



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université de Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master.

Domaine : Science de la nature et de la vie.

Filière: Science biologiques.

Option: Microbiologie appliquée.

Thème

Prévalence et Antibiorésistance des souches
de *Klebsiella pneumoniae* isolées des unités
de soins néonataux et pédiatriques de Tébessa

Présenté par:

LAGHOUATI Djamila

REMILI Henia

BOUKHAMALA Chaima

Devant le jury:

Dr. M. BOUKOUCHA	MCA	Université de Larbi Tébessi	Président
Dr. Z. BELBEL	MCB	Université de Larbi Tébessi	Promotrice
Dr. H. FENGHOUR	MCB	Université de Larbi Tébessi	Examinatrice

Date de soutenance: 21-06-2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements



Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude avant tout à Dieu « ALKARIM » Le tout puissant qui nous a doté de volonté & De patience pour ce travail

*Premièrement, spécial Remerciement à notre promotrice « **Dr. Belbel Zineb** » »
d'avoir dirigé ce travail avec beaucoup de compétences*

Merci pour votre indéfectible disponibilité,

*Votre rigueur scientifique et la confiance que vous nous avez accordée au cours de
l'élaboration de ce mémoire.*

Merci pour votre aide et votre encouragement ;

Merci pour l'acuité de vos critiques et pour vos conseils éclairés.

Nos remerciements vont également :

*A « **Dr. Boukoucha Mourad** » pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*A « **Dr. Fenghour Hind** » pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Un remerciement va également à notre cousine **Dr. Laghouati Wafa** pour son
aide et son encouragement tout au long de notre travail*

*Nous remercions tous les enseignants qui ont contribué à notre formation
pendant les années passées*



Dédicace

Je remercie Dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever

Je dédie ce mémoire à ma source d'énergie

Mon père et ma mère

Qui a pris en charge mon voyage éducatif depuis ma première année à l'école primaire jusqu'à maintenant

Ceux qui ont œuvré pour ma réussite, par leur amour et leur soutien, et tous les sacrifices qu'ils ont consentis, pour toute leur aide et leur présence dans ma vie, reçoivent à travers cet humble travail tel qu'il est, l'expression de mes sentiments et de ma gratitude éternelle. Que Dieu Tout-Puissant vous protège et vous chérisse santé, longévité et bonheur.

A ma chère grand-mère

Maziya

A Mes très chers frères

Houcine , Salah Eddine , Mabrouk

Mes chères sœurs

Ahlem , Rabiaa Et son fils Mohamed Amin

A toutes mes amies, particulièrement :

Fadoua , Djamila , Chaima , Halima , Chourouk et Oumyama.

A tous mes collègues de promotion de 2ème année master microbiologie appliquée :

2019-2020.

Henia



Dédicace



Je dédie ce mémoire A Mon Dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du mon rêve .

A Ma très chère mère

Je dédie ce mémoire à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, école de mon enfance qui a été mon ombre durant toutes les années d'études, qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager et qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.

A Mon très cher Père

A celui l'exemple du courage, du dévouement, de l'honnêteté, de la Persévérance et du sacrifice.

Mes chères sœurs

Aya et douaa Merci pour votre support continu et de votre Amour. que Dieu te protège et remplisse ta vie d'amour et de bonheur.

*À l'un de mes protecteurs, aidez-moi et conseillez-moi
Courager moi et me protéger que Dieu les garde et les protège.*

Mes amis proches

djamila et sarra vous avez toujours été a mon côté et mon puits de secrets. J'ai vécu avec vous les meilleurs moments et souvenirs. Que Dieu préserve notre amitié et vous protège pour moi, j'ai donc choisi ma sœur plus qu'un ami

Je veux dédier aussi un grand merci à mes amies henia et fadoua

Merci pour votre amour et votre amitié

*À l'un de mes protecteurs, aidez-moi et conseillez-moi
Courager moi et me protéger Que Dieu les garde et les protège.*

A tous ceux que j'aime.

Chaima





DEDICACE

Grace à dieu tout puissant, et en signe de reconnaissance à tous les sacrifices consentis pour ma réussite, on a eu la volonté pour mener à bien ce modeste travail que je dédie :

*A la précieuse source de tendresse, à la voie qui console, à celle qui a veillé sans cesse sur moi avec ses prières ;
à ma chère mère : Ghouati Saida pour sa patience et son soutien.*

A celui qui a semé en moi le sens du devoir et de la responsabilité, qui me pousse toujours à donner le meilleur de moi-même ;

à mon père Mouhammed el hadipour son sacrifice et inquiétude afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

Ceux qui se sont réjouis de l'évolution heureuse de mes études, me témoignant ainsi leur profonde sollicitude, à mes chères sœurs bien aimées Khouloud et chaima mes chers frères Hamza , Amar

A ma chère grand-mère

Chaba Houria

A mon chère cousine Dr Laghouati wafa un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présente.

A ceux qui ont exprimé le sens du courage, de l'amitié et de la solidarité ; a vous mes amis Halima, Fadoua, Henia , Chourouk, Aya , Takoi, Sabina, Takoua

A tous mes collègues de promotion de 2ème année master microbiologie appliquée :

2019-2020.

Djamila

Résumé

Klebsiella pneumoniae est un agent pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans de nombreuses infections nosocomiales en particulier néonatales, qui peut se transmettre et persister en milieu hospitalier. L'objectif de ce travail consistait à mettre en évidence la prévalence des souches de *K. pneumoniae* isolées des unités des soins néonatales et pédiatriques de Tébessa ; à déterminer leur niveau de résistance à différents antibiotiques et à détecter les zones épidémiques afin de limiter la diffusion de ces bactéries multi-résistantes dans les établissements de santé.

D'abord, 80 prélèvements ont été effectués de février à mars 2020 à partir de différentes surfaces hospitalières. Puis, les échantillons ont été enrichis en bouillon nutritif et incubés pendant 48 h. Ensuite, l'isolement des souches bactériennes a été réalisé sur gélose Mac Conkey. En outre, l'identification des souches a été faite par coloration de Gram et biochimiquement par système miniaturisé API 20E. Enfin, la sensibilité aux antibiotiques a été testée par un antibiogramme comportant 12 antibiotiques selon la méthode de diffusion de disques sur milieu Mueller Hinton.

Au total, 42BGN ont été isolés. L'identification bactérienne a révélé une diversité d'espèces d'énérobactérie est qui colonisent les services hospitaliers avec prédominance des souches de *K. pneumoniae* (33%). Ces souches ont montré un taux élevé de résistance vis-à-vis la majorité des familles d'antibiotiques en particulier aux céphalosporines de troisième génération (100%) par production de BLSE.

