



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
: Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

**Etude de l'évolution de la résistance de *Klebsiella pneumoniae*
aux antibiotiques au niveau de l'Hôpital Militaire Régional
Universitaire de Constantine**

Préparé par : CEDAH Sonia

Le : 22/09/2021

CHEKIREB Hadir

ABDOU Anouar Khalil Brahim

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : ABDELAZIZ Ouided (Maître de conférences B- UFM Constantine 1).

Rapporteur : SEKHRI-ARAF A Nedjoua (Maître de conférences A - UFM Constantine1).

Examinatrice : MEZIANI Meriem (Maître de conférence B - UFM Constantine1).

**Année universitaire
2020- 2021**

Remerciements

Après avoir rendu grâce à Dieu tout puissant qui nous a donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire, nous tenons à exprimer en premier lieu toute notre reconnaissance à notre directrice de mémoire, Madame Sekhri-Arafa pour nous avoir encadré, orienté, aidé et conseillé. Pour avoir répondu présente à tout moment où nous avons eu besoin d'elle durant ces trois dernières années. Toutes les générations en témoignent c'est l'ange gardien des étudiants et nous sommes chanceux de l'avoir eu comme encadrante.

Nos vifs remerciements au Docteur Abdelaziz Ouided d'avoir accepté de présider le jury et Docteur Meziani Meriem de nous avoir consacré du temps pour examiner notre travail.

En second lieu, nous tenons à remercier le docteur Ramdhani, médecin à l'HMURC pour nous avoir donné l'opportunité d'effectuer un stage au sein du laboratoire de microbiologie et qui nous a offert son aide à fin d'enrichir notre recherche. Ainsi que le docteur Meziani pour son accueil bienveillant, son attention et pour avoir répondu à nos questions.

Nous exprimons également notre gratitude à madame Karima Benchikh dite El Hadja, qui nous a accordé du temps et de la patience, qui nous a guidé et pris sous son aile durant tout notre séjour à l'hôpital que Dieu mette sur le chemin de ses enfants des personnes aussi bienveillante qu'elle ne l'a été avec nous.

Une pensée respectueuse aux professeurs de l'université et toute l'équipe pédagogique pour avoir assuré dans leur transmission des connaissances qui nous ont été d'une grande aide dans la réalisation de ce modeste travail de mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes chers parents

Yacine et Nadia

*Qui m'ont toujours soutenue, encourager et répondu présents
Je les remercie pour leurs prières qui guidaient chacun de mes pas
Et m'excuse pour tous les sacrifices qu'ils ont dû faire pour m'offrir le
meilleur qui puisse être*

A ma sœur

Amira

*Qui cherche toujours à faire mon bonheur
Je la remercie pour son soutien, encouragements et son aide qui m'est chère*

A mes oncles et tantes

*Qui ont partagé avec moi joie et peine durant ce parcours de combattante
Je les remercie pour leur soutien moral et pour tous leurs précieux conseils*

A Hadir

Qui est apparue dans ma vie pour y dessiner un grand sourire

*Qu'Allah vous protège et comble de bonheur et que la paix soit avec vous
en toute heure.*

Cedah Sonia

*C'est avec une grande gratitude que je dédie ce travail marquant de ma
vie*

*A l'amour de ma vie Amna
Celle qui m'a arrosée de tendresse et d'espoir et m'a bénie par ces prières. Je
t'aime très fort*

*A mon père Ali
La source de mon bonheur qui a mis à ma disposition tous les moyens
nécessaires pour que je réussisse et qui a veillé tout au long de ma vie à
m'encourager. Je tiens à honorer l'homme que tu es*

*A ma sœur Halla
Source de joie et de bonheur qui n'a jamais cessé de croire en moi, de me
conseiller m'encourager et me soutenir*

*A mon adorable petite sœur
Qui sait toujours comment procurer la joie*

*A mon bras droit Akram
Pour sa présence et sa bonne humeur*

*A toi mon grand père
Ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour*

*A ma chère copine Zahra
Qui m'a toujours soutenue moralement et a ponctué ma vie à des
moments forts, que Dieu préserve notre amitié.*

*A la plus belle Sonia
Chère amie avant d'être binôme qui a partagé avec moi mes moments
difficiles, qui m'a soutenue et encourager à poursuivre ce travail*

Chekireb Hadir

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

Aussi, c'est tout simplement que Je dédie ce mémoire de fin d'étude à la mémoire de mes grands parents... à mes chères parents Ahlam et Abderrezak qui m'ont soutenu depuis que j'ai ouvert les yeux et qui ont sacrifié leurs rêves dans le but de réaliser les nôtres ...

... à ma grande sœur Lyna qui a été mon ange gardien toute ma vie et à mon petit frère Ameer qui a toujours su comment marquer des souvenirs de famille... à ma tante Lilou ma deuxième mère ma tante Maya qui a une large partie dans mon cœur et à ma tante Fifi qui n'a jamais laissé les distances lui faire oublier son neveu préféré... à mes oncles qui ont tous été une école pour moi, et bien sur ma tante Hind celle qui n'a jamais arrêté d'être fière de moi ... à tous les membres de ma famille ceux que je n'ai pas cités ... Je dédie aussi ce travail à mes amis qui m'ont toujours accompagné ... à Issam HAMMOUD un frère que la vie m'a offert ... sans oublier mon cher ami et mon collègue le long de mon parcours universitaire M^{ed} Redha BAADACHE un camarade de bonne foi... Je ne sais guère comment exprimer ma gratitude à tous ceux qui m'ont présenté leur soutien inestimable.

A toute ma promotion (promo 2016_2021):

En souvenir des agréables moments partagés et en témoignage de notre amitié. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

*A toutes les personnes non citées et qui savent que je pense à eux,
A tous les professeurs auprès de qui j'ai eu l'honneur d'apprendre.*

ABDOU Anouar Khalil Brahim

SOMMAIRE

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I: La bactérie <i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
1. Définition	3
2. Classification	3
3. Habitat	3
4. Caractères bactériologiques	4
4.1 Caractères morphologiques	4
4.2 Caractères cultureux	4
4.3 Caractères biochimiques	5
4.4 Caractères antigéniques	5
Chapitre II: Pathogénicité de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	6
1. Définition	6
2. Transmission.....	6
3. Epidémiologie.....	6
4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> hypervirulente.....	6
5. Les profils de virulence	7
5.1 Les profils de virulence phénotypiques	7
5.1.1 Les antigènes de surfaces	7
5.1.2 Les adhésines	8
5.1.3 Les sidérophores	9
5.1.4 Les pompes à efflux	9
5.1.5 Le système de sécrétion de type VI (T6SS)	10
5.1.6 L'allantoïne	10
5.1.7 La génotoxine colibactine.....	10
5.2 Les profils de virulence génotypiques	11
5.2.1 Les îlots de pathogénicité	11
5.2.2 Eléments d'intégration et de conjugaison ICE	11
Chapitre III: Résistance aux antibiotiques.....	12
1. Définition des antibiotiques.....	12

2. Critères de classification	12
3. Définition de l'antibiorésistance.....	12
4. Types de résistance	13
4.1 Résistance naturelle	13
4.2 Résistance acquise.....	13
4.3 Résistance croisée et co-résistance :	13
5. Résistance aux beta-lactamines	13
Les béta- lactamase à spectre étendu	15
6. Résistance aux aminosides	16
7. Résistance aux quinolones.....	17
8. Résistance aux divers antibiotiques	19
8.1 Résistance à la colistine	19
8.2 Résistance au chloramphénicol.....	20
Matériel et méthodes.....	22
1. Cadre de l'étude	22
2. Centre de l'étude	22
3. Type de l'étude.....	22
4. Matériel	22
4.1 Souches bactériennes	22
4.1.1 Taille de l'échantillon.....	23
4.2. Recueil des données.....	23
4.2.1 Critères d'inclusion.....	23
4.2.2 Critères d'exclusion	23
4.2.3 Considérations éthiques	23
4.3 Prélèvements.....	23
5. Méthode.....	23
5.1 Culture sur milieu Hektoen.....	23
5.2 Identification macroscopique	24
5.3 Identification microscopique.....	24
5.3.1 Etat Frais	24
5.3 Identification biochimique (Galerie Api 20E)	24
5.4 L'Antibiogramme :.....	25
Lecture et interprétation.....	27
5.5 Recherche de la β -lactamase à spectre élargi	27

5.6 Recueil de données	29
Résultats et discussion	31
1. Etude macroscopique	31
2. Etude microscopique.....	31
3. Etude biochimique	32
4. Antibiogramme	33
5. Répartition des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	34
5.1 Répartition des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon l'âge.....	34
5.2 Répartition des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon le sexe	35
5.3 Répartition des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon les services	36
5.4 Répartition des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon les prélèvements	36
6. Phénotype de résistance	37
6.1 Résistance aux pénicillines	37
6.2 Résistance aux céphalosporines	38
6.3 Résistance aux carbapénèmes	39
6.4 Résistance aux aminosides	40
6.5 Résistance aux quinolones et fluoroquinolones	41
6.6 Résistance à divers antibiotiques	42
7. Recherche des souches <i>K.p</i> productrices de BLSE.....	43
7.1 Répartition des <i>K.p</i> BLSE + en fonction des services.....	43
7.2 Répartition des <i>K.p</i> BLSE+ selon le type de prélèvement	43
7.3 Association des BLSE aux autres antibiotiques	44
Conclusion.....	46
Perspectives	49

Liste des abréviations

- AARN:** Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques
- ADH:** Arginine déshydrogénase
- ADN:** Acide desoxyribonucléique
- ARN:** Acide ribonucléique
- ATB :** Antibiotiques
- BGN:** Bacilles à Gram négatif
- BLSE:** β -lactamase à spectre étendu
- C+G%:** Pourcentage en guanine + cytosine du génome (anciennement coefficient de Chagaff)
- C1G:** Céphalosporine de première génération
- C2G:** Céphalosporine de deuxième génération
- C3G:** Céphalosporine de troisième génération
- C4G :** Céphalosporine de quatrième génération
- CLSI :** Clinical and Laboratory Standards Institute
- ECBU :** L'examen cytobactériologique des urines
- ECDC:** Centre européen de prévention et de contrôle des maladies.
- entB* :** L'entérobactine
- GES:** Guyana Extended Spectrum lactamase
- H₂S:** Sulfure d'hydrogène
- hvKP* :** Hypervirulent *K. p*
- IND:** Indole
- K. p:*** *Klebsiella pneumoniae*
- LDC:** Lysine décarboxylase
- LPS :** Lipopolysaccharides
- MDR :** Multirésistants
- MH :** Mueller-Hinton
- ODC:** Ornithine décarboxylase
- OMS:** Organisation Mondiale de Santé
- PLP:** Protéine de Liaison à la Pénicilline.
- RM:** Réaction au rouge de Méthyle
- Sub sp:** sous espèce
- TDA:** Tryptophane désaminase

Liste des figures

- Figure 1:** Aspect filant des colonies de *Klebsiella pneumoniae* sur gélose.
- Figure 2:** Différence entre les profils de virulences de *K.p* et *K.p* hypervirulente.
- Figure 3:** Prélèvement d'une colonie à partir d'une culture sur gélose.
- Figure 4:** Dépôt de lamelle sur lame destinée à l'observation microscopique d'état frais.
- Figure 5:** Résultats positifs et négatifs des testes de la galerie Api 20E.
- Figure 6:** Fiche technique d'une galerie Api 20E.
- Figure 7:** Dépôt des disques d'antibiotiques sur boîte de pétri contenant le milieu MH.
- Figure 8:** Colonies de *K. p* sur gélose Hektoen.
- Figure 9:** Colonies de *K. p* sur gélose Hektoen.
- Figure 10:** Observation microscopique après l'état frais avec un grossissement x40
- Figure 11 :** Observation microscopique de la coloration de Gram à l'objectif x100.
- Figure 12:** Résultat de la galerie Api 20E.
- Figure 13 :** Antibiogramme d'une souche de *K.p* pour les antibiotiques NA, OFX, CIP, GM et AN sur milieu MH.
- Figure 14:** Antibiogramme d'une souche de *K.p* pour les antibiotiques KZ, FEP, C, CT et SXT sur milieu MH.
- Figure 15:** Antibiogramme d'une souche de *K.p* pour les antibiotiques FOX, KZ, AMC, PRL, TIC et AMP sur milieu MH.
- Figure 16:** Répartition des souches de *K.p* selon l'âge.
- Figure 17:** Répartition des souches de *K.p* selon le sexe.
- Figure 18:** Répartition des souches de *K.p* selon les services.
- Figure 19:** Répartition des souches de *K.p* selon les prélèvements
- Figure 20:** Profil de résistance de *K.p* aux pénicillines.
- Figure 21:** Profil de résistance de *K.p* aux céphalosporines.
- Figure 22:** Profil de résistance de *K.p* aux carbapénèmes.
- Figure 23:** Profil de résistance de *K.p* aux aminosides.
- Figure 24:** Profil de résistance de *K.p* aux quinolones et fluoroquinolones.
- Figure 25:** Profil de résistance de *K.p* à divers antibiotiques.
- Figure 26:** Répartition des souches *K.p* productrice de BLSE selon les services (n=156).
- Figure 27:** Répartition des souches *K.p* BLSE+ selon les prélèvements (n=156).

Liste des tableaux

Tableau 1: Principaux caractères biochimiques de *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau 2: Liste des prélèvements selon la nature de l'examen.

Tableau 3: Liste des antibiotiques utilisés et leurs abréviations.

Tableau 4: Répartition des souches isolées sur les quatre années.

Tableau 5: Association des BLSE aux autres antibiotiques.

Résumé

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste à un potentiel épidémique très élevé. Il est couramment impliqué dans les infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter. L'augmentation et la dissémination de la résistance à une large variété d'antibiotiques chez cette espèce, représente un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Les premières souches productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) appartenaient à l'espèce *K.p.*

Ainsi, cette augmentation de la fréquence des souches multirésistantes dans les hôpitaux algériens, nécessite clairement un établissement de mesures de contrôle préventives pour limiter leur diffusion. Dans ce but, nous nous sommes fixés, en cette étude statistique, l'objectif de voir l'évolution de la résistance aux antibiotiques de *K.pneumoniae* au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). Un total de 332 souches de *K.p* a été collecté, entre janvier 2018 et mai 2021 à partir de différents services et de prélèvements pathologiques de l'HMRUC. Nos résultats suggèrent que *K.p* touche principalement les hexagénères et les enfants de moins de 10 ans du fait de leur statut immunitaire. La majorité des souches prélevées sont des souches hospitalières issues principalement du service de la médecine interne et retrouvées majoritairement dans les urines. Le taux de résistance aux antibiotiques semble être en perpétuelle évolution malgré la basse fréquence signalée en 2020 qui peu être expliquée par le nombre restreint de souches récoltées en cette année par apport aux autres.

Mots clés: *Klebsiella pneumoniae*, Résistance aux antibiotiques, BLSE, Algérie.

Abstract

Klebsiella pneumoniae is an opportunistic pathogen with a very high epidemic potential. It is commonly involved in severe and difficult nosocomial infections. The increase and spread of resistance to a wide variety of antibiotics in this species represents a major public health problem worldwide. The first strains producing β -lactamases with an extended spectrum (ESBL) belonged to the species *K.p.*

Thus, this increase in the frequency of multidrug-resistant strains in Algerian hospitals clearly requires the establishment of preventive control measures to limit their spread. To this end, in this statistical study, we have set ourselves the objective of seeing the evolution of antibiotic resistance of *K.pneumoniae* at the level of the Regional Military University Hospital of Constantine (HMRUC). A total of 332 strains of *K.p* were collected between January 2018 and May 2021 from different services and pathological samples from HMRUC. Our results suggest that *K.p* primarily affects hexagen and children under the age of 10 due to their immune status. The majority of the strains collected are hospital strains derived mainly from the service of internal medicine and found mainly in the urine. The rate of antibiotic resistance seems to be in perpetual evolution despite the low frequency reported in 2020 which can be explained by the limited number of strains harvested in this year by contribution to others.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, Antibiotic resistance, ESBL, Algeria.

ملخص

كلبسيلا بنومونيا هي بكتيريا انتهازية ممرضة تشارك عادة في الالتهابات النخاعية الشديدة والصعبة. زيادة وانتشار مقاومة طائفة واسعة من المضادات الحيوية في هذا النوع من البكتيريا تمثل مشكلة صحية عامة رئيسية في جميع أنحاء العالم فكانت الأولى المنتجة ل BLSE .

