | | | | |
| Positive Reactions / Réactions positives / Positive Reaktionen | Red or violet / Rouge ou violet / Rot oder Violett | Bright Purple or blue / Violacé brillant ou bleu / Leuchtendes Purpur oder Blau | | | Yellow / Jaune / Gelb | | | | | | | | | Red / Rouge / Rot | Violet, purple, red, or dark pink / Violet, violacé, rouge ou rose soutenu / Purpur, Violett, Rot oder Dunkelrosa | | | Yellow or very light orange / Jaune ou orange très clair / Gelb oder sehr helles Orange | | Brown, black, or purple / Marron, noir ou violacé / Braun, Schwarz oder Purpur | |
| Cavity #, No. cavité / Kammer-Nr. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 18 | | |
| Test Code / Code du test / Testcode | URE | ADH | ODC | LDC | TET | LP | KSF | SBL | GUR | ONPG | BGLU | BXYL | NAG | MAL | PRO | GGT | PYR | ADON | IND | OOI | |
| Value / Valeur / Wert | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | |
| Result / Résultat / Ergebnis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Value Total / Total des valeurs / Gesamtwert | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

IDENTIFICATION / IDENTIFICATION / IDENTIFIZIERUNG _____



Microcode _____
 REMEL Inc 800-255-6730 Printed in USA 04/12

Annexe 05 : Principes et composants du système RapID™ ONE.

| N° de cavité | Code du test | Ingrédients réactifs | Quantité | Principe |
|--------------|--------------|---|----------|--|
| 1 | URE | Urée | 0,25 % | L'hydrolyse de l'urée produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur. |
| 2 | ADH | Arginine | 1,0 % | L'hydrolyse du substrat acide aminé produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur. |
| 3 | ODC | Ornithine | 1,0 % | |
| 4 | LDC | Lysine | 1,0 % | |
| 5 | TET | Thiol aliphatique | 0,2 % | |
| 6 | LIP | Ester d'acide gras | 1,0 % | L'hydrolyse de l'ester d'acide gras provoque la libération d'éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur. |
| 7 | KSF | Aldéhyde de glucose | 1,0 % | L'hydrolyse des hydrates de carbone produit des éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur. |
| 8 | SBL | Sorbitol | 1,0 % | |
| 9 | GUR | p-nitrophényl-β, D-glucuronide | 0,1 % | |
| 10 | ONPG | σ-nitrophényl-β, D-galactoside | 0,1 % | |
| 11 | βGLU | p-nitrophényl-β, D-glucoside | 0,1 % | |
| 12 | βXYL | p-nitrophényl-β, D-xyloside | 0,1 % | L'hydrolyse enzymatique du groupement glycoside ou phosphoester aryl substitué incolore entraîne la libération d'o- ou de p-nitrophényl jaune. |
| 13 | NAG | p-nitrophényl-N-acétyl-β, D-glucosaminide | 0,1 % | |
| 14 | MAL | Malonate | 0,5 % | L'utilisation du malonate produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur. |
| 15 | PRO | Proline-β-naphthylamide | 0,1 % | L'hydrolyse enzymatique du substrat arylamide entraîne la libération de β-naphthylamine libre qui est détectée par le réactif RapID ONE. |
| 16 | GGT | γ-glutamyl-β-naphthylamide | 0,1 % | |
| 17 | PYR | Pyrrolidonyl-β-naphthylamide | 0,1 % | |
| 18 | ADON | Adonitol | 1,0 % | L'hydrolyse des hydrates de carbone produit des éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur. |
| 18 | IND | Tryptophane | 0,4 % | L'utilisation du tryptophane provoque la formation d'indole qui est détecté par le réactif spot indole RapID. |

Annexe 06 : Interprétation Des tests biochimiques du système RapID ONE.