En conclusion, cette étude a montré une forte prévalence des souches de *K. pneumoniae* multi-résistantes aux antibiotiques qui colonisent l'environnement hospitalier et attire l'attention sur le risque infectieux pour les patients fragiles admis dans l'hôpital.

Mots Clés : Environnement hospitalier ; *Klebsiella pneumoniae* ; Infections nosocomiales ; pédiatrie ; néonatalogie ; antibiorésistance.

Abstract

Klebsiella pneumoniae is an opportunistic pathogen frequently involved in many nosocomial infections, particularly neonatal infections, which can be transmitted and persist in the hospital environment. The objective of this work was to highlight the prevalence of *K. pneumoniae* strains isolated from neonatal and pediatric care units in Tébessa; to determine their level of resistance to different antibiotics and to detect epidemic areas in order to limit the spread of these multi-resistant bacteria in health care institutions.

Firstly, 80 samples were taken from February to March 2020 from different hospital areas. Then, the samples were enriched in nutrient broth and incubated for 48 h. Next, the isolation of bacterial strains was carried out on Mac Conkey agar. In addition, the strains were identified by Gram staining and biochemically by a miniaturized API 20E system. Finally, antibiotic sensitivity was tested by an antibiogram containing 12 antibiotics according to the disc diffusion method on Mueller Hinton medium.

A total of 42BGN were isolated. Bacterial identification revealed a diversity of species of enterobacteria that colonize hospital wards with a predominance of *K. pneumoniae* strains (33%), which showed a high rate of resistance to most antibiotic families, particularly to third generation cephalosporins (100%) by production of ESBLs.

In conclusion, this study showed a high prevalence of antibiotic-resistant strains of *K. pneumoniae* colonizing the hospital environment and draws attention to the risk of infection for frail patients admitted to the hospital.

Key Words: Hospital environnement ; *Klebsiella pneumoniae*; Nosocomial infections; paediatrics; neonatology; antibioticresistance.

ملخص

Klebsiella pneumoniae هو عامل مرضي انتهازي يتسبب في العديد من عدوى مستشفيات ، وخاصة التهابات حديثي الولادة، التي يمكن أن تنتقل وتستمر في المستشفيات. وكان الهدف من هذا العمل تسليط الضوء على انتشار سلالات *Klebsiella pneumoniae* المعزولة من وحدات رعاية حديثي الولادة والأطفال في تبسة ؛ و تحديد مستوى مقاومتها للمضادات الحيوية المختلفة والكشف عن المناطق الوبائية من أجل الحد من انتشار هذه البكتيريا المقاومة للتعددية في المرافق الصحية.

أولاً، تم أخذ 80 عينة من فيفري الى مارس 2020 من مساحات مختلفة في المستشفى. ثم تم إثراء العينات بمرق مغذٍ وتم احتضانها لمدة 48 ساعة. ثم تم عزل السلالات البكتيرية على وسط Mac Conkey. بالإضافة إلى ذلك، تم تحديد سلالات عن طريق coloration de Gram وبيوكيميائياً من قبل نظام مصغر API 20E . وأخيراً، تم اختبار حساسية المضادات الحيوية باستخدام مضاد حيوي مع 12 مضاداً حيويًا باستخدام طريقة توزيع القرص المتوسط Mueller Hinton .

في المجموع تم عزل BGN42 . كشف تحديد البكتيريا عن تنوع أنواع *enterobacteriaceae* التي تستعمر خدمات المستشفيات مع غلبة سلالات من *K. pneumoniae* 33% وأظهرت هذه السلالات معدل مقاومة عالية لغالبية الأسر المضادات الحيوية، وخاصة الجيل الثالث من السيفالوسبورين (100٪) إنتاج BLSE.

في الختام، أظهرت هذه الدراسة انتشاراً مرتفعاً للسلالات المقاومة للأدوية المتعددة من *K. pneumoniae* التي تستعمر بيئة المستشفى وتلفت الانتباه إلى الخطر المعدي للمرضى الضعفاء الذين يدخلون المستشفى.

الكلمات الرئيسية: بيئة المستشفى ; *Klebsiella pneumoniae* ; عدوى المستشفيات ; طب الاطفال ; طب حديثي الولادة؛ مقاومة المضادات الحيوية

TABLE DE MATIERE

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Introduction 1

Partie 01: Synthèse Bibliographique

Chapitre 01: Les Infections Nosocomiales (IN) Et Néonatales

1-Généralité 3

1-1-Définition 3

1-2- Epidémiologie de l'IN 3

1-3-Facteurs de risque de l'IN 4

1-3-1- Services à haut risque infectieux 4

1-3-2- Facteurs de risque liés aux malades 4

1-4- Les différents types d' infections 5

2 -L'environnement hospitalier 5

2-1-Définition 5

2-2-Surfaces 5

3-Les germes responsables d'IN 6

4- Sources de germes à l'hôpital 6

4-1-La propre flore du patient 7

4-2-La flore d'un autre patient ou d'un membre du personnel 7

4-3- L'environnement 7

5-Surveillance et prévention contre les infections nosocomiales et néonatales 7

5-1-Surveillance 7

5-2-Prévention 8

5-2-1-La prévention de l'infection nosocomiale néonatale 8

Chapitre 02:Etude générale de l'espèce *Klebsiella pneumoniae*

1- position taxonomique.....	9
1-1- Dénomination.....	9
1-2- Classification.....	9
2-Biotope.....	9
3-Caractères bactériologiques	10
3-1-Caractères morphologiques.....	10
3-2-Caractères cultureux.....	10
3-3-Caractères biochimiques	11
3-4- Caractères antigéniques.....	11
4- Facteurs de pathogénicité de <i>K. pneumoniae</i>	12
4-1- Antigènes de surface	12
4-2- Adhésines	13
4-3- Sidérophores	14
4-4- Ilot de pathogénicité.....	14
4-5- Elément d'intégration et de conjugaison (ICE : Intégrative and Conjugative Element).....	15
5- Pouvoir pathogène	15
6- <i>K. pneumoniae</i> et épidémies hospitalières	16
7- <i>K. pneumoniae</i> en Néonatale	17