ومن ثم ، فإن هذه الزيادة في تواتر سلالات الكلبسيالات الرئوية المقاومة في المستشفيات الجزائرية تتطلب بوضوح اتخاذ تدابير وقائية للحد من انتشارها. تحقيقاً لهذه الغاية وضعنا الاهداف التالية في دراستنا الإحصائي:

رؤية تطور مقاومة المضادات الحيوية لمرض *K. pneumoniae* على مستوى المستشفى الجامعي العسكري الإقليمي في قسنطينة (HMRUC) تم جمع 332 سلالة من *K.p* بين جانفي 2018 وماي 2021 من أقسام وعينات مرضية مختلفة وتشير نتائجنا إلى أن *K.p* يؤثر في المقام الأول على الفئة العمرية المتراوحة بين 60-69 سنة والأطفال دون سن 10 بسبب وضعهم المناعي. معظم السلالات تم جمعها من قسم الطب الداخلي خالصة في البول. معدل مقاومة المضادات الحيوية في تطور دائم على الرغم من الترددات المنخفضة المبلغ عنها في عام 2020 والتي يمكن تفسيرها من خلال العدد المحدود من السلالات التي تم حصادها في هذا العام من خلال المساهمة في سلالات أخرى.

الكلمات المفتاحية: الكلبسيلا الرئوية ، مقاومة المضادات الحيوية ، BLSE ، الجزائر.

Introduction

L'OMS définit *Klebsiella pneumoniae* comme une bactérie intestinale commune pouvant provoquer des infections potentiellement mortelles. Sa dangerosité est due d'une part aux facteurs de virulence dont elle est dotée et d'autre part aux mécanismes de résistance aux antibiotiques qu'elle met en œuvre.

Géographiquement parlant, *Klebsiella pneumoniae* est ubiquitaire mais qui se trouve plus fréquemment dans les régions tropicales et subtropicales. C'est une espèce qu'on retrouve sur les surfaces inertes, chez les végétaux et les animaux. Elle est également retrouvée chez l'homme, principalement dans le tractus gastro-intestinal, la peau et les voies respiratoires.

Faisant partie des agents pathogènes, *K.p* peut causer des infections urinaires, respiratoires et autres ainsi que des maladies telle qu'une bactériémie, septicémie ou méningite. Elle se transmet facilement et dangereusement en particulier dans les milieux hospitaliers via le matériel souillé ou la ventilation mécanique.

Un trait critique de *K. pneumoniae* qui a permis son évolution continue est la capacité d'acquérir un nouveau matériel génétique. En conséquence, un nouveau pathotype *K. pneumoniae* hypervirulent circule actuellement. Contrairement aux souches classiques de *K.p*, les souches *hvKp* sont capables de provoquer des infections graves chez les individus sains et se propagent par la suite de manière métastatique. Elles ont également une capacité accrue à provoquer une infection du système nerveux central et une endophtalmie (**Russo et Marr, 2019**).

Au fil du temps, *K.p* a fini par acquérir une résistance inquiétante qui devient un problème de santé publique. En 2021, l'OMS a classé *K.p* parmi les 12 agents pathogènes prioritaires résistants aux antibiotiques. Ceci montre l'ampleur du problème et définit la raison de notre recherche car comme dit le proverbe " Qui connaît son ennemi comme il se connaît, en cent combats ne sera point défait". Les objectifs de ce présent travail sont:

- Isolement et identification des souches de *Klebsiella pneumoniae* au niveau du laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine.
- Etude rétrospective qui s'étend de 2018 à 2021 sur l'évolution de la fréquence d'isolement et la résistance aux antibiotiques des souches de *K.p*.
- Identification et répartition des souches de *K.p* productrices des BLSE et des BMR.

Revue bibliographique

Chapitre I: La bactérie *Klebsiella pneumoniae*

1. Définition

Cette bactérie fut découverte en 1882 par Carl Friedlander et reçue l'appellation de bacille de Friedlander en son honneur. Ce n'est qu'en 1886 qu'elle prit le nom de *Klebsiella pneumoniae* (Ashurst et Dawson, 2021).

C'est un bacille à gram négatif de la Famille des *Enterobacteriaceae*, immobile et capsulé. Elle est à la fois un germe commensal de l'organisme et un agent pathogène responsable d'infections variées. Présente naturellement dans le tube digestif, les voies aériennes supérieures de l'homme et des animaux et se retrouve également couramment dans l'eau, les sols et la poussière.

2. Classification

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gamma Proteobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : *Klebsiella*

Espèce : *Klebsiella pneumoniae* (Holt et al., 1994).

A l'aide de méthodes de reconstruction phylogénétique, *Klebsiella pneumoniae* a été divisée en cinq espèces distinctes (Rodrigues et Passet, 2018 ; Barrios et Aguilar, 2019):

1. *Klebsiella variicola* décrite pour la première fois en 2004
2. *Klebsiella quasipneumoniae* en 2014 (avec deux sous-espèces; *Quasipneumoniae* et *Similipneumoniae*).
3. *Klebsiella quasivariicola* en 2017
4. *Klebsiella africanensis* en 2019
5. *Klebsiella variicola subsp. tropicalensis* une sous-espèce de *K. variicola* en 2019

Ces nouvelles espèces bactériennes constituent le complexe *K. pneumoniae*.

3. Habitat

Géographiquement parlant, *Klebsiella spp* est ubiquitaire se trouvant plus fréquemment dans les régions tropicales et subtropicales. C'est une espèce qu'on retrouve

aussi bien chez les végétaux, les animaux et l'homme en particulier sur leur peau, voies respiratoires supérieures, muqueuses, tube digestif à l'état commensal et dans la flore fécale de 30 à 40% de ces deux derniers. Mais elle est également présente sur les surfaces inertes solides telles que le sol, le bois, les effluents industriels et les aliments. Ainsi que dans les liquides comme les eaux de surfaces et usées ou dans les solutions dont disposent les hôpitaux (Erradji, 2017).

4. Caractères bactériologiques

4.1 Caractères morphologiques

Klebsiella pneumoniae est un bacille à Gram négatif (coloration bipolaire fréquente), immobile, non sporulé de 0.3 à 1.0 µm de diamètre sur 0.6 à 6.0 µm de longueur avec un poids moléculaire d'environ 3,36.109 daltons (Hogea et Stanga, 2021).

4.2 Caractères cultureux

K pneumoniae est une bactérie non exigeante aérobie-anaérobie qui se développe facilement sur des milieux gélosés non enrichis pour former des colonies isolées ou groupées par deux ou en courtes chaînes, rondes, bombées, translucides, muqueuses parfois filante à l'anse de platine. Leur diamètre est compris entre 3 et 4 mm (Hogea et Stanga, 2021).

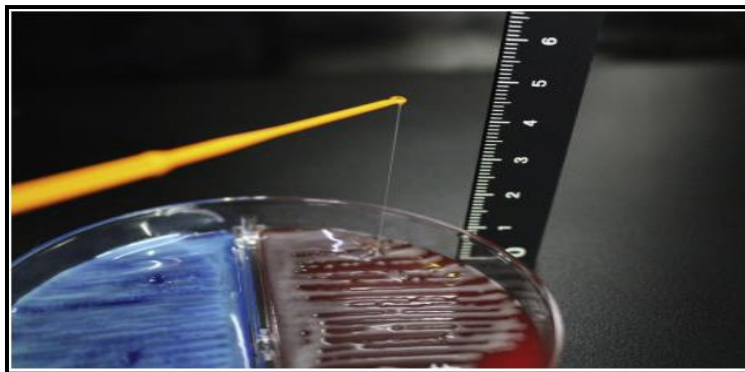


Figure 1: Aspect filant des colonies de *Klebsiella pneumoniae* sur gélose (Masataka *et al.*, 2019).

Les milieux sur lesquels elle croit sont des milieux classiques d'isolement des entérobactéries: Drigalski, EMB, Hektoen et Mac Conkey, les milieux liquides: bouillon nutritif et eau peptonée où la culture est rapide (quelques heures seulement).

Sur les milieux contenant du lactose et un indicateur de pH, les colonies apparaissent lactose positif (Diallo, 2010).

4.3 Caractères biochimiques

L'ensemble des caractères biochimiques de *K.pneumoniae* sont résumés dans le tableau suivant:

Tableau 1: Principaux caractères biochimiques de *Klebsiella pneumoniae* (Guiraud, 2012).

VP	RM	ODC	ADH	LDC	TDA	PDA	
+	-	-	-	+	-	-	
Catalase	Oxydase	ONPG	Mobilité	Indole	Nitrate	KCN	Malonate
+	-	+	-	-	+	+	+
Glucose	Arabinose	Raffinose	Rhamnose	Lactose	Sorbitol	Gaz	H ₂ S
+	+	+	+	+	+	+	-
Uréase	Gélatinase	Lipase	DNase	Citrate de Simmons		β-glucoronidase	
+	-	-	-	+		-	

Certaines souches de *Klebsiella pneumoniae* et de *Klebsiella oxytoca* peuvent paraître uréase⁻ après 24 heures à 37°C sur des milieux gélosés nutritifs ou sur un milieu réactif à l'urée tel que le milieu urée-indole (**Sekhri-Arafa, 2011**).

4.4 Caractères antigéniques

Klebsiella possède des antigènes de surfaces O, autres capsulaires K et l'antigène d'adhérence.

- On compte 13 antigènes O différents, ce nombre restreint ainsi que leur agglutination masquée par le caractère thermostable des antigènes capsulaires K, rendent leur recherche et détermination difficile.
- Par contre la recherche des antigènes K est indispensable en épidémiologie. Ces derniers sont mis en évidence par agglutination sur lame ou en tubes ou par le gonflement de la capsule dit la réaction de Neufled suite à une réaction antigène-anticorps.

77 types capsulaires ont été identifiés de K1 à K72, K74 et K79 à 82. Les souches de type capsulaire 1 et 2 sont les plus souvent pathogènes pour l'homme et les animaux. Celles du type 3 et 4 le sont rarement.

- L'antigène d'adhérence dit fimbriae est de nature protéique porté par pilis communs (**Erradji, 2017**).

Chapitre II: Pathogénicité de *Klebsiella pneumoniae*

1. Définition

La pathogénicité est la capacité de provoquer une maladie, cette caractéristique est observée chez *K.p* au point d'en faire un pathogène opportuniste extrêmement incriminé dans les infections chez les immunodéprimés. En effet, elle profite de l'affaiblissement de l'immunité de l'organisme pour causer des infections urinaires, respiratoires, broncho-pulmonaires, suppuratives, biliaires, nosocomiales et des surinfections des plaies opératoires. Cette bactérie est également responsable de bactériémies, septicémies, hépatites intra-abdominales, de fasciites nécrosantes et de méningites. Les nouveau-nés ne sont pas épargnés par ces infections.

K pneumoniae est rarement à l'origine d'arthrite cependant elle peut provoquer un handicap définitif suite à une destruction d'articulation (**Sekhri-Arafa, 2011**).

2. Transmission

La transmission de *K. pneumoniae* est très facile et rapide dans le milieu médical, les infections nosocomiales sont manu-portées ou transmises par la manipulation du matériel souillé tel que les cathéters, masques à oxygène et rarement par la contamination de l'environnement car elle ne se propage pas dans l'air (**Sekhri-Arafa, 2011**).

3. Epidémiologie

Les épidémies sont causées par des souches résistantes à une large variété d'antibiotiques principalement les β -lactamines, et par leur pouvoir virulent grâce aux différents facteurs telle la capsule. En raison de leur capacité à se propager rapidement dans l'environnement hospitalier, ces souches ont tendance à provoquer des épidémies nosocomiales (**Podschun et Ullman, 2020**).

4. *Klebsiella pneumoniae* hypervirulente

Dû à son évolution rapide au cours des dernières décennies, certains types de *K.p* se sont développés en *K.p* hypervirulent (*HvKp*). Contrairement aux souches classiques de *K.p*, les souches *hvKp* sont capables de provoquer des infections graves chez les individus sains et

se propagent par la suite de manière métastatique. Elles ont également une capacité accrue à provoquer une infection du système nerveux central et une endophtalmie (**Russo et Marr, 2019**).

Des études récentes ont montré que les souches traditionnelles *HvKP* ont encore évolué pour devenir multirésistantes, essentiellement aux carbapénèmes, ce type de souches résistantes aux carbapénèmes (CR-*HvKp*) est encore peu fréquent dû à la faible prévalence des souches *HvKp* en milieu clinique (**Xie et al., 2021**).

5. Les profils de virulence

Pour contrer les défenses immunitaires de l'hôte, *Klebsiella pneumoniae* est dotée de certains facteurs de virulence; le lipopolysaccharide (LPS), le polysaccharide capsule (CPS), les sidérophores (par exemple, l'aérobactine) et l'adhésine.

5.1 Les profils de virulence phénotypiques

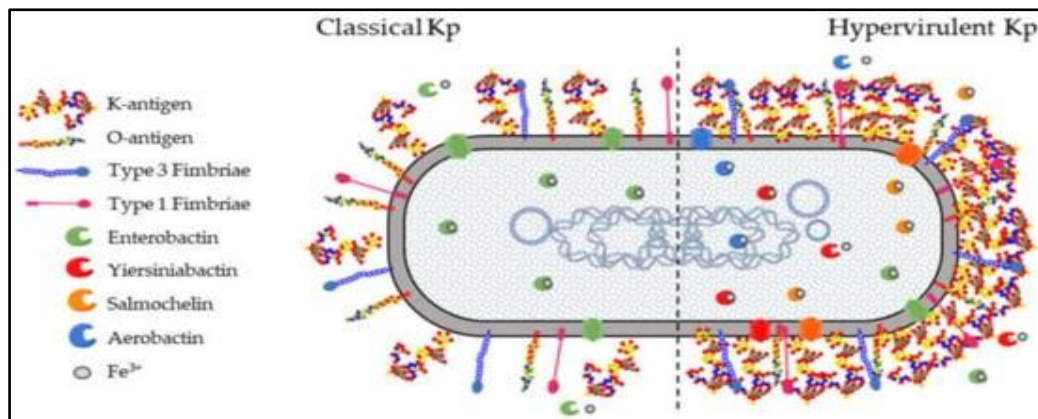


Figure 2: Différence entre les profils de virulence de *K.p* et *K.p* hypervirulente (Arato et al., 2021).

5.1.1 Les antigènes de surfaces

5.1.1.1 La capsule

La capsule est le premier facteur de virulence à avoir été mis en évidence et est considéré comme l'un des plus importants voir même essentiel à la virulence de *K. pneumoniae*.

Par définition c'est une véritable enveloppe de nature polysaccharidique d'où son abréviation par CPS. Elle est composée d'unités de sucre répétitives présentant un antigène K.

La majorité des souches de *Klebsiella pneumoniae* sont dotées d'une capsule et parmi les 77 sérotypes capsulaires, K1, K2, K21 et K55 sont les plus virulents (**Erradji, 2017**).

La capsule a toujours été imagée comme recouvrant toute la surface de la bactérie, cependant en 2020 Tan et ses collègues chercheurs ont présenté de nouvelles images qui suggèrent que la production de capsules découle de foyers discrets à la surface de la cellule et ne diffuse pas autour de la surface cellulaire qui la recouvre uniformément.

Rôle de la capsule

La capsule confère à *K. pneumoniae* un fort pouvoir invasif et forme d'épais faisceaux de structure fibrillaire de façon à couvrir toute la surface bactérienne d'une couche épaisse et dense qui va servir de médiateur de protection (**Erradji, 2017**).

Premièrement elle la protège de la phagocytose et l'opsonophagocytose. En la rendant lisse, la bactérie pourra échapper à ces cellules immunitaires.

Deuxièmement, elle entrave l'effet bactéricide des facteurs sériques, du sérum et des peptides antimicrobiens en se liant à ces molécules distales de la membrane externe elle agit donc comme un leurre bactérien (**Bengoechea et Pessoa, 2018**).

Divers modèles expérimentaux montrent qu'il existe une relation entre la taille de la capsule et l'intensité du pouvoir pathogène et c'est cette capsule volumineuse qui explique l'aspect gluant et bombé des colonies sur les milieux usuels.

Aussi, la protection conférée par le CPS dépend plus de l'épaisseur du polysaccharide que de la composition chimique du polysaccharide

Lorsque la capsule est expulsée à l'extérieur elle sera nommée capsule exopolysaccharide (EPS) est c'est l'un des composants bactériens essentiels pour la formation de biofilms. La capsule est une réserve d'eau, elle rend donc la bactérie résistante à la dessiccation (**Sekhri-Arafa, 2011 ; Bengoechea et Pessoa, 2018**).

5.1.1.2 Les lipopolysaccharides membranaires

Le lipopolysaccharide (LPS) est un composant majeur de la paroi cellulaire des bactéries Gram négatif et possède de puissantes propriétés immuno-modulatrices.

Les lipopolysaccharides ont pour rôle de protéger la bactérie contre l'action des sels biliaires, des antibiotiques lipophiles, du pouvoir bactéricide du sérum et de l'activation du système complémentaire et des anticorps spécifiques.

Ce sont des endotoxines thermostables et leur pouvoir pathogène se manifeste par la libération massive du lipide A dans la circulation lors de bactériémies entraînant un choc septique chez l'homme (**Erradji, 2017**).