| N° de cavité | Code du test | Réactif | Réaction | | Commentaires |
|--------------|--------------|---------------------------|--|--|---|
| | | | Positif | Négatif | |
| 1 | URE | Aucun | Rouge ou violet | Jaune ou orange | Seule une coloration violacée ou rouge bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif. |
| 2 | ADH | Aucun | Violacé brillant ou bleu | Jaune, gris, paille ou vert-jaune | Seule une coloration violacée brillante ou bleue bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif. Les teintes jaunes, grises, paille, marron ou vertes sont à considérer comme une réaction négative. |
| 3 | ODC | | | | |
| 4 | LDC | | | | |
| 5 | TET | Aucun | Jaune | Rouge ou orange | Seule une coloration jaune bien définie dans toute la cavité doit être considérée comme la marque d'un test positif. Des couches de couleur jaune ne doivent pas être considérées comme un résultat positif. Il peut être nécessaire de mélanger le contenu des cavités avec un bâtonnet applicateur pour faciliter la lecture. |
| 6 | LIP | | | | |
| 7 | KSF | | | | |
| 8 | SBL | | | | |
| 9 | GUR | Aucun | Jaune | Légère coloration ou brun clair | Seule une coloration jaune bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif. Des teintes jaune pâle ou non définies doivent être considérées comme un résultat négatif. |
| 10 | ONPG | | | | |
| 11 | βGLU | | | | |
| 12 | βXYL | | | | |
| 13 | NAG | Aucun | Rouge | Jaune ou orange | Seule une coloration rouge bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif. Des nuances orangées sont à considérer comme une réaction négative. |
| 14 | MAL | | | | |
| 15 | PRO | | | | |
| 16 | GGT | Réactif RapID ONE | Violet, violacé, rouge ou rose soutenu | Légère coloration, jaune, orange ou rose très pâle | Seule une coloration violette, violacée, rouge ou rose foncée bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif. L'orange jaune pâle ou les nuances rosâtres sont à considérer comme négatives. |
| 17 | PYR | Aucun | Jaune ou orange très clair | Rouge ou rouge orangé foncé | Toute coloration jaune ou jaune orangée dans toute la cavité doit être considérée comme la marque d'un test positif. |
| 18 | ADON | | | | |
| 18 | IND | Réactif Spot Indole RapID | Marron, noir ou violacé | Orange ou rouge | Toute coloration marron, violacée ou noire bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif. |

***REMARQUE :** Les plaquettes doivent être examinées en regardant les cavités réactives contre un fond blanc.

Annexe 07 : Fiche de résultat d'antibiogramme pour les entérobactéries au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC)

| | | |
|---|-----------|--------------------------------------|
| Nom : | Prénom : | Age : |
| Nature du Prélèvement : | Service : | N° : |
| EXAMEN DIRECT : - Présence des polynucléaires altérés | | |
| -Présence des Cocci bacilles | | |
| DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE : | | |
| Phénotype de résistance : | | |
| ANTIBIOGRAMME POUR ENTEROBACTERIES | | |
| PENICILLINES | | AMINOSIDES |
| Ampicilline | | Amikacine |
| Amoxicilline | | Gentamicine |
| Amoxicilline - ac. clavulanique | | Tobramycine |
| Ticarcilline | | QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES |
| Pipéracilline | | Acide nalidixique |
| CEPHALOSPORINES | | Norfloxacine |
| Céfazoline | | Ofloxacine |
| Céfalotine/Céfalexine | | Ciprofloxacine |
| Cefoxitine | | DIVERS |
| Céfotaxime | | Colistine |
| Ceftriaxone | | Triméthoprime- Sulfaméthoxazole |
| Céfixime | | Furanes |
| Céfépime | | Fosfomycine |
| Cefpirome | | Chloramphénicol |
| CARBAPENEMES | | |
| Imipénème | | |
| Ertapénème | | |
| <small>S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant</small> | | |
| Constantine le : | | LE MEDECIN |

Annexe 08: Tableau de lecture de valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition.

| Antibiotiques testé | Charge des disques (µg) | Résistante | Intermédiaire | Sensible |
|--|-------------------------|------------|---------------|----------|
| Ampicilline | 10 | ≤13 | 14-16 | ≥32 |
| Amoxicilline-acide clavulanique | 20/10 | ≤13 | 14-17 | ≥32/16 |
| Céfazoline | 30 | ≤19 | 20-22 | ≥8 |
| Céfotaxime | 30 | ≤22 | 23-25 | ≥26 |
| Imipénème | 10 | ≤19 | 20-22 | ≥23 |
| Amikacine | 30 | ≤14 | 15-16 | ≥17 |
| Gentamicine | 10 | ≤12 | 13-14 | ≥15 |
| Acide nalidixique | 30 | ≤13 | 14-18 | ≥19 |
| Ciprofloxacine | 5 | ≤15 | 16-20 | ≥21 |
| Chloramphénicol | 30 | ≤30 | 13-17 | ≥18 |
| Fosfomycine | 200 | ≤12 | 13-15 | ≥17 |
| Triméthoprimesulfaméthoxazole | 1,25/ 23,75 | ≤10 | 11-15 | ≥4/76 |

Annexe 09 : Réactifs de la galerie biochimique RapID ONE.