Chapitre 03:Résistance de *K.pneumoniae* aux antibiotiques

1-Les antibiotiques	19
1-1-Définition	19
1-2- Classification.....	19
1-2-1- Mode d'action	19
1-3-Notion de la résistance bactérienne.....	21
2-Types de résistance aux antibiotiques.....	21
2-1- Résistance naturelle.....	21
2-2- Résistance acquise.....	22
3 - Supports génétiques de la résistance.....	22
4-Bêta-lactamines et <i>K. pneumoniae</i>	23
4-1- Classification des β -lactamines.....	23
4-2- Mode d'action	23
4-3- Mécanismes de résistance	23

4-4- Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE)	24
4-4-1- Définition des BLSE	24
4-5 -Les carbapénèmes	24
4-5-1- Mode d'action	24
4-5-2- Mécanisme de résistance.....	25
5- Les aminosides.....	25
5-1- Classification des aminosides	25
5-2-Mode d'action des aminosides	26
5-3- Mécanismes de résistance	26
5-3-1- Altération de la cible.....	26
5-3-2- Modification enzymatique de l'antibiotique.....	27
5-3-3- Piégeage de l'antibiotique	28
5-3-4- Imperméabilité ou exportation de l'antibiotique	28
6- Quinolones et <i>K. pneumoniae</i>	28
6-1-Mode d'action.....	28
6-2- Mécanismes de résistance	29
7- <i>K. pneumoniae</i> et colistine	29
7- 1 Moded'action	30
7-2 Mécanisme de résistance.....	30
Partie 02 :Matériel Et Méthodes Expérimentales	
1-Cadre et objectifs de l'étude	31
2-Matériel et méthodes.....	31
2-1-Prélèvements des surfaces.....	31
2-2-Enrichissement.....	31
2-3-Isolement et Ensemencement.....	33
2-4-Purification des souches isolées.....	34
2-5- Identification des isolats.....	34
2-5-1- Coloration de Gram.....	34
2-5-2- Identification biochimique par Api20E	34
2-5-2-1- Principe et description de la galerie.....	34
2-5-2-2-Technique	35
2-5-2-3-lecture	36
2-6-Test de sensibilité des souches isolées aux antibiotiques par antibiogramme	37

2-6-1-Principe	37
2-6-2-Technique.....	37
2-6-3-Lecture	39
Partie 03: Résultats et Discussion	
1-Prévalence des prélèvements hospitaliers contaminés.....	40
1-2-Aspect macroscopique des isolats.....	42
1-2-1- Purification et repiquage	43
1-4-Aspect microscopique des isolats	43
2- Identification des souches bactériennes isolées	43
2-1- Selon les caractères culturaux	43
2-2- Identification biochimique par Api 2OE.....	45
2-1-Distribution des souches bactériennes selon les espèces	48
2-2- Biotypage des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	48
1-2 –Distribution des 42 souches des entérobactéries selon le service	49
3-2- La répartition de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon les site de prélèvement et les services	50
3- Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	52
Discussion	54
Partie 04: Conclusion et perspective	
Conclusion.....	58
Perspectives.....	59
Références bibliographiques	
Annexes	

LISTE DES ABREVIATIONS

- **% : POURCENT**
- **- : Négatif**
- **+ : Positif**
- **< : Inferieure**
- **≥ : Supérieur**
- **°C : Le degré Celsius**
- **16 S : Svedberg (vitesse de sédimentation)**
- **A : Adénine**
- **ADH : Arginine dihydrolase**
- **ADN: Acide DesoxyriboNucléique**
- **AK : Amikacine**
- **AMC : Amoxicilline associé à l'acide clavulanique**
- **AME : Aminoglycosides modifying enzymes**
- **AMPC: Bêta-lactamase chromosomique**
- **AN : Acides Nalidixique**
- **API 20E: Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries)**
- **ARN: Acide Ribonucléique**
- **ARNr: Acide ribonucléique ribosomique**
- **ATB : Antibiotiques**
- **ATM :Aztréonam**
- **ATNC : Agents transmissibles non conventionnels**
- **AUG : Amoxicilline + acide clavulanique**
- **BGN : Bacilles Gram négatif**
- **BLSE: β-lactamase à spectre étendu**
- **BMR : Bactérie multi-résistante**
- **C :Cytosine**
- **C+G%: Pourcentage en guanine + cytosine du génome (coefficient de Chagraff)**
- **C3G: Céphalosporine de troisième génération**
- **Ca++ : calcium**
- **CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de Microbiologie**

- **CC** : Complexe clonal
- **CEP** :Céfalotine
- **CHU** : Centre hospitalier universitaire
- **CIP** : Ciprofloxacine
- **CIT** : citrate
- **CT** : Colistine
- **CTX** : Céfotaxime
- **CTX-M-15** : Cefotaxime Munich
- **Culture -** : absence de colonie
- **Culture +** : présence de colonie
- **DHA** : Gène codant pour une céphalosporinase
- **EARS**: EuropeanAntimicrobialResistance Surveillance
- **EMB** : Eosine bleu de méthylène
- **ETP** :Ertapénème
- **Ex** : exemple
- **FO** : Fosfomycine
- **g** : gramme
- **G** : Guanine
- **GEL** : Gélatinase
- **GLU** : Glucose
- **h** : Heures
- **H₂S** : Hydrogen Sulfide
- **HA**: Admison a Hoital
- **I** : Intermédiaire
- **IAS** : Infection A Soins
- **IC**: Infections Catheter
- **ICE** : Intégrative and Conjugative Element (élément d'intégration et de conjugaison)
- **IGG** : Immunoglobulines G
- **IN** : Infection Nosocomaile
- **INB** : Infections Nosocomailes Bactériennes
- **IND** : Indole
- **IPM** :Imipénème

- **J** : Jour
- **K** : Antigenes capsulaires
- **kb**: kilo base
- **KCN** : Potassium Cyanide
- **KES** : Klebsiella Enterobacter Serratia
- **KPC** : Klebsiella pneumoniae Carbapenemase
- **Lac-** : absence de fermentation du lactose
- **Lac+** : présence fermentation du lactose
- **LDC** : Lysine décarboxylase
- **LPS** : lipopolysaccharides
- **MCR-1** : protéine de la famille des phosphoéthanolamine
- **MDR** : Les bactéries multi résistantes