5.1.2 Les adhésines

Le terme adhésine décrit les différentes molécules impliquées dans l'adhésion de

bactéries aux cellules de l'hôte par des facteurs que l'on appelle pili (de pilus = poil), ou fimbriae (frange) et qui ont la capacité d'agglutiner les érythrocytes.

Ces facteurs jouent un rôle essentiel dans la première étape du processus infectieux, les micro-organismes doivent se rapprocher le plus possible des surfaces muqueuses de l'hôte et maintenir cette proximité en se fixant à la cellule hôte (**Podschun et Ullmann, 2020**).

Types d'adhésines :

Différentes adhésines ont été décrites chez le *cKP* (classical *K.p*) et le *hvKP* (hypervirulent *K.p*) (**Shon et al., 2012**).

La plupart de ces derniers se présentent sous forme de fimbriae constituant d'importants médiateurs dans l'adhésion de bactérie à des globules rouges ou à des cellules épithéliales en culture. Les fimbriae de type 1 et 3 sont les principales structures adhésives qui ont été caractérisées comme facteurs de pathogénicité. Ils assurent l'adhésion aux surfaces biotiques et abiotiques, facilitants l'invasion des cellules épithéliales et la formation de biofilm (**Piperaki et al., 2017**).

Trois nouveaux types d'adhésines de *Klebsiella* ont été récemment rapportés, deux non fimbriales appelées facteur *CF29K* et matériel extracellulaire en forme de capsule, une troisième fimbria appelée *KPF-28* (**Podschun et Ullmann, 2020**).

5.1.3 Les sidérophores

Les sidérophores (du grec *pherein* et *sideros* signifiant «porter le fer»), sont des chélateurs de fer synthétisés et sécrétés notamment par les micro-organismes pour leur permettre de puiser le fer essentiel à leur développement.

Chez *K. pneumoniae*, il a été démontré que le fer joue un rôle vital dans la progression de l'infection. L'enterobactine, l'aérobactine et yersiniabactine sont des sidérophores qui ont été décrits chez *K pneumoniae*. L'entérobactine (*entB*) est un sidérophore qui semble être un facteur de virulence important dans les infections urinaires (**Boughachich et Sebais, 2016**).

En plus de l'enterobactine, *K. pneumoniae* peut produire l'aérobactine, un chélateur de Fer hydroxamate. Il est suffisant pour permettre une colonisation du tractus respiratoire et causer une pneumonie (**Erradji, 2017**).

5.1.4 Les pompes à efflux

Les pompes à efflux ont souvent été associées à une résistance aux antibiotiques en raison de leur capacité à exporter des antibiotiques à partir de cellules bactériennes (**Martin et Bachman, 2018**).

Cependant il est connu que certaines pompes à efflux bactérien exportent non seulement des antibiotiques et d'autres substances, telles que des colorants et des détergents, mais également des agents antimicrobiens dérivés de l'hôte. Ainsi, différentes études ont montré que le manque d'expression de la pompe à efflux par une bactérie à Gram négatif a un effet délétère sur la capacité de la bactérie à être pathogène dans les modèles animaux. C'est le cas de la pompe d'efflux AcrAB qui contribue à la virulence des infections respiratoires murines causées par *K. pneumoniae* (Padilla *et al.*, 2020).

5.1.5 Le système de sécrétion de type VI (T6SS)

Le système de sécrétion de type VI (T6SS), identifié pour la première fois chez *V. cholerae*, est un appareil semblable à une seringue ancré dans la membrane cellulaire bactérienne qui sert à injecter diverses molécules effectrices et toxines dans d'autres cellules. (Martin et Bachman, 2018).

Il est composé des produits d'au moins 13 gènes conservés qui s'assemblent dans un appareil contractile en forme d'aiguille. Il comprend un complexe transmembranaire, attaché à un complexe de plaque de base et une structure tubulaire cytoplasmique à longue queue entourée d'une gaine contractile. La contraction de la gaine propulse le tube interne à travers les membranes vers la cellule cible (Barbosa et Lery, 2019).

Le système de sécrétion de type VI (T6SS) est donc largement impliqué dans l'antagonisme microbien contribuant à la compétition bactérienne, à l'invasion cellulaire et à la colonisation in vivo (Storey *et al.*, 2020).

5.1.6 L'allantoïne

L'allantoïne a été identifiée comme source d'azote chez diverses espèces bactériennes et à la fois comme source d'azote et de carbone chez *K. pneumoniae*. L'allantoïne est un intermédiaire métabolique de la dégradation des purines par divers organismes, y compris des microbes. Un opéron d'utilisation de l'allantoïne a été associé à des souches hypervirulentes de *K. pneumoniae* qui provoquent des abcès hépatiques pyogènes.

5.1.7 La génotoxine colibactine

La colibactine est une génotoxine découverte chez *Escherichia coli* en 2006. Elle est synthétisée via une chaîne enzymatique codée par un cluster de gènes dit *pks*. Cet îlot a par la suite été détecté chez d'autres espèces y compris *Klebsiella pneumoniae* (Chagneau, 2018).

Les bactéries productrices de colibactine (*pks+*) induisent des cassures double brin de l'ADN de l'hôte à condition d'être en contact direct avec les cellules de ce dernier et qu'il soit

vivant. Cette activité génotoxine incite la bactérie à user de son système de réparation de l'ADN qui se traduit par une cascade de phosphorylation de certaines protéines. Ces modifications aboutissent à une augmentation du taux de mutations et peuvent participer à l'initiation d'un cancer colorectal. La cascade de signalisation peut aussi conduire à l'arrêt du cycle cellulaire. En plus des cassures double brin, il a été montré en 2015 que la colibactine induit également la formation de ponts inter-brins de l'ADN où il est proposé que ces derniers soient convertis en cassures double-brin lors de leur réparation. Aussi, la présence de l'îlot génomique pks est épidémiologiquement associé à un potentiel accru pour la bactérie de causer une bactériémie.

Chez *Klebsiella pneumoniae*, le tropisme méningé et la virulence dans un modèle de méningite à *Klebsiella pneumoniae* sont également liés à l'îlot pks, de même que la capacité à induire une infection systémique à partir de l'intestin (Chagneau, 2018).

5.2 Les profils de virulence génotypiques

5.2.1 Les îlots de pathogénicité

C'est un fragment d'ADN chromosomique plutôt long allant de 35 à 45kb dont le taux de GC% est différent du reste du génome. Il est flanqué de séquences répétées et porte des gènes de virulence. Parmi ces nombreux gènes se trouve le locus de la yersiniabactine qui a pour rôle de capter les molécules de fer essentielles à la croissance et à la dissémination de la bactérie. Il est dit HPI pour *high pathogenicity island* et comporte un ensemble de 12 gènes impliqués dans la synthèse, la régulation du sidérophore et dans son transport via son récepteur (Kassis- Chikhani, 2012).

5.2.2 Eléments d'intégration et de conjugaison ICE

Les ICE sont des éléments génétiques mobiles typiquement mosaïques et modulaires, allant d'environ 20 kb à plus de 500 kb. Ils sont intégrés dans un génome hôte et se propagent passivement au cours de la réplication chromosomique, de la ségrégation et de la division cellulaire.

Parmi les phénotypes conférés par les ICE citons la résistance aux antibiotiques, la résistance aux métaux lourds, l'utilisation de sources de carbone, la pathogénèse, la synthèse de bactériocine et la formation de biofilm (Johnson et Grossman, 2015).

Chapitre III: Résistance aux antibiotiques

1. Définition des antibiotiques

Le mot antibiotique (ATB) fut créé en 1889 par Paul Vuillemin . Du grec anti «contre» et bios «la vie», par définition il s'agit de toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle. Les antibiotiques sont donc des médicaments qui permettent de lutter efficacement contre des infections bactériennes (**Kassah-Laouar, 2020**).

La pénicilline est le premier ATB découvert en 1929 par Fleming qui déclare "On trouve parfois ce que l'on ne cherche pas" (**Hammond, 2020**).

2. Critères de classification

La classification des antibiotiques repose sur:

- **Mode d'action** : les antibiotiques peuvent agir sur la paroi, la membrane cytoplasmique, la synthèse des acides nucléiques, la synthèse des protéines et la synthèse des folates.
- **Spectre d'activité** : (spectre étroit ou large)
- **Origine** : élaboré par un organisme naturel ou produit par synthèse
- **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β -lactamase)

3. Définition de l'antibiorésistance

En plus de la définition établie par l'OMS en 1961 qui suggère qu'une souche est résistante lorsque lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable *in vivo*.

La résistance aux antibiotiques fait intervenir différents mécanismes qui agissent sur :

- La cible tel que la modifiant enzymatiquement, augmentant sa production ou par synthèse d'un homologue à celle-ci.
- La concentration intracellulaire par une imperméabilisation de la membrane ou par un mécanisme d'efflux spécifique qui vont altérer cette concentration.
- L'antibiotique par modification ou hydrolyse enzymatique (**Caspar, 2021**).

4. Types de résistance

4.1 Résistance naturelle

Appelée aussi résistance intrinsèque est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce.

La résistance naturelle a pour support génétique le chromosome bactérien et elle délimite le spectre naturel de l'antibiotique et constitue une aide à l'identification. Son transfert se fait verticalement et systématiquement (**Caspar, 2021**).

4.2 Résistance acquise

Présente au sein d'une fraction des souches bactériennes d'une espèce. Dans 20% des cas elle s'acquiert suite à des mutations chromosomiques, et dans les 80% par acquisition de gènes de résistance. Elle se transmet aussi bien verticalement qu'horizontalement (**Caspar, 2021**).

4.3 Résistance croisée et co-résistance :

C'est la résistance à deux antibiotiques de la même famille par le même mécanisme où un antibiotique confère cette résistance à l'autre

Tandis que la co-résistance concerne la résistance de deux antibiotiques appartenant à différentes familles via plusieurs mécanismes (**Sekhri-Arafa, 2011**).

5. Résistance aux beta-lactamines

Depuis la découverte des β -lactamines en 1928 par ALEXANDER FLEMING et dès le début de leur utilisation dans les années 1940 durant la Seconde guerre mondiale, ces derniers ont été confrontés à l'émergence de la résistance.

Du fait de leur diversité, faible toxicité, activité bactéricide et leur large spectre d'activité antibactérien, ils sont les plus utilisés en clinique dans le traitement des infections causées par les *K.pneumoniae* et ont toutes en commun le noyau β -lactame qui confère à la molécule son activité antibiotique (**Courvalin et al., 2012**).

Selon la nature de l'hétérocycle accolé au cycle bêta-lactame, on peut classer cette famille en quatre groupes : les dérivées de pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames auxquels on peut ajouter les inhibiteurs de β -lactamases qui n'ont pas d'activité antibactérienne formelle, mais préviennent la dégradation qui leur est associée

L'activité des β -lactames est variable selon la molécule considérée mais le mécanisme

d'action est commun à toutes ces molécules, qui sont bactéricides par destruction de la paroi bactérienne ciblant les PLP (protéines de liaison à la pénicilline) du peptidoglycane.

La résistance aux bêta lactamines se fait par un des mécanismes suivants:

Diminution de la perméabilité

La résistance acquise aux β -lactamines mène à une altération des porines soit par mutation, soit par une modification structurale essentielle ou bien par une diminution quantitative de ces dernières. Ce mécanisme de résistance s'exprime généralement à bas niveau, peut toucher de multiples familles d'antibiotiques (**Eddair, 2021**).

Hyperproduction de système d'efflux

Des mutations dans les régions régulatrices des opérons des systèmes d'efflux peuvent conduire à une surexpression et conférer une multirésistance aux antibiotiques, entraînant une résistance généralement à bas niveau et croisée à différentes familles d'antibiotiques comme les β -lactamines. La résistance par efflux est souvent couplée à une diminution de la perméabilité. L'association de ces deux mécanismes peut entraîner une résistance à haut niveau et simultanée vis-à-vis d'antibiotiques structuralement non reliés, constituant ainsi de véritables systèmes de multirésistance (**Courvalin et al., 2012**).

Modification de PLP

Plusieurs facteurs peuvent contribuer à la résistance par modification de la cible. La perte d'affinité des PLP pour les β -lactamines se réalise grâce à une mutation, acquisition de gènes étrangers ou fragments de gènes codant pour des nouveaux PLP ayant une affinité diminuée ou hyperproduction de PLP normales. Cependant, ce type de mécanisme de résistance reste très rare chez les entérobactéries (**Eddair, 2021**).

Production de β -lactamases

L'inactivation enzymatique est le principal mécanisme de résistance des entérobactéries aux B-lactamines. Les β -lactamases hydrolysent les β -lactamines en ouvrant le cycle β -lactame au niveau de la liaison amide, ils mènent à la perte d'un groupement carboxyle en provoquant une inactivation de cet antibiotique. Ils catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse du pont amide de l'anneau β -lactame des pénicillines, céphalosporines, monobactames et des carbapénèmes pour donner un acyl enzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (**Kansaye, 2020**).

Les bêta- lactamase à spectre étendu

Les entérobactéries sont soit naturellement sensibles aux bêtalactamines, soit elles sont naturellement résistantes, soit elles ont une résistance acquise. Celle-ci peut être introduite par une mutation chromosomique ou par l'acquisition de matériel génétique. De manière générale, les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux antibiotiques. Mais le plus souvent il s'agit d'enzyme détruisant les bêta-lactamines dit bêta-lactamase.

Selon l'OMS, *K. pneumoniae* produisant des β -lactamases à spectre étendu (BLSE-Kp) est un agent pathogène nosocomial important susceptible de provoquer des maladies infectieuses graves telles que la bactériémie et la pneumonie (**Fils et al., 2021**).

Les BLSE sont des enzymes β -lactamases appartenant à la classe A ou D d' Ambler, elles sont capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines à large spectre et les monobactames. Ces dernières attribuent donc une résistance à l'ensemble des β -lactamines à l'exception des céphamycines (céfoxitine, céfotétan) et des carbapénème (imipénem) et peuvent être inhibées par l'acide clavulanique, le tazobactam ou le sulbactam. La présence de BLSE est fréquemment associée à la résistance aux fluoroquinolones.

Les premières BLSE qui ont été mises en évidence en 1984 par mutation ponctuelle dans la séquence génétique codant pour le site actif des β -lactamases, ce sont les pénicillinases de type TEM et SHV.

De nouvelles BLSE non dérivées des pénicillinases ont été émergé au cours des années 2000, on en distingue : les Céfotaximases- Munich de type CTX-M conférant un plus haut niveau de résistance au céfotaxime qu'à la ceftazidime et rarement les ceftazidimases de type PER, GES et VEB.

Les Facteurs de risque d'acquisition d'une souche BLSE sont :

- Facteurs liés a l'environnement hospitalier : Exposition hospitamière et Dispositifs invasifs
- Facteurs de risque individuels : Co morbidité et l'âge (supérieur à 65 ans)
- Exposition aux antibiotiques : L'utilisation des Béta lactamines à large spectre et des quinolones favorise le mécanisme de sélection et permet l'émergence de souches productrices de BLSE.

L'utilisation des carbapénèmes, en présence de BLSE, favorise aussi l'émergence d'autres enzymes, les métallobêtalactamases qui hydrolysent les carbapénèmes et rendent inefficaces (**Vora et Auckenthaler, 2009**).

6. Résistance aux aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides de la famille des aminoglycosides. La streptomycine fut le premier antibiotique de cette famille à avoir été découvert et fut le plus célèbre après la découverte de la pénicilline car il s'agissait de la première substance bactéricide qui manifestait une activité efficace lors du traitement de la méningite tuberculeuse. Suite à quoi, une série d'antibiotiques naturels issus soit des Streptomyces (streptomycine, néomycine, kanamycine, la tobramycine) ou d'Actinomyces (gentamicine, sisomicine, généticine) ont vu le jour. On notera que :

- les antibiotiques dérivés des Streptomyces voient leur nom s'écrire avec un "y" : -mycine.
- les antibiotiques provenant d'Actinomyces s'écrivent avec un "i" : -micine.

Au fil du temps, les bactéries ont développé une résistance aux aminoglycosides naturels. C'est pourquoi, des produits semi-synthétiques (amikacine, isépaamicine, nétilmicine) ont été développés à partir de ces composés naturels (**Kansaye, 2020**).

Les aminosides se fixent de façon irréversible sur la sous unité 30S du ribosome des bactéries et inhibent la traduction aux stades d'initiation, d'élongation et de terminaison en provoquant des erreurs de lecture de l'ARN messager ce qui entraîne la destruction bactérienne. C'est l'accumulation des erreurs dans les protéines synthétisées qui est responsable de la létalité induite par les aminosides, par l'accumulation de protéines aberrantes (**Davis, 2021**).