- **Réactif RapID ONE** (fourni dans le kit) (15 ml/flacon)

Ingrédients réactifs par litre : ρ -diméthylaminocinnamaldéhyde.....0,06 g.

- **Réactif Spot Indole RapID** (R8309002, fourni séparément)(15 ml/flacon)

ρ -diméthylaminocinnamaldéhyde..... 10,0 g .

Acide chlorhydrique 100,0 ml .

Eau déminéralisée 900,0 ml .

*Avec compensations éventuelles pour satisfaire aux normes de performance.

| | |
|--|--|
| <p>Noms et Prénoms : BOUBERTAKH Sara BOUAKER Sara</p> | <p>Date de soutenance : le : 24- 07 - 2019</p> |
| <p align="center">Thème : Etude du profil bactériologique et de la sensibilité de <i>Klebsiella pneumoniae</i> uropathogène isolé de l'hôpital militaire de Constantine (HMRUC)</p> | |
| <p>Résumé :</p> <p><i>Klebsiella pneumoniae</i> est un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter. De même, il est responsable des épidémies qui sont causées par des souches résistantes à une large variété d'antibiotiques.</p> <p>Notre étude est menée au laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine ; sur une période de 4 mois (Janvier à Avril 2019).</p> <p>Le but de cette étude est l'identification des souches isolées à partir de prélèvements urinaires reçus de différents services, ainsi que la détermination de leur profil de sensibilité vis-à-vis différents antibiotiques.</p> <p>D'une part, l'étude prospective montre un total de 18 souches. Parmi elles, deux (qui représentent 11.1%), sont productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE). Elles sont résistantes à la majorité des antibiotiques mais restent toujours sensible à l'imipénème et la Colistine. De plus, 16 souches (88.9%) présentent le phénotype sauvage avec une fréquence de résistance naturelle estimée à 100 % aux Beta-lactamines (Amoxicilline, Ampicilline.) et 70,2 % à Amoxicilline+ acide clavulanique. En outre, Ces souches sont résistantes aux céphalosporines (72,2% à la Céfazoline), malgré qu'elles représentent une sensibilité totale à l'imipénème. Pour les autres antibiotiques tels que les Aminosides ces souches présentent une sensibilité à 100% à la colistine et 50% à la Gentamycine ; pour les Quinolones elles représentent un taux de résistance de 38,9% aux fluoroquinolones et ciprofloxacines.</p> <p>D'autre part, l'étude rétrospective statistique réalisée (2017 à 2019) estime un total de 178 souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>. De cette étude, il a été remarqué que les pourcentages les plus élevé reviennent aux souches hospitaliers (65%), la population masculine (53%), <i>Klebsiella pneumoniae</i> occupe la deuxième place avec pourcentage (25,7%) Et selon les services, la médecine interne prédominance (23,7%) respectivement.</p> <p>Enfin, la surveillance régulière des mécanismes de résistance est indispensable pour définir des stratégies préventives et l'usage plus rationnel des antibiotiques.</p> | |
| <p>Mot clés : infection urinaire, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, résistance, antibiotiques, phénotypes, BLSE.</p> | |
| <p>Laboratoires : Bactériologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine</p> | |
| <p>Président de jury : P_r.KHLIFA FOUJIL</p> | <p>Prof. Laboratoire d'hygiène .Daksi . Constantine</p> |
| <p>Encadreur : D_r BATAICHE I.</p> | <p>MCB . UFM . Constantine 1</p> |
| <p>Maitre de stage : D_r.MEZIANI AHMED AMINE</p> | <p>MCB - HMRUC</p> |
| <p>Examineur : D_r.OUIBRAHIM.</p> | <p>MCB . UFM . Constantine 1</p> |