- **Mg⁺⁺** : Magnésium
- **MH**: Mueller Hinton
- **MLST** : Multi-locus séquence type
- **ml** : Millilitre
- **mm** : millimètre
- **n**: nombre
- **N°** : numéro
- **N°P** : numéro des prélèvements
- **NDM-1**: New Delhi metallo- β -lactamase
- **NHSN** : National Healthcare Safety Network
- **NN** : Néonatalogie
- **O**: Antigène somatique
- **ODC** : Ornithine Decarboxylase
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé
- **ONPG** : L'orthonitrophényl- β -galactoside
- **OR** : Oxygénothérapie
- **ORL** : Oto-Rhino Laryngologie
- **OXA-48**: Oxacillinase (carbapénémase)
- **P** : Poids de naissance
- **PA** : Pédiatre A

- **PB** : Pédiatre B
- **PLP** : protéines de liaison aux pénicillines
- **PRFI** : pays à revenu faible ou intermédiaire
- **PVA** : pneumonie sous ventilation assistée
- **qnr**: Quinolone resistance gene
- **QRDR** : Quinolone Resistance Determining Region
- **R** : Résistance
- **RC MC** : résultats de culture sur milieu Mac Conkey
- **RM** : Rouge de Methylene
- **S** : Sensible
- **SA** : Semaines d'aménorrhée
- **SHV**: Sulfhydryl variable
- **ST** : Séquence type
- **STX** : Triméthoprime -sulfaméthoxazole
- **TDA** : Tryptophan Deaminase
- **URE** : Uréase
- **USA** : États-Unis d'Amérique
- **USI** : Unité de Soins Intensifs
- **UV** : Ultra-violet
- **VIM**: Verona Imipéménase (carbapénémase)
- **VIM**: verona integron en codé metallo β - lactamase
- **VP**: Réaction de Voges-Proskauer

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titres	Pages
01	Influence de l'âge gestationnel et du poids de naissance sur le taux d'infections nosocomiales	04
02	Caractères biochimiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	11
03	Echantillons de l'environnement hospitalier (date, site de prélèvement, service)	32
04	Antibiotiques testés	39
05	Résultats des cultures positives ou négatives sur milieu Mac Conkey	41
06	Fermentation du lactose des 42 souches bactériennes isolées dans notre étude	44
07	Identification et biotypage selon le profil numérique des souches bactériennes isolées dans notre étude.	45

LISTE DES FIGURES

N°	Titres	Pages
01	<i>Klebsiella pneumoniae</i> sur milieu de Mac Conkey.	10
02	Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de <i>K. pneumoniae</i>	12
03	structure fibrillaire couvrant la surface bactérienne	14
04	Schéma illustratif des différents modes d'action des antibiotiques. Pour chaque type d'action, un exemple de classe d'antibiotique est donné	20
05	Structure chimique de la famille des aminosides: la streptomycine	26
06	Site-A : la région qui porte les ARNr16S méthyltransphérase	27
07	l'ensemencement de l'échantillon sur milieu Mac conkey	33
08	l'identification des isolats par le système API 20E	36
09	Les étapes de l'antibiogramme	38
10	Aspect culture microbienne dans le bouillon nutritif	40
11	Aspect macroscopique des isolats sur gélose Mac Conkey	42
12	résultat de purification de la souche Pch1	43
13	le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce <i>K. pneumoniae</i> (référence de prélèvement P1chdj ; 5215773)	46
14	le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce <i>K. pneumoniae</i> (référence de prélèvement H22 ; 7005773)	46
15	le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce <i>K. pneumoniae</i> (référence de prélèvement H25 ; 5205773)	46
16	le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce <i>Serratia marcescens</i> (référence de prélèvement P9 ; 5307773).	46
17	le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce <i>Enterobacter aérogènes</i> (référence de prélèvement P5 ; 7305773).	47
18	le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce <i>Serratia ficaria</i> (référence de prélèvement P13 ; 1307773).	47
19	le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce <i>Enterobacter cloacea</i> (référence de prélèvement P14 ; 3305563).	47
20	le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce <i>Enterobacter sakazaki</i> (référence de prélèvement H26 ; 3305773).	47
21	Distribution des BGN isolés selon les espèces identifiées	48
22	Fréquence des profils numériques en API 20E des souches <i>Klebsiella pneumoniae</i>	49
23	Distribution des souches entérobactéries dans le service Néonatalogie	49
24	Distribution des souches entérobactéries dans le service Pédiatrie.	50
25	la répartition de 14 souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon le site de prélèvement et le service	51
26	Distribution des <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon les services.	51
27	Sensibilité aux antibiotiques des 14 souches de <i>K. pneumoniae</i> aux 12 antibiotiques testés	52
28	L'antibiogramme de la souche <i>Klebsiella pneumoniae</i> (référence de la souche P7).	53



INTRODUCTION

Introduction

L'environnement hospitalier constitue une niche écologique importante pour les micro-organismes qui pourraient avoir une importance clinique (**Zenati et al., 2016**). Ce réservoir peut ensuite être étendu par des vecteurs tels que la turbulence de l'air, l'humidité, une main non lavée ou un contact direct avec un objet, un équipement ou un matériau inanimé (**Dancer, 2004**).

Klebsiella pneumoniae est un agent pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans de nombreuses infections nosocomiales sévères qui peut persister en milieu hospitalier et coloniser la peau humaine, par conséquent, il peut être facilement transmis entre les patients via les mains des professionnels de santé (**Azimi et al., 2015**).

En milieu hospitalier, les bactéries multi résistantes représentent un fléau pour les patients fragilisés. Les caractéristiques des établissements de soins (forte densité d'individus et notamment de patients à risque, forte utilisation des antibiotiques) favorisent en effet l'émergence et la diffusion des résistances aux antibiotiques (**Audrey, 2019**). En plus, leur utilisation massive et répétée a conduit à l'apparition de bactéries résistantes à ces médicaments (**Gillings, 2013**).

Cependant, l'expansion récente de la résistance aux antibiotiques pose aujourd'hui un problème de santé publique majeur dans le monde. Les bactéries deviennent de plus en plus résistantes, voire multi résistantes, aux traitements antibiotiques, limitant le pool d'antibiotiques efficaces disponibles et conduisant même dans certains cas à de véritables impasses thérapeutiques. Des études récentes suggèrent que, si l'antibiorésistance continue à progresser au rythme actuel, elle pourrait devenir l'une des principales causes de mortalité dans le monde d'ici quelques décennies (**Audrey, 2019**).

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) produits par les entérobactéries sont parmi les agents pathogènes les plus fréquemment impliqués dans les infections nosocomiales dans le monde (**Rodrigues et al., 2014**). Les infections causées par *Klebsiella pneumoniae* multi résistantes se propagent largement dans le monde entier. Ces souches deviennent très répandues dans certaines zones géographiques, notamment au Moyen-Orient et dans les pays méditerranéens (**Abdelaziz et al., 2013**).