La résistance à ces antibiotiques se transmet par des plasmides qui codent pour de multiples enzymes dénaturant les aminosides et ce via l'un des mécanismes suivants:

Altération de la cible ribosomale : par mutation chromosomique du gène codant pour la protéine S12 de la sous-unité 30S diminuant ainsi l'affinité du ribosome

Dysfonctionnement de la perméabilité cellulaire empêchant la pénétration de l'antibiotique: l'imperméabilité est due à des mutations modifiant le système de transport actif de ces molécules et provoquant une diminution d'activité de tous les aminosides. C'est alors une modification de la membrane cytoplasmique.

Inactivations enzymatiques de l'antibiotique se fait par :

- Les acétyltransférases ou AAC catalysent l'acétylation des groupements aminés.
- Les nucléotidyltransférases ou O-adénylyl (ANT ou AAD) agissent par adénylation des groupements hydroxyles.
- Les phosphotransférases ou APH transfèrent un groupement phosphate sur les groupements hydroxyles (**Guillaume, 2015**).

Il convient de noter qu' :

Un seul aminoside peut être inactivé par plusieurs enzymes.

Une seule enzyme peut inactiver plusieurs antibiotiques.

Une seule souche peut produire plusieurs enzymes (**Sekhri-Arafa, 2011**).

Nouveaux mécanismes (Caspar, 2021):

- Méthylases ribosomales ArmA, RmtA-B-C: large spectre, CMI > 256 mg/L.
- La bactérie peut également induire une hyperproduction de la cible : L'antibiotique se retrouve dilué dans ses concentrations normales d'utilisation puisque les cibles sont augmentées quantitativement.
- Un groupe de gènes plasmidiques; *tmexCD1 - toprJ1*, codant pour une pompe d'efflux multi-médicaments.
- Piégeage de l'antibiotique: une enzyme modificatrice peut parfois neutraliser l'action d'un aminoside par une liaison affine sans pour autant modifier sa structure. Le piégeage de l'antibiotique a été proposé comme mécanisme responsable du phénotype de résistance à la kanamycine et à la tobramycine alors que la gentamicine et la nétilmicine restent actives. Lorsque la bactérie produit une grande quantité de la phosphotransférase qui reconnaît la tobramycine sans la modifier celle-ci peut être piégée dans un complexe enzyme-substrat fonctionnellement inactif.
- Un autre mécanisme de résistance plasmidique s'effectue par l'inactivation des quinolones par l'acetyltransférase, ce variant confère la résistance simultanée aux fluoroquinolones et aux aminosides.

7. Résistance aux quinolones

Les quinolones - ou fluoroquinolones - sont des antibiotiques à spectre antibactérien large, obtenus par synthèse chimique à partir de la chloroquine (connue, elle, depuis 1939) : la 7-chloroquinoline au pouvoir bactéricide élevé. Ce n'est qu'en 1958 que la première quinolone, l'acide nalidixique, fut découverte par Georges Leshner et a été mise au point pour la première fois en 1962 indiqué dans le traitement des infections du tractus urinaire. Depuis, d'autres dérivés ont été synthétisés.

L'avènement des fluoroquinolones par l'ajout d'un atome fluor en position 6 a par la suite permis d'augmenter l'activité antibactérienne et d'élargir le spectre d'action. C'est dans les années 80 que les premières fluoroquinolones ont été synthétisées et les anti-

pneumococciques (FQAP) dans les années 90.

Les quinolones agissent sur l'ADN bactérien. Elles bloquent la synthèse de l'ADN bactérien, inhibant de manière sélective l'action de deux enzymes, l'ADN-gyrase et la topoisomérase IV.

La résistance aux quinolones fait intervenir plusieurs mécanismes, dont le plus fréquent et le mieux connu est la modification de la cible

Inhibition enzymatique

Le micro-organisme produit une enzyme qui inactive l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant (**Fosseprez, 2013**).

Modification de la cible

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composant antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. Ce mécanisme va jouer sur de différents composants cellulaires (**Coustès, 2016 ; Muylaert et Mainil, 2012**).

Altération de l'ADN-gyrase et de la topo-isomérase

L'ADN gyrase est une enzyme nécessaire à l'activité des quinolones. Des mutations spontanées d'un seul acide aminé de l'ADN gyrase engendrent de la résistance. Il en est de même pour les mutations de la topoisomérase IV (**Sidibe, 2020**).

Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome (**Belheine et Bouziour, 2020**).

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**).

Résistance plasmidiques

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

8. Résistance aux divers antibiotiques

8.1 Résistance à la colistine

Les polymyxines (c'est-à-dire la polymyxine B et la colistine) ont été découvertes à l'origine dans les années 1940 et abandonnées dans les années 1970 en raison d'une néphrotoxicité et d'une neurotoxicité potentielles. La colistine est maintenant considérée comme la dernière option de traitement pour *K. pneumoniae* producteur de KPC, mais les rapports d'isolats de *Klebsiella* résistants à la colistine (CoR *K. p*) sont en augmentation et leur émergence est un problème de santé publique car cet antibiotique est devenu la dernière ligne de traitement des infections causées par des Gram négatifs multirésistants (MDR) (Kidd, 2017 ; Zhu, 2020).

La colistine cationique interagit avec le lipide A anionique des lipopolysaccharides (LPS) de la membrane externe, permettant la pénétration à travers la membrane suite au déplacement des ions divalents (Ca^{2+} et Mg^{2+}). Ceci conduit à une désorganisation de l'enveloppe cellulaire, une fuite des composants cellulaires et finalement à la mort cellulaire. Des mécanismes alternatifs ont également été signalés, notamment l'inhibition de la NADH-quinone oxydoréductase de type II liée à la membrane et la génération de radicaux hydroxyle cytotoxiques.

La résistance à la colistine est donc associée à un remodelage du lipide A qui peut se faire par le 4-amino-4-désoxy-L-arabinose et/ou la phosphoéthanolamine ou par les produits

des gènes *pmr* (résistance à la polymyxine) qui favorisent la modification covalente du lipopolysaccharide, réduisant la fixation de la colistine à la surface externe de *K.p* (Zhu, 2020 ; Jaidane, 2018).

8.2 Résistance au chloramphénicol

Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique d'origine naturelle ou semi-synthétique à large spectre de la famille phénicolés. Cette molécules a été isolé en 1947 a partir de *Streptomyces venezuelaec* qui cible la peptidyl-transpérase de la sous unité 50S du ribosome bactérien (Williams, 2019).

Cet antibiotique empêche l'attachement des amino-acyles-ARNt au site A du ribosome ce qui inhibe la phase d'élongation de la traduction de l'ARNm et donc empêcher la formation de nouvelles protéines et bloque le transfert des acides aminés aux chaines peptidiques en se fixant spécifiquement aux résidus A2451 et A2452 de l'ARNr 23S14 de la sous-unité 50S du ribosome bactérien (Belheine et Bouziour, 2020).

Il existe trois mécanismes de résistance au chloramphénicol :

- une réduction de la perméabilité membranaire de l'antibiotique.
- une mutation sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien.
- une inactivation enzymatique appelée chloramphénicol-acétyl-transférase.

Le mécanisme de résistance le plus fréquent pour le chloramphénicol provient de la présence des mutations au niveau de gène *cat* qui code une enzyme appelée chloramphénicol-acétyl-transférase et qui conduisent à leur perte (Belheine et Bouziour, 2020).

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

1. Cadre de l'étude

Nous avons choisi de mener cette recherche sur *Klebsiella pneumoniae*, dans le but d'étudier l'évolution de la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques et sa propagation dans les services hospitaliers. L'étude a été effectuée sur les prélèvements du laboratoire de microbiologie du HMUR de Constantine.

2. Centre de l'étude

L'étude a été réalisée au niveau de l'unité de bactériologie de l'hôpital militaire universitaire régional de Constantine (HMURC) « Commandant Abdelali Benbaatouche ». L'HMURC est une structure dotée de 400 lits et constituée de l'ensemble des services administratifs, chirurgicaux et médicaux (Boussouf et Yahia Cherif, 2020).

Les services impliqués dans notre études sont: la pédiatrie, réanimation, consultation externe, médecine interne, la chirurgie, et l'orthopédie.

3. Type de l'étude

Ce travail renferme :

- Une étude rétrospective effectuée sur une période de trois ans et 5 mois (allant de janvier 2018 jusqu'en mai 2021).

Ce travail, par son caractère rétrospectif, a été limité par l'absence de certaines informations dans les registres du laboratoire tel que l'âge ou le profil de résistance de certains antibiotiques indisponibles dans certaines périodes.

- Une étude prospective basée sur l'identification et la détermination des profils de résistance de *Klebsiella pneumoniae* prélevée de l'examen cytbactériologique des urines (ECBU), la bactériologie générale, l'hémoculture et des prélèvements vaginaux, a été également réalisée

4. Matériel

4.1 Souches bactériennes

Les souches proviennent de patients hospitalisés dans les différents services, et de patients qui consultent en externe.

4.1.1 Taille de l'échantillon

Au total 332 souches ont été isolées.

4.2. Recueil des données

Les données sont récupérées à partir des registres et des fiches de l'antibiogramme du laboratoire de microbiologie. Ils comportent les services, la nature des échantillons, ainsi que le nom, prénom et l'âge du malade.

4.2.1 Critères d'inclusion

Cette étude concerne l'ensemble des souches de *K.p* isolées et identifiées à partir des différents prélèvements pathologiques.

4.2.2 Critères d'exclusion

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

4.2.3 Considérations éthiques

L'anonymat et la confidentialité des informations des patients ont été respectés lors du recueil des données.

4.3 Prélèvements

Tous les prélèvements sont réalisés à des fins diagnostiques.

Tableau 2: Liste des prélèvements selon la nature de l'examen.

Nature de l'examen	Prélèvement
Hémoculture	Sang
ECBU	Urine
Bactériologie générale	Pus
	Sonde urinaire
	Sonde vésicale

5. Méthode

5.1 Culture sur milieu Hektoen

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

5.2 Identification macroscopique

L'examen macroscopique est la première étape d'identification. Il a pour but de définir huit critères (aspect, forme, chromogénèse, opacité, élévation, surface, consistance, odeur) de *Klebsiella pneumoniae*.

5.3 Identification microscopique

5.3.1 Etat Frais

Dans le but d'une étude microscopique de la bactérie en son état vivant et en l'absence de toute fixation ou coloration on emploie la méthode d'observation à l'état frais qui permet d'observer : la morphologie de la bactérie, le mode de groupement et la mobilité.

En microbiologie, une préparation à l'état frais consiste à enfermer entre lame et lamelle une suspension pas très dense et non débordée de microorganismes vivants afin de limiter la diffusion des micro-organismes dans l'environnement du laboratoire.



Figure 3: Prélèvement d'une colonie à partir d'une culture sur gélose.



Figure 4: Dépôt de lamelle sur lame destinée à l'observation microscopique à l'état frais.

Observation au microscope optique :

- Faire la mise au point en faible luminosité à l'objectif x40.
- Attendre 1 minute pour ne pas confondre une mobilité positive et un simple mouvement osmotique.

5.3 Identification biochimique (Galerie Api 20E)

Cette technique consiste à réaliser 20 tests biochimiques. Les résultats seront interprétés à l'aide d'un logiciel qui contient la base de données API 20E ou dans notre cas un manuel API 20E.



Figure 5 : Résultats positifs et négatifs des tests de la galerie Api 20E (Gaci, 2019).

Les caractères successifs sont transformés dans un code en base 8 par triplets, en fonction de la position des caractères et de leur signe : tout caractère négatif vaut 0 point ; les caractères positifs en position 1 du triplet ont 1 point, en position 2 : 2 points et en position 3 : 4 points. Le résultat est reporté sur la fiche d'identification et il faut se référer au catalogue pour identifier la souche à l'aide du code.

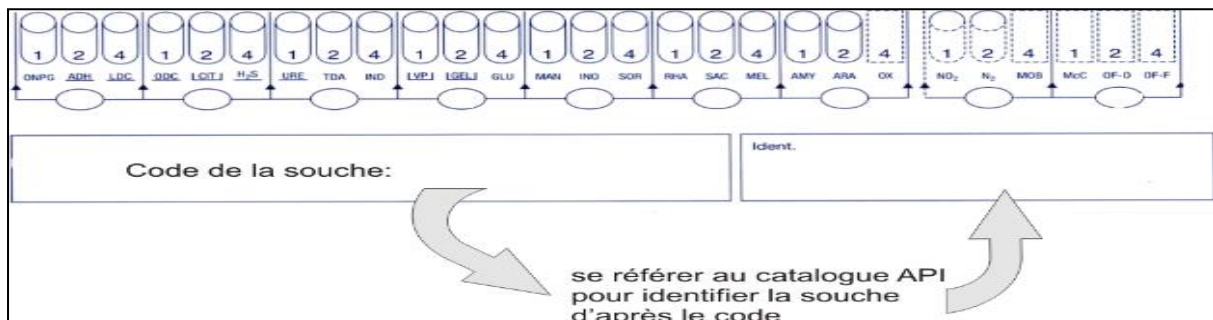


Figure 6: Fiche technique d'une galerie Api 20E.

5.4 L'Antibiogramme :

Pour chaque souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée, un antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton. La technique de l'écouvillonnage et la mesure des diamètres se font selon les recommandations du CLSI (Scavizzi *et al.*, 2000).

Réalisation de l'inoculum bactérien :

A partir d'une culture pure de 18 h à 24 h sur milieu d'isolement approprié, prélever à l'aide d'un écouvillon stérile une colonie bien isolée, et la transférer dans un tube d'eau physiologique stérile.

Ensemencement par écouvillonnage :

- Bien tremper l'écouvillon dans l'inoculum à ensemenecer.
- L'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube pour le décharger.
- Ensemencer avec l'écouvillon sur toute de la surface du milieu gélosé avec des stries bien serrées, l'opération est répéter 3 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois pour assurer une distribution uniforme, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même pour décharger la majorité de l'inoculum.
- Faire passer l'écouvillon sur toute la périphérie de la boîte de pétri avant de la fermer.

Application des disques d'antibiotiques :

- Appliquer des disques sur la surface gélosée avec un distributeur ou manuellement avec une pince flambée.
- Appliquer une légère pression avec la pince pour assurer un contact complet du disque avec la gélose.
- Incubation rapide dans les 15 minutes qui suivent le dépôt des disques à 37°C pendant 24h.



Figure 7 : Dépôt des disques d'antibiotiques sur boîte de pétri contenant le milieu MH.

Les antibiotiques utilisés sont:

Tableau 3: Liste des antibiotiques utilisés et leurs abréviations.

Familles	Antibiotiques	Symboles
Pénicillines	Ampicilline	AMP
	Amoxicilline	AMX
	Amoxicilline-acide clavulanique	AMC
	Ticarcilline	TIC
	Pipéracilline	PRL
Céphalosporines	Céfazoline	KZ
	Céfalotine / Céfalexine	CF
	Cefoxitine	FOX

	Cefotaxime	CTX
	Ceftriaxone	CRO
	Céfixime	CFM
	Céfépime	FEP
	Cefpirome	CPO
Carabapénèmes	Imipénème	IPM
	Ertapénème	ERT
Aminosides	Amikacine	AN
	Gentamicine	GM
	Tobramycine	TM
Quinolones	Acide nalidixique	NA
	Norfloxacin	NOR
	Ofloxacin	OFX
	Ciprofloxacine	CIP
Divers	Colistine	CT
	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	SXT
	Furanes	FT
	Fosfomycine	FOS
	Chloromphénicol	C

Lecture et interprétation

Les résultats sont exprimés en mm après lecture des diamètres des plages de lyse et sont interprétés en trois catégories: S= sensible, R= résistant, et I= intermédiaire, en tenant compte des normes CLSI (**Clinical and Laboratory Standards Institute**).

5.5 Recherche de la β -lactamase à spectre élargi

La BLSE est soupçonnée devant toute diminution du diamètre de la zone d'inhibition d'une C3G.

Test de synergie

La recherche des BLSE se fait en routine en utilisant un test de synergie qui se traduit par une image dite bouchon de champagne. Cette recherche se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamases (AMC) à 3cm distance centre à centre d'un disque C3G (ceftriaxone,

ceftazidime, et cefotaxime) ou un monobactam (aztréonam). Incuber 18h à 37 °C.

La production d'une β -lactamase de type penicillinase rend les souches de K.p résistantes aux pénicillines se traduit par l'apparition d'une image de synergie entre les disques : AMC et CTX, AMC et CAZ, AMC et ATM.

Technique de double disque (test espagnol):

C'est un test de confirmation de la présence des BLSE, il est le plus sensible et consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G. Il devra être fait devant :

- L'absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G.
- La présence d'une résistance aux molécules suivantes : ampicilline, ticarcilline, céfazoline avec un diamètre inférieur à 6 mm, par contre AMC présente un diamètre d'inhibition.

La technique est la suivante :

Deux disques sont déposés, un disque AMC et un disque de C3G (CTX ou CAZ) à une distance de 3cm. Après 1h d'incubation à température ambiante, ôter le disque d'AMC et le remplacer par un C3G. Incuber 18h à 35°C.

Le test est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque est inférieur de 4 à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

Test du rapprochement des disques

Lorsqu'un second mécanisme de résistance est susceptible de masquer la présence de l'image de synergie, il est possible de retrouver cette dernière en rapprochant les disques de C3G ou de l'aztreonam (15 à 20) du disque de l'AMC en le plaçant au milieu de la boîte de Pétri.

Test à la cloxacilline

Il est parfois difficile de distinguer les hypersécrétions de céphalosporinase (CHN) des BLSE. La cloxacilline ajoutée au milieu pour antibiogramme Mueller-Hinton, inhibe in vitro les céphalosporinases et reste inefficace sur les pénicillinases des BGN. L'inhibition de la céphalosporinase par la cloxacilline entraîne donc l'apparition d'autres mécanismes de résistances acquises (synthèse de BLSE, pénicillinase, imperméabilité).

Deux autres tests sont utilisés pour la détection de BLSE :

Les bandelettes E-test spécifiques et les systèmes automatisés (Phoenix de Becton Dickinson ou le Vitek de bioMérieux).

5.6 Recueil de données

Les mêmes étapes d'identifications ont été réalisées pour tous les isolats recueillis lors de notre recensement. Pour chaque cas, l'âge, sexe, nature du prélèvement, service et profil de résistance et de sensibilité aux antibiotiques ont été mentionnés sauf pour certains par manque d'informations.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

Les 332 souches positives aux infection par *K.p* sont réparties comme suit:

Tableau 4: Répartition des souches isolées sur les quatre années.

Année	Nombre de souches	Pourcentage %
2018	158	47.59
2019	76	22.89
2020	44	13.25
2021	54	16.22
Total	332	100

1. Etude macroscopique

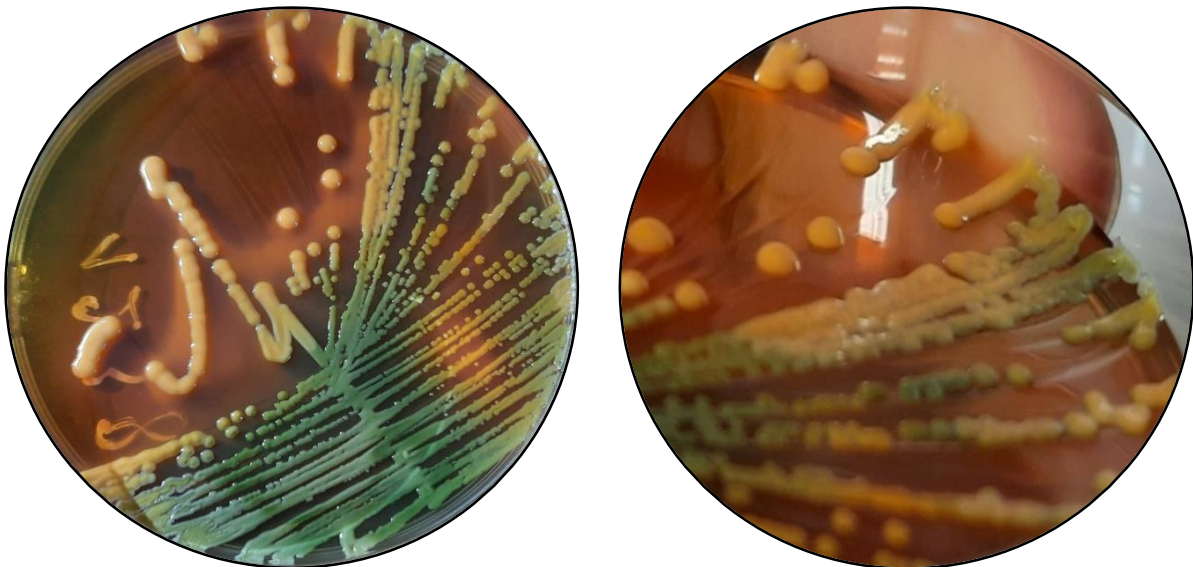


Figure 8 et 9 : Colonies de *K. p* sur gélose Hektoen.

Après 24h d'incubation à 37°C, on obtient sur le milieu Hektoen des colonies rondes, bombées et muqueuses.

2. Etude microscopique

L'étude microscopique révèle des bacilles, encapsulés, immobiles répondant négativement à la coloration de Gram.

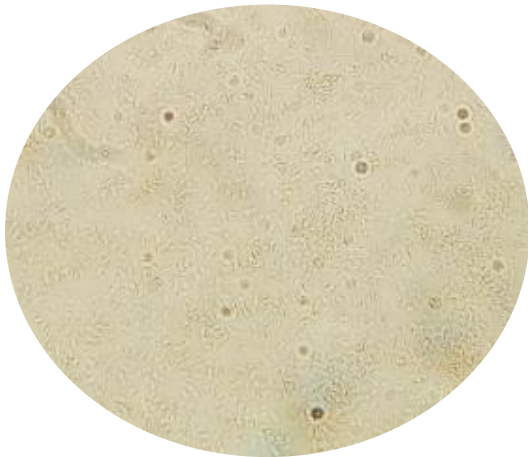


Figure 10: Observation microscopique après l'état frais avec un grossissement x40.

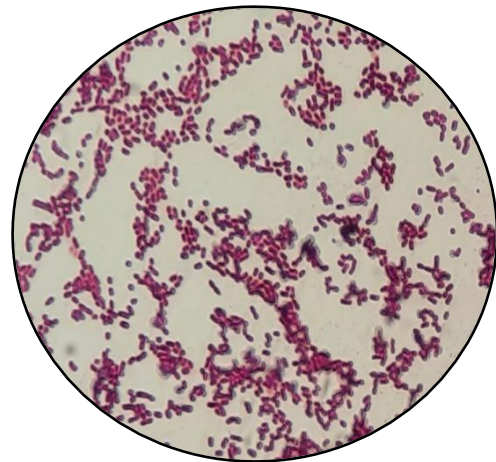


Figure 11 : Observation microscopique de la coloration de Gram à l'objectif x100.

3. Etude biochimique

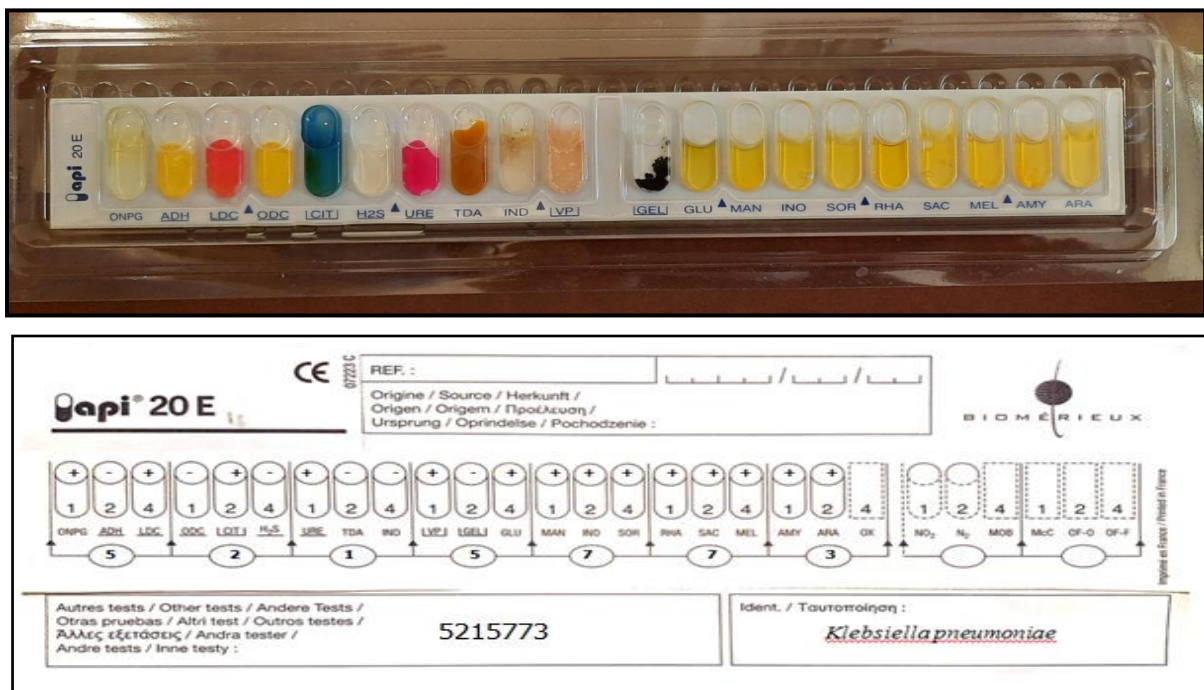


Figure 12: Résultat de la galerie Api 20E.

La figure ci-dessus indique que la souche *K.p* fermente les sucres suivants: glucose , mannose, inositol, sorbitol, rhamnose, saccharose, mélibiose, l'amygdaline et l'arabinose. Elle est bêta-galactosidase positive, arginine dihydrolase négative, lysine décarboxylase positive, ornithine décarboxylase négative, citrate positif , H₂S négatif, uréase positive, tryptophane désaminase négative, indole négatif; acétoïne positive, gélatinase négative .

4. Antibiogramme

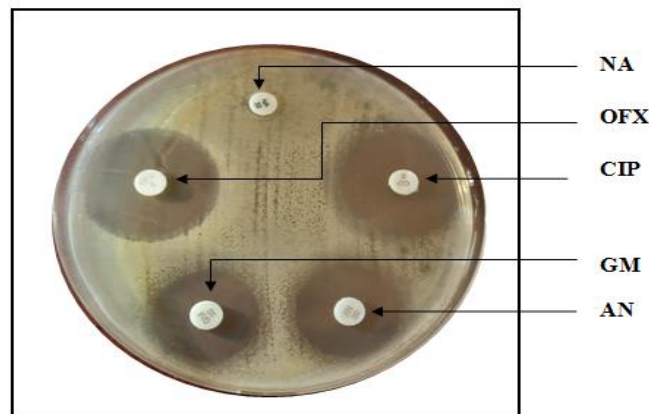


Figure 13 : Antibiogramme d'une souche isolée de *K.p* pour les antibiotiques NA, OFX, CIP, GM et AN sur milieu MH.

L'antibiogramme révèle des zones d'inhibition de 29mm autour des disques de l'ofloxacine et la ciprofloxacine indiquant que les quinolones sont actifs sur cette souche de *K.p*. L'absence de zone de lyse autour du disque de l'acide nalidixique par contre indique que cette souche y est résistante. Concernant les aminosides, les zones d'inhibition de 24 et 20 mm autour de l'amikacine et la gentamicine respectivement indiquent que ces molécules restent efficaces contre cette souche.

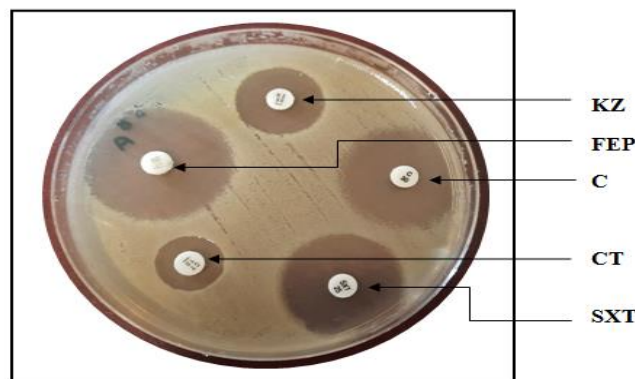


Figure 14 : Antibiogramme d'une souche de *K.p* pour les antibiotiques KZ, FEP, C, CT et SXT sur milieu MH.

La zone de lyse de seulement 19mm de diamètre autour du disque de la céfazoline indique que cette souche de *K.p* est résistante à cet antibiotique. FEP quant à elle garde une bonne activité contre la souche. La colistine, le triméthoprime- sulfaméthoxazole et le chloramphénicol forment des plages de lyse de 13, 15 et 25mm respectivement indiquant une sensibilité de cette souche envers ces antibiotiques.

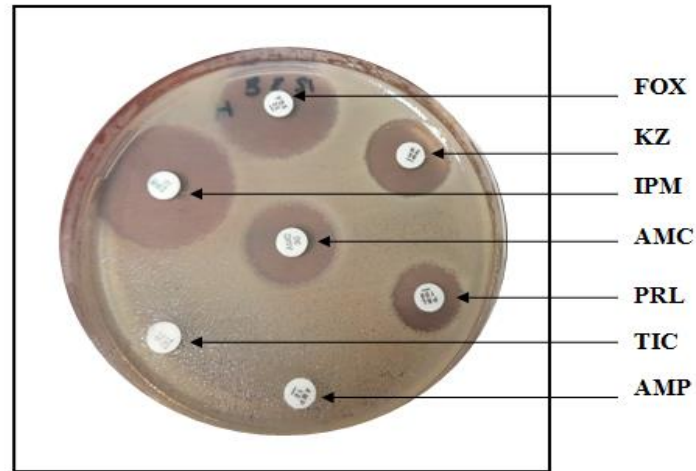


Figure 15: Antibiogramme d'une souche de *K.p* pour les antibiotiques FOX, KZ, AMC, PRL, TIC et AMP sur milieu MH.

Les carbapénèmes et l'association amoxicilline- acide clavulanique se sont révélés être efficaces contre cette souche *K.p* contrairement aux autres pénicillines. Les carbapénèmes également peuvent traiter cette souche

5. Répartition des souches de *Klebsiella pneumoniae*

5.1 Répartition des souches de *Klebsiella pneumoniae* selon l'âge

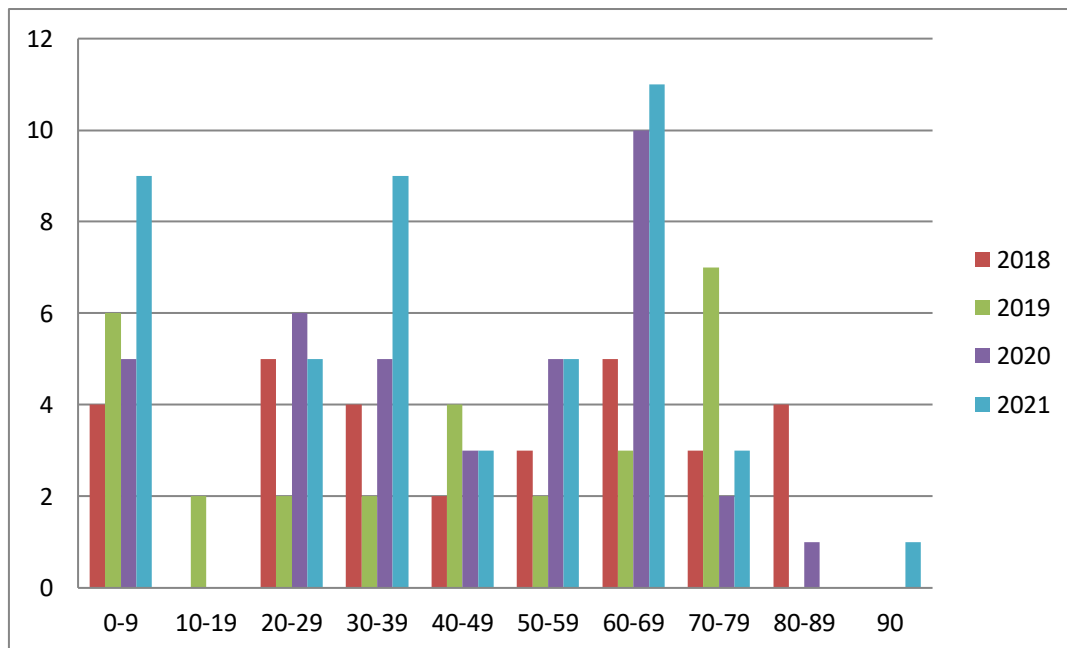


Figure 16: Répartition des souches de *K. p* selon l'âge (n=332).

En 2017, les personnes entre 70 et 79 étaient les plus sensibles aux infections *K.p.* Durant les autres années, les hexagénères étaient les plus touchés. Au contraire, les personnes qui ont la quarantaine où dont l'âge se situe entre 10 et 50 ans étaient les moins atteintes pour les années 2018, 2019 et 2021 quant à l'année 2020, ce fut les personnes âgées de plus de 70ans. Pour les taux les plus élevés, nos résultats concordent avec ceux de l' European Center For Disease Prevention and Control (**ECDC**) en 2019 pour la France et l'Italie mais différent de ceux de la Grèce et l'Angleterre. Dans cette dernière, la catégorie d'âge qui présente le plus de cas est celle entre 5 et 18 ans, ce qui pourrait s'accorder avec la deuxième catégorie d'âge la plus sensibles à *K. p* selon nos données, c'est à dire les enfants de moins de 10 ans. Comme ce sont les personnes âgées et les enfants de moins de 10 ans qui sont les plus touchés, il semblerait que l'âge influence les infections à *K.p* en vue de son rapport avec le statut immunitaire des personnes.