Introduction

K. pneumoniae est souvent l'agent causal des infections néonatales, où il peut provoquer des épidémies d'infections entraînant des conséquences néfastes, y compris la mort des nourrissons touchés ainsi qu'une augmentation des coûts des soins. En outre, les nouveau-nés ont des hôtes particulièrement sensibles en raison de leur système immunitaire immature et de leur faible poids à la naissance, notamment lorsque des dispositifs invasifs (source de contamination) sont utilisés (**Belbel, 2017**).

Ce travail consiste à mettre en évidence la prévalence des souches de *K. pneumoniae* isolées des unités des soins néonatales et pédiatriques de Tébessa ; à déterminer leur niveau de résistance à différentes classes d'antibiotiques et à détecter les zones épidémiques afin de limiter la diffusion de ces bactéries en milieu hospitalier.

Ce manuscrit s'articule autour de 4 parties : la première partie portera principalement sur une synthèse bibliographique qui porte sur les infections nosocomiales puis une étude générale de l'espèce *K. pneumoniae* et ses mécanismes de résistance aux antibiotiques. La deuxième partie présentera le matériel et les méthodes expérimentales utilisées. La troisième partie portera sur l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent. Nous terminerons ce travail par une quatrième partie qui sera consacrée à la conclusion et les perspectives de recherche à venir.



Partie 01 :

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01

Les Infections Nosocomiales (IN) Et Néonatales

1-Généralité

1-1-Définition

L'infection nosocomiale (IN) est définie comme une infection qui n'est pas présente ou en incubation lors de l'admission dans l'établissement de soins. Elle peut être causée par les germes du patient, le personnel soignant ou l'environnement hospitalier (**Trifi et al., 2017**). Le délai entre l'admission et le début de l'infection doit être de 48–72 heures pour les infections bactériennes et selon la période d'incubation il peut être plus long dans les infections virales. Il est admis d'exclure les infections maternofoetales survenant dans les 48 premières heures de vie dans le cas d'infection néonatale (**Lachassinne et al., 2004**).

1-2- Epidémiologie de l'IN

Le mot épidémie semble menaçant, car il suggère qu'une maladie peut répandre et affecter massivement une population. En réalité, cela signifie qu'une maladie donnée survient dans un grand nombre de personnes d'une région donnée durant un laps de temps relativement court (**Gerard et al., 2012**).

Les études épidémiologiques de la distribution des IN dans quelques pays répartis dans le monde; montre que plus de 1,4 million de personnes souffrent des complications infectieuses acquises dans les hôpitaux. En Afrique la prévalence globale des IN est de 34,5% dont 17,0% pour une infection nosocomiale acquise et 17,5% pour une infection importée. Parmi les infections nosocomiales acquises, les infections du au site opératoire étaient les plus fréquentes (27,1%), suivies des infections pulmonaires (22,0%) et des infections urinaires (17,0%) (**Kakupa et al., 2016; Arefian et al., 2016**). En Asie du sud-est ont la recherche a été réalisées sur 41 études. La prévalence groupée de l'ensemble des infections nosocomiales a été de 9.0 % (**Ling et al., 2015**). Aux Etats-Unis, les infections acquises dans les hôpitaux sont de l'ordre de 1,7 million d'infection soit 4,5 % des admissions. La plupart des études ont été réalisées en Amérique du Nord ou en Europe (n = 19, 70,4%). Environ 63% des études identifiées ont été réalisées dans les services chirurgicaux (n = 10, 37,0%) ou en unités de soins intensifs (n = 7, 25,9%) (**Arefian et al., 2016**). Selon les données de l'OMS les régions : la Méditerranée orientale, l'Asie du Sud-est et le Pacifique occidental environ 8,7% des patients hospitalisés avaient une infection nosocomiale (**Jufeng et al., 2016**).

1-3-Facteurs de risque de l'IN

1-3-1- Services à haut risque infectieux

Ces infections sont plus importantes dans les services médicaux lourds : Réanimation polyvalente ou chirurgicale et soins intensifs, diabétologie, Pédiatrie, néonatalogie et oncologie (Bergogne, 1995).

Les nouveau-nés sont parmi les plus vulnérables aux infections nosocomiales vues l'immaturation du système immunitaire, ce risque est accentué par la prématurité, et l'agressivité de certains soins invasifs. Ce problème crucial, justifie des recherches approfondies pour adopter des mesures de prévention appropriées orientées vers la maîtrise des facteurs de risque (Merzougui et al., 2017).

1-3-2- Facteurs de risque liés aux malades

Les nouveau-nés infectés ont eu un âge plus jeune (moyenne à 1,39j contre 2,29j avec $p = 0,003$), un âge gestationnel plus faible que les témoins (34SA contre 37SA avec $p < 0,001$) (Merzougui et al., 2017).

Le faible poids de naissance (< 1500 g), constitue un facteur de risque de l'infection nosocomiale avec un OR = 10,4 ; IC à 95 % = [4,81—22,54] et $p < 10^{-3}$.

Tableau 01: Influence de l'âge gestationnel et du poids de naissance sur le taux d'infections nosocomiales (Lachassinne et al., 2004).

(%)	(/1000 jours)	Taux d'incidence	Densité d'incidence
Âge gestationnel	< 33 SA	57	14,2
	> 33 SA	14	9,1
Poids de naissance	< 1500 g	62	15
	> 1500 g	17	9,3

(SA : semaines d'aménorrhée)

La durée d'hospitalisation est significativement plus prolongée dans le groupe des cas par rapport aux témoins (19,6 J contre 6,2 J avec $p < 10^{-3}$). Par contre, l'âge de la mère, la voie d'accouchement, la grossesse gémellaire, les pathologies maternelles au cours de la grossesse et la maturation pulmonaire par le recours à la corticothérapie prénatale en cas de menace d'accouchement prématuré ne sont pas identifiées en tant que facteurs de risques d'IN dans son étude (Lachassinne et al., 2004).

Le risque d'infection nosocomiale, lié à la prématurité surtout extrême (< 28 SA), est plus élevé chez les cas avec un OR = 10,67 et p = 0,002.

Il existe aussi une association significative entre l'administration d'une antibiothérapie probabiliste initiale, l'alimentation parentérale, le gavage gastrique, l'administration d'un anti-histaminique (mopral), des drogues vasoactives, du surfactant et de la caféine (Merzougui et al., 2017).

1-4- Les différents types d'infections

Ce sont principalement des infections du tractus urinaire, des infections du site opératoire, des pneumopathies nosocomiales comme des infections associées à la ventilation artificielle et des bactériémies. D'autres infections sont possibles mais moins fréquentes : les infections de la peau et des tissus mous, la gastro-entérite (infection nosocomiale la plus fréquente chez les enfants, surtout à cause de *C. difficile*), les sinusites et infections ORL (Oto-Rhino Laryngologie), ou les infections de l'appareil génital après accouchement (Audrey, 2019).

2 -L'environnement hospitalier

2-1-Définition

Le terme d'environnement hospitalier regroupe habituellement les surfaces, l'eau, l'air, le linge, les aliments, les dispositifs médicaux et les déchets. Nous nous limiterons dans cet article aux surfaces et dispositifs médicaux (table d'opération, respirateurs, chariot, lit...) (Saouide el ayne et al., 2014).

2-2-Surfaces

Les surfaces sont contaminées soit par contact, soit par sédimentation des microorganismes présents dans l'air. La répartition de cette contamination des surfaces se fait le plus souvent de manière hétérogène. L'adhérence des bactéries est possible selon l'état de la surface et elle peut s'accompagner de la création d'un biofilm.

Du fait des conditions de croissance défavorables, certaines bactéries peuvent se miniaturiser (bactéries naines) et sont alors difficiles à mettre en évidence dans les prélèvements (bactéries viables et non cultivables). D'autres bactéries peuvent prendre une forme sporulée (*Clostridium difficile*)(Hajjar et al., 2000).

Les surfaces les plus contaminées sont : le sol, les barrières de lit, les tables, les vêtements portés par les patients, les oreillers et les matelas (**Boyce et al., 1997**).

Toutefois, toutes les espèces bactériennes isolées à partir de ces surfaces ne sont pas obligatoirement pathogènes mais la flore issue de l'activité humaine comme les bactéries de la flore cutanée ou des flores muqueuses et certaines espèces bactériennes des flores hydriques naturelles comme *Pseudomonas aeruginosa* peuvent être responsables des infections nosocomiales (**Rouillon et al., 2006**).

3-Les germes responsables d'IN

Les germes cocci gram positif étaient en cause dans 75 % des cas d'IN du nouveau-né et dans plus de 50 % des pneumopathies. Les staphylocoques coagulase négative, en cause dans 35 à 45 % des INB du nouveau-né, dans 45 à 65 % des septicémies mais dans 85 % des septicémies sur cathéter, résistent à la méthicilline dans 70 à 80 % des cas. Les staphylocoques dorés sont responsables de la majorité des infections cutanées et postopératoires, de 3 à 16 % des bactériémies et de 9 à 27 % des pneumopathies. Ils sont rarement résistants à la méthicilline (10 %) (**Lachassinne et al., 2004**).

La prédominance des germes cocci gram positif est remise en question dans certaines études récentes : rapportent sur une période de cinq ans une répartition en 43 % de germes gram négatif, 33,5 % de cocci gram positif et 16 % de levures (**Nambiar et Singh, 2002**).

Les bactéries responsables des infections nosocomiales sont devenues 60% des bacilles à Gram négatif (*entérobactéries*), ces germes sont souvent multi résistants aux antibiotiques suite à la pression exercée par l'antibiothérapie large dispensée dans les établissements de santé (**Epelboin et Macey, 2012**).

4- Sources de germes à l'hôpital

Elle est définie comme un maillon dans la chaîne de transmission vers le patient, c'est-à-dire le lieu de contact entre le malade et le microorganisme qui donne naissance à la dissémination d'infection à un moment donné. Les microorganismes responsables des infections nosocomiales ont un réservoir soit humains, animal soit situé dans l'environnement hospitalier (**Menidjel, 2017**).

4-1-La propre flore du patient

Par transfert de bactéries vers un site différent de leur habitat naturel. Ainsi, un transfert de bactéries commensales de la flore intestinale vers la flore urinaire peut être à l'origine d'une infection urinaire. Les bactéries présentes naturellement dans les voies digestives sont également fréquemment responsables d'infections du site opératoire (**Audrey, 2019**).

4-2-La flore d'un autre patient ou d'un membre du personnel

Le transfert de bactéries entre individus peut se faire de différentes façons :

- o Par contact direct (mains, salive, liquide biologique)
- o Par contact indirect, souvent aéroporté (gouttelette, poussière contaminée).

Le personnel soignant peut être un porteur transitoire de la bactérie, transmettant celle-ci entre les différents patients (**Audrey, 2019**).

4-3- L'environnement

Certaines bactéries, comme les *entérobactéries*, peuvent survivre plusieurs jours à plusieurs mois dans l'environnement. L'environnement hospitalier est lui-même source de nombreuses bactéries : l'eau et les milieux humides (*Pseudomonas aeruginosa*), le linge, le matériel médical et les locaux, les aliments et les poussières fines (**Audrey, 2019**).

5-Surveillance et prévention contre les infections nosocomiales et néonatales

5-1-Surveillance

La surveillance des infections nosocomiales est une activité essentielle car elle permet de produire les informations épidémiologiques indispensables pour :

- mesurer le niveau des risques infectieux dans un établissement de soins,
- définir la politique de prévention à mener par le comité de lutte contre les infections nosocomiales et l'équipe opérationnelle d'hygiène hospitalière,
- évaluer l'efficacité de cette politique de prévention : les données issues de la surveillance peuvent constituer un indicateur utilisable pour mesurer l'impact d'un programme de prévention (**Allaouchie et al., 2000**).