5. 2 Répartition des souches de *Klebsiella pneumoniae* selon le sexe

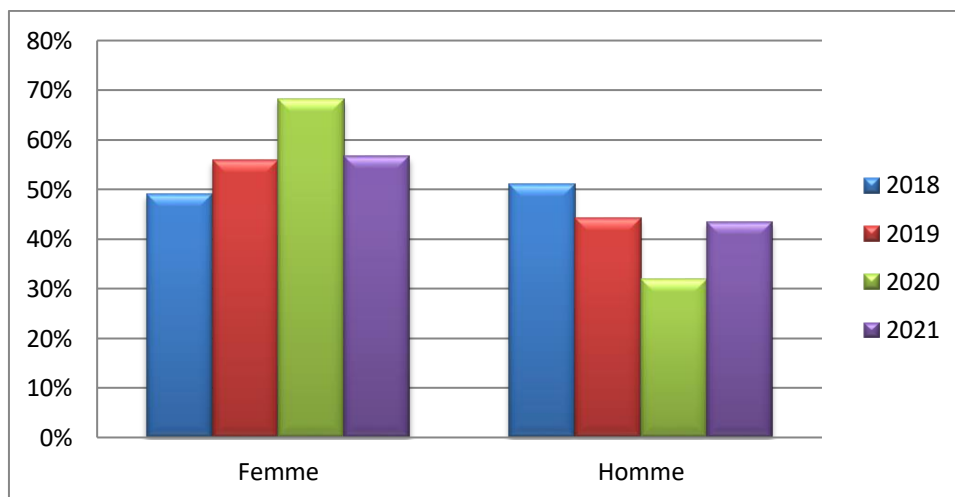


Figure 17 : Répartition des souches de *K.p* selon le sexe (n=332).

A l'exception de 2018, la majorité des souches *Klebsiella pneumoniae* récoltées appartenaient au sexe féminin. Ce résultat est identique à ceux de la Grèce l'Italie (**ECDC, 2019**) et le Maroc (**Es-Saoudy, 2019**) . Quant aux données de la France, l'Angleterre (**ECDC, 2019**) et ceux fournis par Sekhri-Araf en 2011, ils concordent avec les notres de 2018 où les hommes étaient les plus touchés. Au total, nous avons 54% de femmes et 46% d'homme ce qui nous donne un sexe-ratio de 1,17. Cette petite différence peut suggérer que ce critère physiologique n'influence pas les infections à *K.p*.

5.3 Répartition des souches de *Klebsiella pneumoniae* selon les services

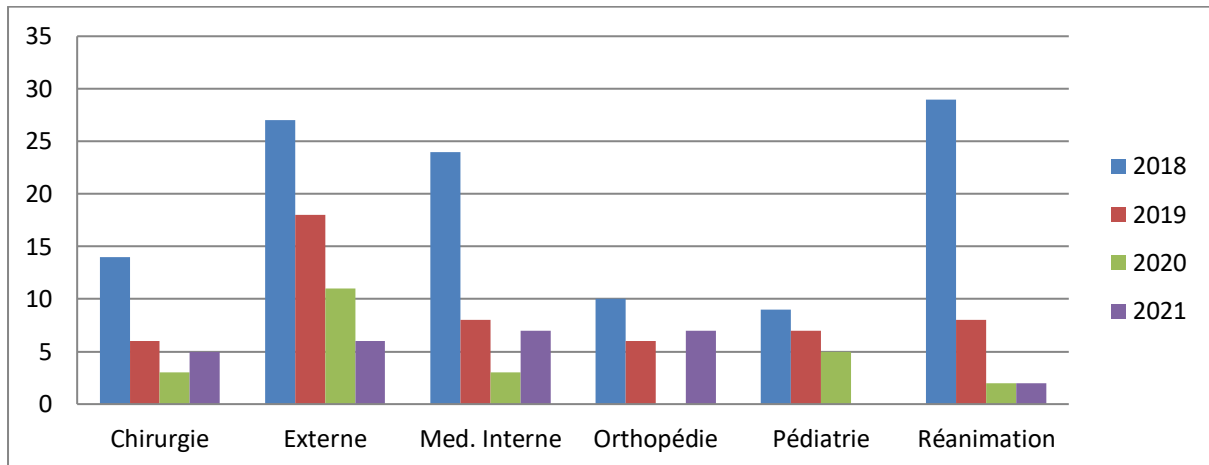


Figure 18: Répartition des souches de *K.p* selon les services (n=332).

81% des cas isolés sont des souches hospitalières issues des différents services de l'hôpital. Le plus incriminé d'entre eux fut celui de la réanimation en 2018 comme enregistré dans le rapport de Sekhri-Arafa en 2011, accompagné de celui de la médecine interne en 2019 pour concorder avec les résultats du Maroc (**Es-Saoudy, 2019**) contrairement à ceux de la Tunisie qui montrent que le service le plus incriminé est celui de la chirurgie avec un taux de 30.5% (**Ben Redjab et al., 2010**). En 2020, ce fut le service de pédiatre qui compta le plus de cas et finalement en 2021, c'était celui de la médecine interne et de l'orthopédie. Par contre la plus basse distribution est enregistrée dans le service de pédiatrie en 2018 et 2021 et de l'orthopédie en 2019 et 2020, ce qui ne concorde pas avec les résultats de la Tunisie en 2010 qui enregistre la plus faible fréquence de *K.p* chez les externes (**Ben Redjab et al., 2010**).

5.4 Répartition des souches de *Klebsiella pneumoniae* selon les prélèvements

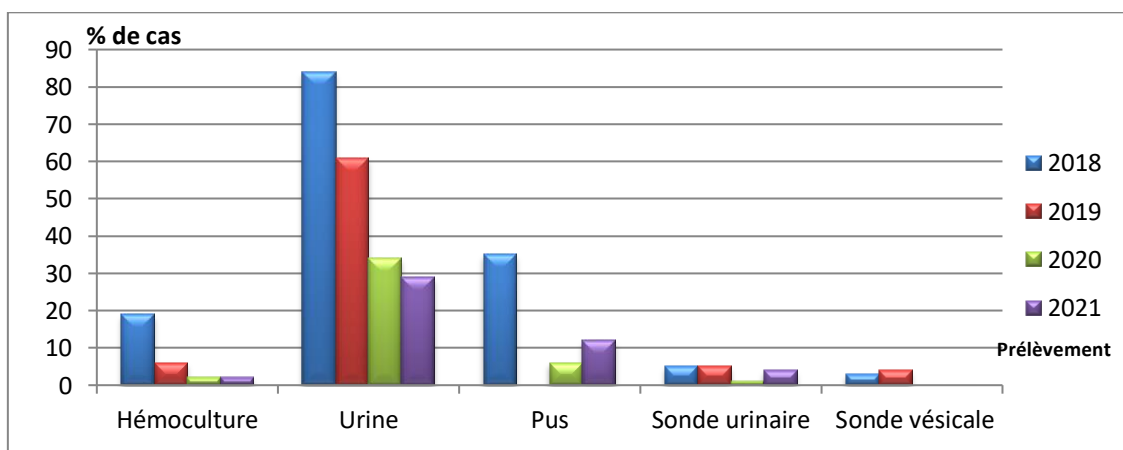


Figure 19: Répartition des souches de *K.p* selon les prélèvements (n=332).

Les urines sont le prélèvement le plus concerné par les infections de *K.p* avec un taux de 64% . Il en est de même pour les résultats fournis par mission Spares, Santé publique France en 2020 avec un taux de 60%. Ceux par contre dans les quels *k.p* est le moins retrouvée sont la sonde vésicale pour les deux premières années, la sonde urinaire et les prélèvements d'hémoculture pour l'année 2020 et 2021 respectivement. Ces résultats ne concordent pas avec ceux de Sekhri-Arafa de 2011 où l'ordre des prélèvements était le pus, l'hémoculture et finalement l'urine allant du taux le plus élevé au moins élevé.

6. Phénotype de résistance

6.1 Resistance aux pénicillines

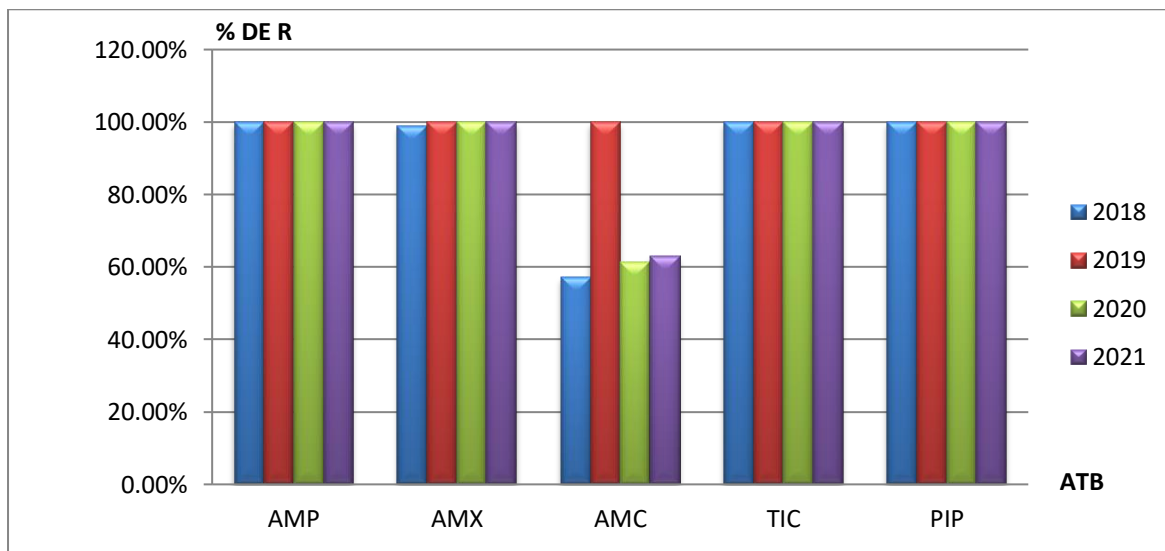


Figure 20: Profil de résistance de *K.p* aux pénicillines (n=332).

Klebsiella pneumoniae présente une résistance totale de 100% pour l'ampicilline (AMP), amoxicilline (AMX) et la ticarcilline (TIC) durant toute la période et ce grâce à un gène chromosomique qui lui confère une résistance naturelle .Elle est également résistance à 100% à la pipéracilline (PIP). Ce constat est différent en ce qui concerne l'association de l'amoxicilline avec l'acide clavulanique (AMC), qui quant à lui perdait de son efficacité progressivement durant l'année 2018-2019 où la résistance atteint son maximum avec un taux de 100%. Suite à quoi, les souches de *K.p* étaient de moins en moins résistantes à ce dernier pour finalement frôler le taux initial d'environ 60%.

Pour l'ampicilline et l'amoxicilline, nos résultats sont à taux égal avec ceux fournis par

Sekhri-Arafa en 2011. Concernant la ticarcilline (TIC) une légère augmentation de 3% est signalée. Cependant, la PIP a quant à elle fait un bond de 19%. La résistance à l'AMC a évolué de plus de 15% en 2017 en se référant aux résultats du réseau de l'AARN qui se rapprochent des nôtres de 2018 mais qui restent en dessous du taux compté à partir de 2019.

6.2 Résistance aux céphalosporines

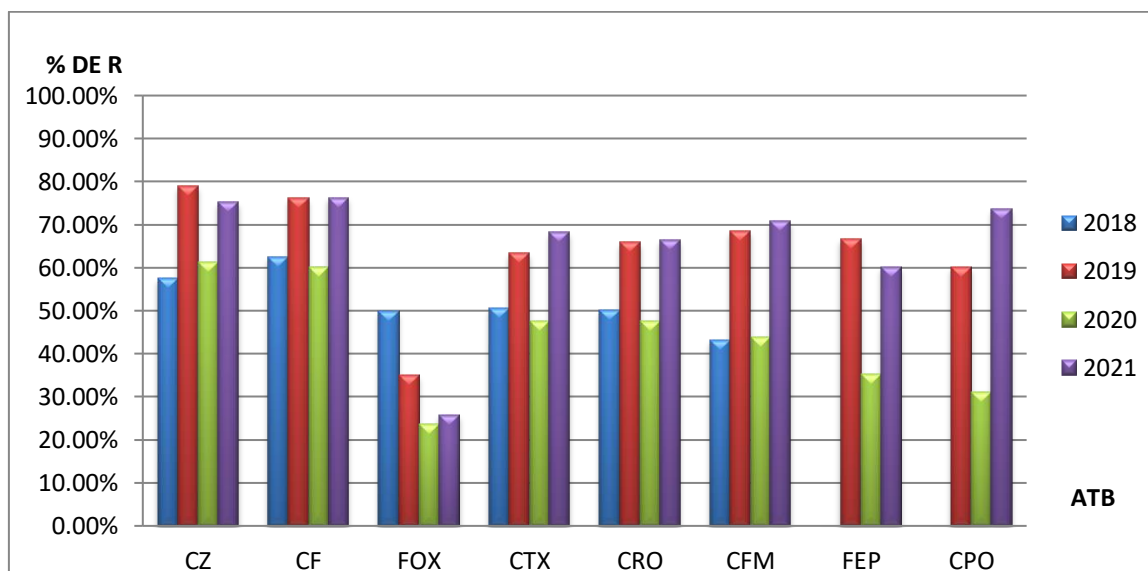


Figure 21: Profil de résistance de *K.p* aux céphalosporines (n=332).

Globalement, la résistance de *K.p* à cette famille d'antibiotiques a augmenté durant l'année 2019 et les 5 mois de l'année 2021. La baisse du taux de résistance signalé en 2020 est peut être due au nombre restreint des souches isolées en cette année ou à la préservation de ces antibiotiques pour les malades atteints de Covid. La résistance à la céfalotine est due à une production de pénicillinase de haut niveau et celle au céfépime et au cefpirome semble liée à la combinaison de deux mécanismes la production à haut niveau d'une BLSE SHV-5 et une diminution de la perméabilité de la membrane externe. La résistance au cefotaxime est un marqueur important pour la détection des BLSE. D'après nos résultats, 57.56% des souches y sont résistantes. Les infections causées par les *K.p* BLSE présentent un risque accru d'échec thérapeutique car les souches résistantes aux β -lactamines sont souvent résistantes aux autres familles d'antibiotiques laissant le champ thérapeutique très réduit.

En 2018, or le céfépime et le cefpirome qui n'étaient pas mentionnés dans les fiches des profils de résistance en cette année, les 5 autres antibiotiques de cette famille avaient déjà commencé à perdre en efficacité avec 62% de résistance pour la céfalotine,

suivie de la céfazoline avec un écart de 5%, quant à la cefoxitine, cefotaxime et au ceftriaxone, elles étaient au même niveau avec 50% de résistance un pourcentage similaire à celui rencontré en Italie lors de la même année (ECDC, 2019).

A noter que la résistance aux CPO et FEP avait augmenté de façon sporadique lors de la première année se rapprochant du taux de résistance signalé en Grèce et qui vaut 66,5% (ECDC, 2019) il en est de même pour la céfixime. Par la suite, l'année allant de 2020 à 2021 la résistance a évolué de façon à atteindre les taux les plus élevés c'est à dire aux alentours de 76% pour la céfazoline et la céfalotine avec un écart de différence de 2% entre chaque antibiotique de cet ordre ; cefpirome, céfixime, cefotaxime, ceftriaxone. Le céfépime a dépassé de peu la marge des 60%. La résistance au cefpirome a enregistré une légère augmentation d'environ 2%.

Les résultats concernant CTX et CRO sont en accord avec ceux présentés par Sekhri-Arafa (2011) et l'AARN (2017) au alentour de 60% de résistance. Il en est de même pour la CZ entre les nôtres et ceux l'AARN mais ces résultats représentent le double de ce qui était en 2011 où le taux de résistance était à 37%. Lors de cette même année, *K.p* était encore totalement sensible à FOX, puis en 2017, 9% des souches sont devenues résistantes et à partir de là, les cas ont triplé en se référant à nos données. On remarque que le Maroc (Barguiga *et al.*, 2013) et la Côte d'Ivoire (Gadou, 2017) représentent tout deux presque la totalité des souches de *K.pneumoniae* isolées comme résistantes au CTX et au CRO à un taux sévère d'environ 100% tandis que nos souches isolées entre 2018 et 2021 montrent une augmentation de résistance de 18% et ne dépassent pas les 69%. Quoiqu'en 2020 l'antibiotiques FOX en Algérie augmentent d'efficacité et concordent avec ceux du Maroc en 2010.