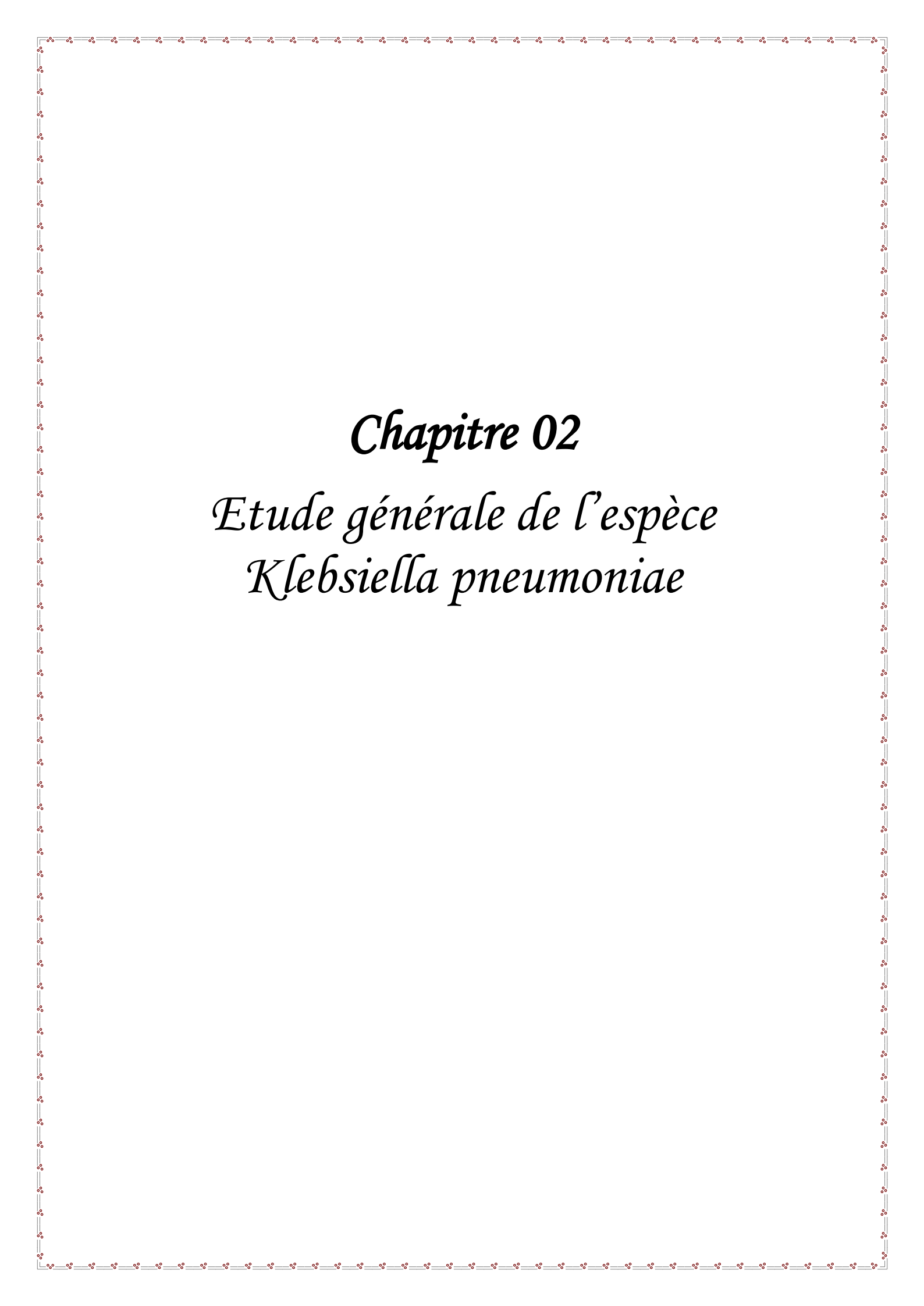
5-2-Prévention

Les bactéries responsables d'infection nosocomiale (BIN) notamment les multi résistantes peuvent coloniser et infecter les patients mais aussi le personnel soignant. Tous les acteurs du secteur doivent contribuer à réduire le risque d'infection. Les mesures de prévention et de contrôle des BIN doivent prendre en compte l'établissement, le personnel et sa formation, le matériel et la direction de l'hôpital. Les plans de prévention hospitalière s'orientent sur plusieurs axes :

- Limiter la transmission entre patients pendant les activités de soins,
- Limiter le risque infectieux lié à l'environnement,
- Protéger les patients par l'utilisation appropriée et raisonnée d'anti infectieux, par l'alimentation et la vaccination,
- Limiter le risque d'infection endogène en réduisant les gestes invasifs,
- Surveiller les infections, identifier et maîtriser les épidémies,
- Prévenir le risque infectieux pour le personnel hospitalier,
- Renforcer les bonnes pratiques de soins en assurant la formation continue du personnel (**Audrey, 2019**).

5-2-1-La prévention de l'infection nosocomiale néonatale

Elle commence par la prévention de la prématurité, une prise en charge de la grossesse et de l'accouchement qui tienne compte du risque nosocomial, avec maîtrise de la prescription antibiotique chez la mère. Une hygiène stricte tout au long de la prise en charge des nouveau-nés est indispensable, il faut favoriser l'alimentation au lait de femme qui réduirait de 60 % le risque de les procédures invasives doivent être limitées en fréquence et durée. La surveillance doit être continue en niveau III, centrée sur certaines procédures et certains germes en niveau II, mais elle peut être périodique en maternité, voire en niveaux I et II (**Lachassinne et al., 2004**).



Chapitre 02

Etude générale de l'espèce
Klebsiella pneumoniae

1- position taxonomique

1-1- Dénomination

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

1-2- Classification

Selon la classification de la 2ème édition de Bergy's manuel *Klebsiella pneumoniae* appartient au :

- Domaine: *Bacteria*
- Phylum : *Proteobactéria*
- Classe : *Gamma Proteobacteria*
- Ordre : *Enterobacteriales*
- Famille : *Enterobacteriaceae*
- Genre : *Klebsiella*
- Espèce : *Klebsiella pneumoniae* (George et al.,2004).

Les anciennes espèces taxonomiques *K. rhinoscleromatis* et *K. ozaenae* sont des sous-espèces de *K. pneumoniae* et l'analyse *Multi-locus Sequence Typing* (MLST) montrent qu'elles représentent des clones au sein de l'espèce *K. pneumoniae*. Le genre *Klebsiella* actuellement comporte deux espèces principales: *K. oxytoca* et *K. pneumoniae* subdivisée en 3 sous-espèces : *Klebsiella pneumoniae subsp.pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis*, *Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae*. Enfin, s'ajoutent *K. granulomatis* agent de la donovanose, ainsi qu'un taxon récemment individualisé qui est la *K. variicola* (Belbel, 2017).

2-Biotope

Klebsiella pneumoniae est une espèce ubiquitaire, isolée dans l'environnement (Brisset al., 2009). Elle est fréquemment rencontrée dans la nature : eaux de surface, du sol, du bois et des végétaux et de muqueuses des mammifères, en particulier de la flore fécale (El

Fertas-Aissani et al., 2012). Elle est présente dans le tube digestif de l'homme et des animaux, et elle est commensale des voies respiratoires (**Joly et Reynaud, 2002**).