6.3 Résistance aux carbapénèmes

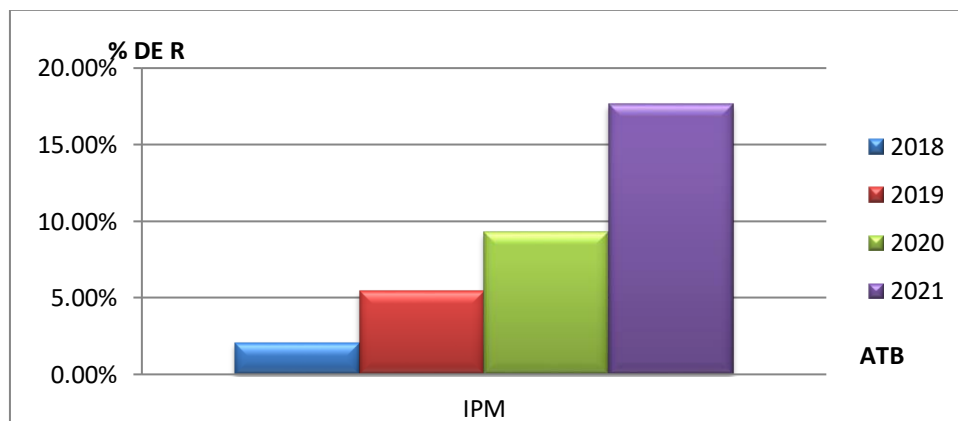


Figure 22 : Profil de résistance de *K.p* aux carbapénèmes.

D'après nos données on peut facilement déduire que *K.p* présente une résistance évolutive à l'imipénème (de 2% à 9%) jusqu'en 2021 où cette résistance devient plus accentuée et atteint les 18% de résistance. Ce qui signifie qu'en 17 mois, *K.p* a acquis un pourcentage de résistance plus qu'elle en a fait en 24 mois. Ces résultats sont assez inquiétants, car l'IPM est considéré comme la dernière ligne de défense dans l'arsenal thérapeutique contre les BLSE. Le taux de résistance que nous suggérons représente le double de celui décrit en Tunisie (**Krir et al., 2019**). La Grèce est exceptionnellement résistante aux carbapénèmes. Même si son taux de résistance a diminué en 2019 (moins de 60%), il reste incomparable avec celui des autres pays d'Europe ou du notre. Ce dernier se rapproche le plus de celui de la France et l'Angleterre (**ECDC, 20169**). Nos résultats de 2018 concordent avec ceux de l'AARN en 2017 avec 2% de résistance mais différent tous deux de ceux présentés en 2011 par Sekhri-Arafa où la résistance aux IPM était nulle ce qui va de même avec la Cote d'Ivoire (**Gadou, 2019**). La résistance à l'imipénème est probablement liée soit à un phénomène d'imperméabilité associé à une modification des porines membranaires, soit à une production de carbapénémases.

6.4 Résistance aux aminosides

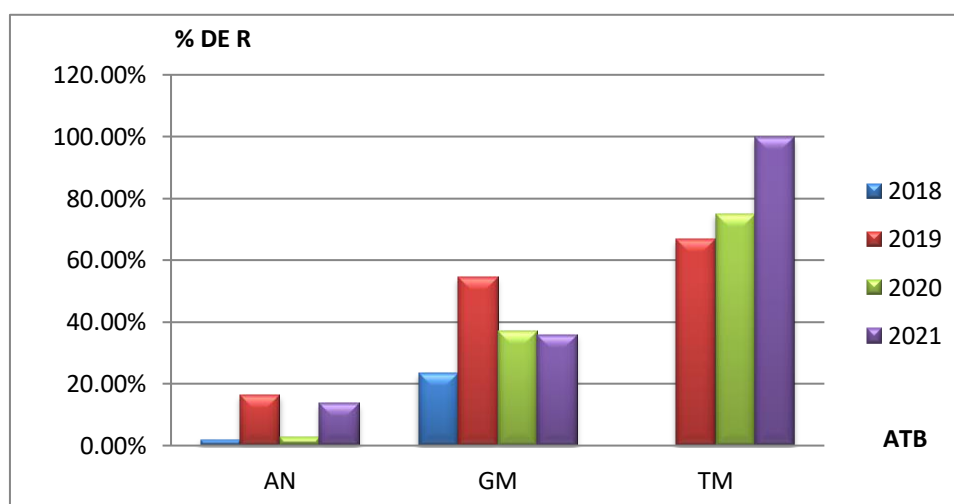


Figure 23 : Profils de résistance de *K. p* aux aminosides (n=332).

La résistance aux 3 ATB est en perpétuelle augmentation au cours de la première année avec une élévation plus énoncée pour la tobramycine, cette résistance est due à une modification enzymatique. Ces résultats sont en accord avec ceux décrits en France et en Italie mais représentent seulement la moitié du pourcentage signalé en Grèce (55%) et sont

largement supérieurs par rapport aux autres pays ainsi que pour les autres antibiotiques de cette famille (ECDC, 2019). A l'exception de la tobramycine, on remarque une concordance de données pour les aminosides entre nos résultats et ceux de l'AARN de 2017 en comparaison avec ceux de Sekhri-Arafa de 2011 qui sont plus élevés. Quant à la résistance à la TM, le pourcentage fourni par Sekhri-Arafa, 2011 est très proche du notre en 2019 entre (65 et 66% de résistance). Mais à partir de là, nos résultats proposent une augmentation sévère de la résistance jusqu'à atteindre le taux de 100% en 2021. La résistance aux aminosides se transmet par des plasmides qui codent pour des enzymes qui dénaturent ces antibiotiques. Exemple les acétyltransférases qui catalysent l'acétylation des groupements aminés, les nucléotidyltransférases qui agissent par adénylation des groupements hydroxyles et les phosphotransférases qui transfèrent un groupement phosphate sur les groupements hydroxyles (Guillaume, 2015).

6.5 Résistance aux quinolones et fluoroquinolones

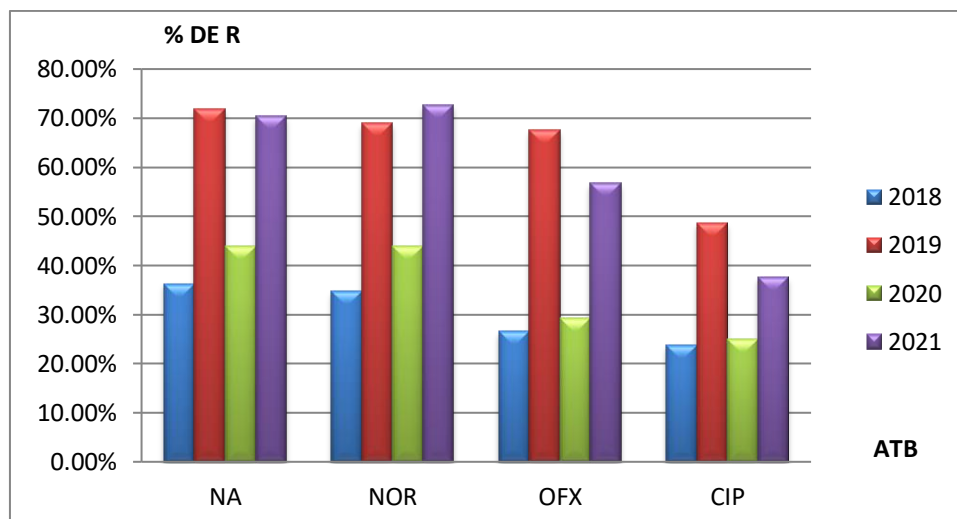


Figure 24: Profils de résistance de *K. p* aux quinolones et fluoroquinolones (n=332).

En général, l'acide nalidixique et la norfloxacin en 2019 et 2021 dépassent le taux de 70% de résistance ce qui réduit considérablement leur efficacité par rapport aux autres années. Il en est de même pour l'ofloxacin et la ciprofloxacine mais avec des taux moins importants. La CIP est l'antibiotique le plus actif de cette famille sur *K.p*.

En 2018 nos résultats ne concordent ni avec ceux de l'Italie, ni la Grèce qui sont supérieurs (55% et 67% de résistance respectivement) et ni avec l'Angleterre qui présente un taux de résistance plus faible (13%) (ECDC, 2019). Cependant ils se rapprochent légèrement de ceux présentés par Sekhri-Arafa en 2011 en ce qui concerne l'acide

nalidixique (29%) . Quant à l'an 2019, on se rapproche du taux le plus élevé entre ces quatre pays d'Europe c'est à dire la Grèce même si on garde un écart d'environ 5%. mais pour la ciproflaxine, le taux de résistance qu'on suggère d'environ 49% est certes au dessus de celui de l'Angleterre et la France mais il est inférieur à celui de l'Italie et la Grèce. Le pourcentage élevé en 2019 et 2021 est le taux le plus important signalé en Algérie jusqu'ici. Celui de 2020 par contre reflète le pourcentage de résistance fourni par l'AARN en 2017. La ciprofloxacine était totalement active sur *K.p* (Sekhri-Arafa, 2011) mais les résultats de l'AARN montrent une évolution de 34% dans le taux de résistance de même qu'en 2021. La résistance aux quinolones est soit chromosomique par mutation sur le gène *gyr A* codant pour l'ADN gyrase, soit plasmidique par acquisition d'un plasmide transférable (pMG252) qui héberge le gène *qnr A*, par l'acétyltransférase ou encore par la pompe d'efflux QepA (Sekhri-Arafa, 2011).

6.6 Résistance à divers antibiotiques

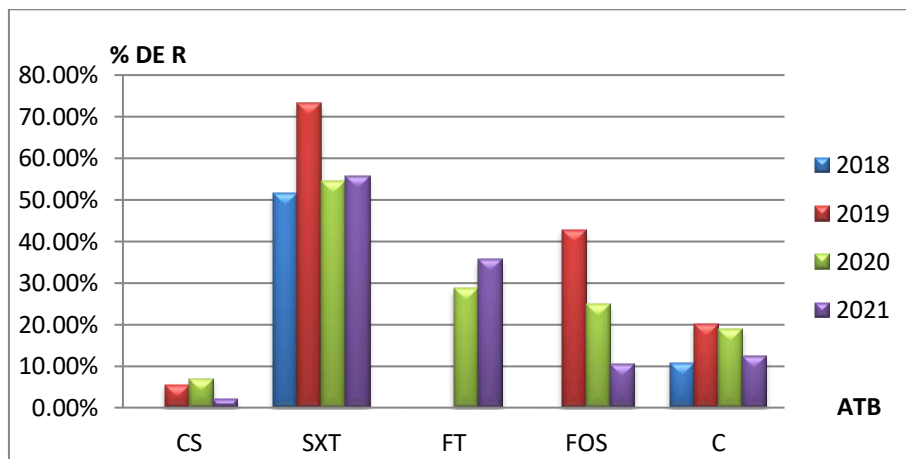


Figure 25: Profils de résistance de *K.p* à divers antibiotiques.

En 2018, *K.p* commence à devenir résistante à la fosfomycine de façon observable arrivant à un taux de 43% de résistance en seulement une année. Mais ce dernier a regagné en efficacité contre la bactéries durant les deux années et 5 mois suivants avec une chute de résistance de 23%. Les furanes perdent leur précieuse action contre *K.pneumoniae* en 2019. La résistance au triméthoprime-Sulfaméthoxazole (SXT) a connu un pique remarquable en 2019 mais ce taux reste inférieur à celui de Sekhri-Arafa en 2011 de 6%. Ce taux baisse à nouveau pour garder un taux partiellement stable de résistance. Tandis que les deux ATB; chloramphénicol et la colistine connaissent une excellente activité anti-*K.p* le long de ces années. La colistine est considérée comme la dernière option de traitement pour *K.pneumoniae* producteur de *KPC*.

7. Recherche des souches *K.p* productrices de BLSE

Parmi les 332 souches de *K.p* isolées, 156 sont productrices de BLSE 46.98% \approx 47% résistantes aux β -lactamines excepté les céphamicines et les carbapénèmes.

7.1 Répartition des *K.p* BLSE + en fonction des services

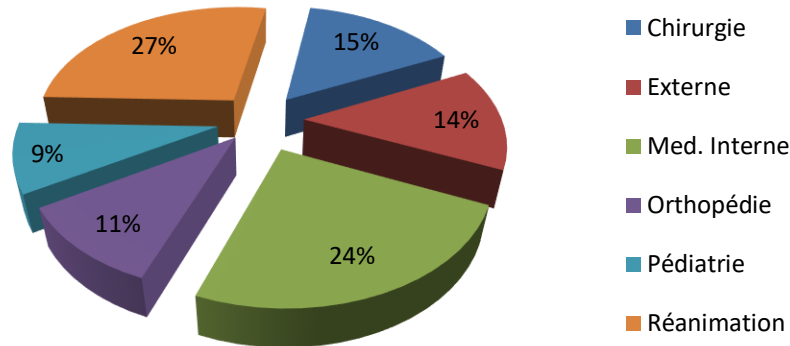


Figure 26: Répartition des souches *K.p* BLSE+ selon les services (n=156).

Environ 86% des souches productrices de BLSE récoltées sont des souches hospitalières. La plupart ont été retrouvées au sein du service de réanimation. Ce constat est identique à celui de Sekhri-Arafa en 2011. Le service où on en retrouve le moins est celui de la pédiatrie. Les 14% restantes sont isolées de l'extérieur. L'infection par ces souches peut être expliquée par un séjour antérieur dans une unité de soin intensif.

7.2 Répartition des *K.p* BLSE+ selon le type de prélèvement

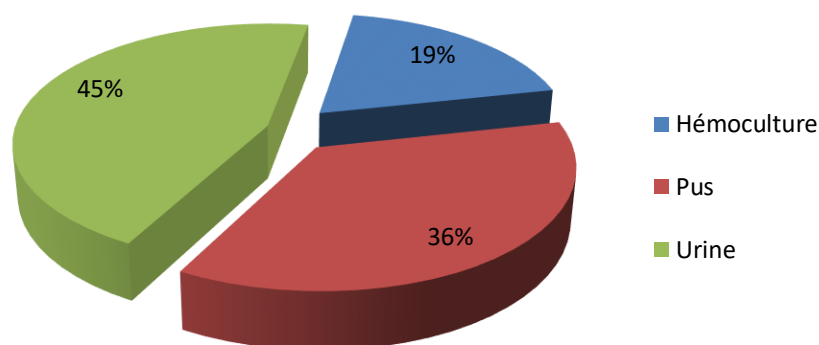


Figure 27: Répartition des souches *K.p* BLSE+ selon les prélèvements (n=156).

L'urine est le prélèvement dans lequel les souches de *K.p* productrices de BLSE ont été récoltées le plus (45%) suivi du pus (36%) et l'hémoculture (19%). Par contre les résultats de Sekhri-Arafa en 2011 indiquent que le pus est le prélèvement où *K.p* est retrouvée le plus suivi de l'urine puis les prélèvements d'hémoculture.

7.3 Association des BLSE aux autres antibiotiques

Tableau 5: Association des BLSE aux autres antibiotiques

	Aminosides	Quinolone	Fluoroquinolones
BLSE	11.54% (18)	53.21%(83)	48.08%(75)

Cette association mène vers une impasse thérapeutique et entraîne des complications cliniques importantes pouvant conduire au décès du patient.

Conclusion

Conclusion

K. pneumoniae joue un rôle majeur dans l'apparition et/ou la dissémination des mécanismes de résistance. Dans les années 1970, elle a été pionnière pour les résistances aux aminosides. Puis, à partir des années 1980, *K. pneumoniae* a largement contribué à la dissémination hospitalière des β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Aujourd'hui elle occupe également une position importante dans l'émergence et la dissémination de certaines enzymes conférant la résistance aux carbapénèmes (Sidibe, 2020).

Les souches résistantes à cette dernière famille par la production de carbapénémases (CP *K.p*) constituent lors de ces 20 dernières années un problème majeur de santé mondiale en vue de leur capacité à provoquer des infections graves avec des taux de mortalité élevés. Ainsi des molécules comme la colistine délaissée lors de sa découverte car trop toxique, est revenue sur le marché pour traiter des infections résistantes en impasse thérapeutique. (Battraud, 2017 ; Jaidane, 2018).

Suite à notre étude rétrospective au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine et ce de la période s'étalant de janvier 2018 à mai 2021, nous suggérons que *Klebsiella pneumoniae* touchait majoritairement les femmes avec un écart de 8% avec les hommes et qu'elle avait une affinité envers les hexagénères suivi des enfants de moins de 10 ans. La plupart des souches ont été isolées des urines, du pus et du sang avec des fréquences de 64%, 16% et 9% respectivement. Quant aux services, le plus incriminé s'est révélé être celui de la médecine interne qui devance de très peu celui de la réanimation. Pour arriver au point le plus important, c'est à dire l'évolution de la résistance, à commencer par les pénicillines. *K.p* y est naturellement résistante nous parlerons donc de l'acide clavulanique seulement. En 2019, cette bactérie s'est surpassée en atteignant le seuil de 100% de résistance à l'acide clavulanique. Cependant, ce taux baisse aux alentours de 60% pour la période qui a suivi (2020- mai 2021). La légère augmentation d'à peu près 1% lors des 5 mois de 2021 pourrait signifier un rehaussement de la résistance envers l'AMC. Pour la famille des céphalosporines, l'année 2019 et les 5 mois de 2021 révèlent clairement une diminution de l'efficacité l'antibiotique envers *K.p*. Le fait qu'en 2020 la résistance ait chuté peut être dû au nombre restreints de cas isolés par rapport aux autres années. En ce qui concerne les carbapénèmes, on assiste à une augmentation progressive mais alarmante du taux de résistance; durant les 5 mois seulement de 2021, un haussement de plus de 8% du taux de résistance est enregistré. 2020 fait également une distinction au sein des aminosides mais la période de 2021 rattrape et dépasse même cette différence surtout pour la tobramycine qui

atteint le seuil de 100% de résistance. Les quinolones ne font pas exception, les taux les plus élevés sont ceux de 2019 et 2021, sauf que cette fois-ci les taux de la dernière année sont en dessous de ceux de 2019. Cela peut s'expliquer par le fait que nous avons seulement recueilli les données de 5 mois de 2021 par rapport à toute une année 2019.

Au terme de ce travail, nous soulignons le fait que la bactérie *K.p* a regagné du terrain dans la résistance aux antibiotiques en 2021. C'est une bactérie qui détient un grand pouvoir d'acquisition de nouveaux mécanismes de résistance, l'OMS l'a classée parmi les 12 agents pathogènes prioritaires résistants aux antibiotiques. Elle doit donc fortement rester en surveillance afin de limiter sa propagation surtout dans les centres de soins et même en ambulatoire.

Perspectives

Perspectives

Vue les conditions sanitaires dues à la pandémie du Covid, nous n'avons pas pu réaliser un stage d'une longue durée.

Ce travail peut être donc complété par des études moléculaires des gènes et des mécanismes de résistance afin de contrôler la propagation surtout des souches de *K.p* hypervirulentes qui peuvent causer des problèmes dans le domaine thérapeutique anti-*K.p*

Références bibliographiques

A

- Arato, V., Raso, MM., Gasperini, G., et al. (2021). Prophylaxis and Treatment against *Klebsiella pneumoniae*: Current Insights on This Emerging Anti-Microbial Resistant Global Threat. *International Journal of Molecular Sciences* [en ligne]. 22. (8), 4042 p. Consulté le */*/2021.
Disponible sur : <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/8/4042>
- Ashurst, J., Dawson, A. (2021). *Klebsiella Pneumonia*. *StatPearls* [en ligne]. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519004/>

B

- Barbosa, V., Lery, L. (2019). Insights into *Klebsiella pneumoniae* type VI secretion system transcriptional regulation. *BMC Genomics* [en ligne], 20. 506. Disponible sur : <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-019-5885-9>
- Barguigua, A., El Otmani, F., Talmi, M., et al. (2013). Prevalence and genotypic analysis of plasmidmediated b-lactamases among urinary *Klebsiella pneumoniae* isolates in Moroccan community. *The Journal of Antibiotics* [en ligne]. 66, (1) 11-6 p. Consulté le */*/2021. Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23093031/>
- Barrios, H., Aguilar, A. et al. (2019). Molecular epidemiology of *Klebsiella variicola* obtained from different sources. *Scientific Reports* [en ligne], 9. (10610), 1-10 p. (Consulté le /05/2021) Disponible sur : <https://www.nature.com/articles/s41598-019-46998-9>
- Battraud, P. (2017). La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité [en ligne]. Thèse de doctorat : Pharmacie. France : Université de Lille 2, 128p. Disponible sur : https://pepite-depot.univ-lille2.fr/nuxeo/site/esupversions/3a01af17-98b2-4311-80ff-2e8cea6a7371?fbclid=IwAR22DYp5uRxKt9-k2DrVEW_XiQ0U6Ie6TaZdwFcS0mBJzUVBaEWdnLOKGiU
- Belheine, I., Bouziour, D. (2020). Microbiologie et traitement antibiotique du pied diabétique infecté. Mémoire master : Microbiologie et Hygiène Hospitalière. Constantine : Université des Frères Mentouri, 122 p.
- Bengoechea, J., Pessoa, J. (2018). *Klebsiella pneumoniae* infection biology: living to counteract host defences. *FEMS Microbiol Rev* [en ligne], 43. (2). 123-144 p. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6435446/>

- Ben Redjab, S., Boutiba-Ben Boubaker, I., Saidani, M. (2010). l'antibio-résistance en Tunisie LART [en ligne]. Disponible sur : https://www.infectiologie.org.tn/pdf_ppt_docs/resistance/1544644887.pdf
- Boussouf, O., Yahia cherif, N. (2020). Epidémiologie et profils de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). Mémoire Master : Biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri, 84 p.

C

- Caspar, Y. (2021). Les résistances des bacilles Gram négatif. DU Thérapeutiques anti-infectieuses, Université Grenoble Alpes, 136p. Disponible sur : <https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/du/grenoble/dutai-grenoble-2020-21-resistances-des-bacilles-gram-negatif-ycaspar.pdf>.
- Chagneau, C. (2018). Étude des métabolites liés à l'îlot pks chez les souches urinaires de *Escherichia coli* [en ligne]. Mémoire master : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri, 87. Disponible sur : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01836404/document>
- Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E. (2012). AntibioGramme (3ed). Paris : Editions Eska : 800p.

D

- Davis, J. (2021). Mécanismes d'action antibiotique. News-Medical [en ligne]. Disponible sur : [https://www.news-medical.net/life-sciences/Mechanisms-of-Antibiotic-Action-\(French\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/Mechanisms-of-Antibiotic-Action-(French).aspx)
- Diallo, KK. (2010). Fréquences d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel toure de 2002 a 2007 [en ligne]. Thèse de doctorat : Pharmacie. Mali : Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto – Stomatologie, 96 p. Disponible sur : <http://www.keneya.net/fmpos/theses/2010/pharma/pdf/10P50.pdf>

E

- Eddair, Y. (2021). La résistance aux bêta-lactamines par production de bêta-lactamase à spectre élargi chez les entérobactéries : caractérisation phénotypique et génotypique [en ligne]. Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V, 148 p. Disponible sur :

<http://ao.um5.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/18908/P0712021.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Es-Saoudy, I. (2019). Profil bactériologique des infections urinaires à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech [en ligne]. thèse de doctorat : Médecine. Maroc : Université Cadi Ayyad, 115 p.
Disponible sur : <http://wd.fmpm.uca.ma/biblio/theses/annee-htm/FT/2019/these237-19.pdf>
- European center for disease prevention and control. (2019). Surveillance Atlas of infectious diseases [en ligne]. consulté le ***/2021.
Disponible sur : <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Instance>

F

- Fosseprez, P. (2013). Antibiorésistance en pratique de ville : contrat et réflexion sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'Antibiorésistance [en ligne]. thèse de doctorat : Pharmacie. France : Université de Lorraine, 134p. Disponible sur : http://docnum.univ-lorraine.fr/public/BUPHA_T_2013_FOSSEPREZ_PAULINE.pdf.

G

- Gaci, M. Systématique bactérienne : Identification phénotypique des entérobactéries. (2019) [image]. Microbiologie. Constantine : université des frères Mentouri, 35p.
- Gadou, Victoire. (2019). Epidémiologie moléculaire des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'Abidjan, Côte d'Ivoire [en ligne].Thèse de doctorat : Biologie Fonctionnelle et Moléculaire. Côte d'Ivoire : Université Félix-Houphouët-Boigny, 218p. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02417084/document>.
- Guillaume, M. (2015). Les aminosides : le bon usage.Ch voiron, DU de thérapeutique anti-infectieuse Grenoble, 62p. Disponible sur : <https://docplayer.fr/45375083-Les-aminosides-le-bon-usage.html>
- Guiraud, JP. (2012). Microbiologie alimentaire. France : Dunod : 696p.

H

- Hammond, A (2020). Alexander Fleming et la pénicilline – Les Héros du Progrès (6). Contrepoints journal [en ligne]. Disponible sur : <https://www.contrepoints.org/2020/03/01/365494-alexander-fleming-et-la-penicilline-les-heros-du-progres-6>.

- Hoge, E., Stanga, L. (2021). Microbiologie speciala. Timisoara: Victor Babes. 84 p. Disponible sur : <https://www.umft.ro/wp-content/uploads/2021/04/Microbiologie-speciala.pdf>
- Holt, G., Krieg, N., Sneath, P., et al. (1994). Berge's Manual of Determinative Bacteriology (9th Ed). United States of America: Lippincott Williams and Wilkins: 800p.

J

- Jaidane, N., Bonnin, R., Mansour, W. et al. (2018). Genomic Insights into Colistin-Resistant *Klebsiella pneumoniae* from a Tunisian Teaching Hospital. Antimicrob Agents Chemother [en ligne], 62. (2). Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5786813/>.
- Johnson, C., Grossman , A. (2015). Integrative and Conjugative Elements (ICEs): What They Do and How They Work. Annu Rev Genet [en ligne], 49. 577–601p. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5180612/>.

K

- Kansaye, CH. (2020). Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées de pus, d'hémoculture et de selles au CHU du point G [en ligne]. Thèse de doctorat : Pharmacie. Mali : Université des sciences des techniques et des technologies de Bamako, 99 p. Disponible sur : <https://bibliosante.ml/bitstream/handle/123456789/4215/20P69.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Kassah-laouar, A. (2020). Evaluation de la surveillance du programme d'éradication de la poliomyélite dans la wilaya de Batna 2005-2019 : Les antibiotiques De la définition princeps à la totorésistance. Revue Aurassienne du Laboratoire [en ligne]. 1. (3), 29- 47 p. Consulté le */*/2021. Disponible sur : https://www.researchgate.net/profile/Bouthayna-Chiboub/publication/346786611_Evaluation_de_la_surveillance_du_programme_d'eradic-ation_de_la_poliomyelite_dans_la_wilaya_de_Batna_2005-2019/links/5fd0ad8692851c00f85f4ff2/Evaluation-de-la-surveillance-du-programme-deradic-ation-de-la-poliomyelite-dans-la-wilaya-de-Batna-2005-2019.pdf#page=31.
- Kassis - Chikhani, N. (2012). *Klebsiella pneumoniae* pathogène nosocomial résistance et virulence [en ligne]. Thèse de doctorat : Microbiologie. Paris : Université Pierre et Marie Curie, 191 p. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00831671>.

- Kidd, T., Mills, G., Sá-Pessoa, J., Dumigan, A., et al. (2017). A *Klebsiella pneumoniae* antibiotic resistance mechanism that subdues host defences and promotes virulence. *EMBO molecular medicine* [en ligne], 9. (4), 430–447p. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5376759/>
- Krir, A., Dhraief, S., Messadi, AA., Thabet, L. (2019). Profil bactériologique et résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans un service de réanimation des brûlés durant sept ans. *Annals of Burns and Fire Disasters* [en ligne]. 32. (3), 197-202 p. Consulté le */*/2021. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7155405/>

M

- Martin, R., Bachman, M. (2018). Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*[en ligne], 8. (4), 15p. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5786545/>
- Masataka, K., Takashi, M., Masatomo, M. (2020). Molecular analysis of virulence factors of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* in a diabetes patient with multifocal intramuscular and musculoskeletal abscesses: Positive string test for the *K. pneumoniae* isolate. *Journal of Infection and Chemotherapy* [Illustration]. 26, (1). 110-114p.
- Mission sapes Santé publique france. (2018). Surveillance de l'antibiorésistance en établissement de santé [en ligne]. Consulté le */*/2021.
Disponible sur : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/resistance-aux-antibiotiques/documents/rapport-synthese/surveillance-de-l-antibioresistance-en-etablissement-de-sante.-donnees-2018.-partie-2-resistance-bacterienne-aux-antibiotiques>.
- Muylaert, A., Mainil, J. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : Les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annales de Médecine vétérinaire* [en ligne], 156. 109- 123p. Disponible sur : <https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/168957/1/R%c3%a9sistances%20bact%c3%a9rienne%20antiobio.pdf> .

P

- Padilla, E., Llobet, E., Doménech-Sánchez, A., et al. (2010). *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. *Antimicrob Agents Chemother* [en ligne], 54. (1), 177-83p. Disponible sur :

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19858254/>

- Piperaki, ET., Syrogiannopoulos, GA., Tzouveleki, LS., et al. (2017). *Klebsiella pneumoniae*: Virulence, Biofilm and Antimicrobial Resistance. The Pediatric Infectious Disease Journal [en ligne]. 36. (10), 1002-1005p (date de consultation */*/2021). Disponible sur :
https://journals.lww.com/pidj/Fulltext/2017/10000/Klebsiella_pneumoniae__Virulence_Biofilm_and.22.aspx.
- Podschun, R., Ullman, U. (2020). *Klebsiella spp.* as Nosocomial Pathogens : Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. ASM journals [en ligne], 115. (4), 589-603p (date de consultation */*/2021). Disponible sur :
<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/CMR.11.4.589>.

R

- Rodrigues, C., Passet, V., et al. (2018). Identification of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella quasipneumoniae*, *Klebsiella variicola* and Related Phylogroups by MALDI-TOF Mass Spectrometry [en ligne], 9. (3000), 7 p. Disponible sur :
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.03000/full>.

S

- Sekhri- Arafa, N. (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine [en ligne]. Thèse de doctorat : Microbiologie. Constantine : Université des Frères Mentouri, 186 p. Disponible sur :
<https://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/SEK6124.pdf>.
- Shon, A., Bajwa, R., Russo, T. (2013). Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* : A new and dangerous breed. Virulence [en ligne], 4. (2), 107-118p. Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23302790/>.
- Storey, D., McNally, A., Åstrand, M., et al. (2020). *Klebsiella pneumoniae* type VI secretion system-mediated microbial competition is PhoPQ controlled and reactive oxygen species dependent. PLoS Pathog [en ligne], 16. (3), 54p. Disponible sur :
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7108748/pdf/ppat.1007969.pdf>

W

- Williams, C., Musicha, P., Feasey, N., et al. (2019). ChloS-HRM, a novel assay to identify chloramphenicol-susceptible *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Malawi. The Journal of antimicrobial chemotherapy [en ligne], 74. (5), 1212–1217p. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6477986/>

X

- Xie, M., Yang, X., Xu, Q., Ye, L. et al. (2021). Clinical evolution of ST11 carbapenem resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Communication Biology [en ligne], 4. 650. Disponible sur : <https://www.nature.com/articles/s42003-021-02148-4.pdf>.

Z

- Zhu, Y., Galani, I., Karaiskos, I., Lu, J., et al. (2019). Multifaceted mechanisms of colistin resistance revealed by genomic analysis of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from individual patients before and after colistin treatment. The Journal of infection[en ligne], 79. (4), 312-321p. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7264071/>

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

Titre

Etude de l'évolution de la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC).

Résumé

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste à un potentiel épidémique très élevé. Il est couramment impliqué dans les infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter. L'augmentation et la dissémination de la résistance à une large variété d'antibiotiques chez cette espèce, représente un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Les premières souches productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) appartenaient à l'espèce *K.p*.

Ainsi, cette augmentation de la fréquence des souches multirésistantes dans les hôpitaux algériens, nécessite clairement un établissement de mesures de contrôle préventives pour limiter leur diffusion. Dans ce but, nous nous sommes fixés, en cette étude statistique, l'objectif de voir l'évolution de la résistance aux antibiotiques de *K.pneumoniae* au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). Un total de 332 souches de *K.p* a été collecté, entre janvier 2018 et mai 2021 à partir de différents services et de prélèvements pathologiques de l'HMRUC. Nos résultats suggèrent que *K.p* touche principalement les hexagénères et les enfants de moins de 10 ans du fait de leur statut immunitaire. La majorité des souches prélevées sont des souches hospitalières issues principalement du service de la médecine interne et retrouvées majoritairement dans les urines. Le taux de résistance aux antibiotiques semble être en perpétuelle évolution malgré la basse fréquence signalée en 2020 qui peu être expliquée par le nombre restreint de souches récoltées en cette année par apport aux autres.

Mot clés : *Klebsiella pneumoniae*, Résistance aux antibiotiques, BLSE, Algérie.

Membre du jury :

Présidente du jury : ABDELAZIZ Ouided (Maître de conférences B- UFM Constantine 1).

Rapporteur : SEKHRI-ARAF A Nedjouda (Maître de conférences A - UFM Constantine1).

Examinatrice : MEZIANI Meriem (Maître de conférence B - UFM Constantine1).

Présentée par :

CEDAH Sonia, CHEKIREB Hadir et ABDOU Anouar Khalil Brahim

Année universitaire : 2020-2021