Pour ce qui est des infections nosocomiales, le tube digestif des patients hospitalisés et les mains du personnel sont les deux sources principales (**Baerwolf et al., 2002**).

3- Caractères bactériologiques

3-1- Caractères morphologiques

Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, diplobacilles généralement capsulées, non sporulés, anaérobies facultatifs et appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (**El Fertas-Aissani et al., 2012**).

3-2- Caractères cultureux

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

En milieu liquide (bouillon nutritif, eau peptonée), la culture est rapide (quelques heures) à 30° et 37 °C pour *K. pneumoniae* avec parfois dépôt muqueux et collerette visqueuse en surface. À la différence des autres espèces de *Klebsiella*, plus de 90% des souches de *K. pneumoniae* croissent à 44 °C en bouillon lactosé bilié vert brillant et plus de 80% en fermentant le lactose avec production de gaz (**Freney et al., 2000**).

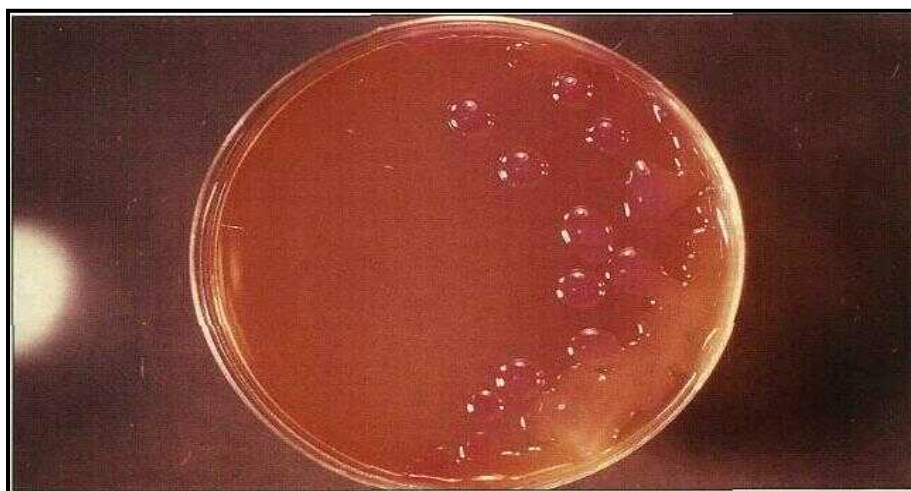


Figure 01 : *Klebsiella pneumoniae* sur milieu de Mac Conkey (**Tony et Paul, 1999**).

3-3-Caractères biochimiques

K. pneumoniae présente les caractères généraux des entérobactéries : c'est une bactérie aéro-anaérobie facultative, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive, possède une nitrate-réductase.

K. pneumoniae est : VP+, LDC+, ODC-, IND-, Citrate+, Urée+, ONPG+, H₂S-, TDA-, réduction des nitrates en nitrites (NO₃⁺) (Le Minor et Véron, 1989) Les caractères biochimiques sont illustrés dans le tableau 2.

Tableau 02: Caractères biochimiques de *Klebsiella pneumoniae*. (Le Minor et Véron, 1989)

Caractères biochimiques	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
ONPG, KCN	+
H ₂ S, désaminase, IND	-
VP	+
RM	-
Uréase	+, -
Citrate de Simmons	+
LDC	+
ODC	-
ADH	-
Rhamnose	+
Arabinose	+
Raffinose	+
Gélatinase	-
Lipase, Dnase	-

3-4- Caractères antigéniques

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

- ❖ Antigènes « O » ou somatiques : ils correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS). la recherche des antigènes « O » présents peu d'intérêt pratique, en raison de la difficulté de leur détermination par suite du caractère

thermostable c'est-à-dire résistant 2 h à un chauffage de 100°C, des antigènes capsulaires.

- ❖ Antigènes « K » capsulaires : au moins 77 antigènes K ont été décrites chez *K. pneumoniae*, K1 à K72, K74, K79 à K82. Les souches les plus souvent pathogènes pour l'homme et les animaux appartiennent aux types capsulaires 1 et 2, plus rarement 3 et 4.
- ❖ Antigène d'adhérence : appelé fimbriae, de nature protéique, porté par des pili communs (Belbel, 2017).

4- Facteurs de pathogénicité de *K. pneumoniae*

Les termes facteurs de pathogénicité et facteurs de virulence sont souvent utilisés comme synonymes. Mais certains auteurs font une distinction claire entre les deux : le terme pathogénicité définit la capacité de la bactérie à causer une maladie alors que la virulence est la mesure ou le degré de pathogénicité (Podschun et Ullmann, 1998). Cinq types de facteurs sont présentés dans la figure 2.

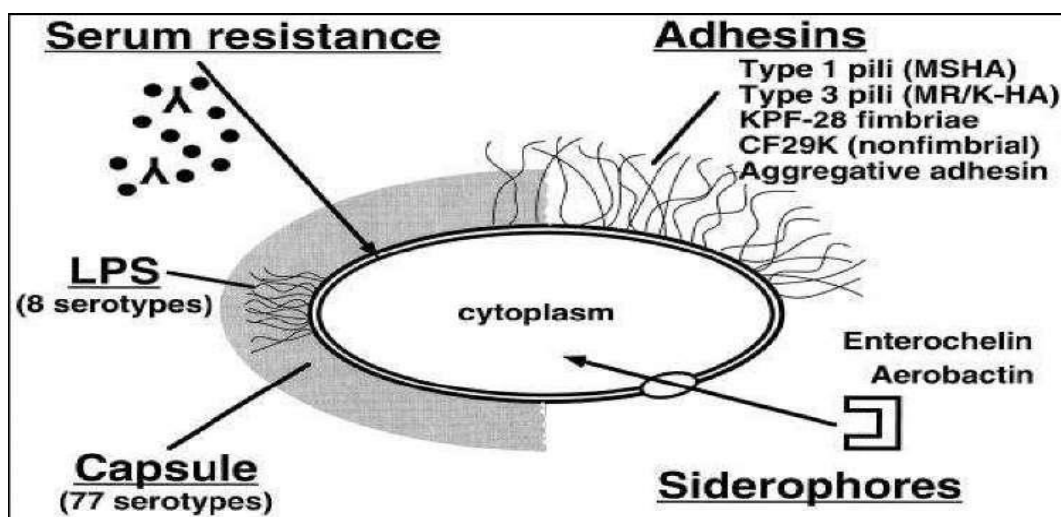


Figure 02: Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de *K. pneumoniae* (NajibyKassis, 2012).

4-1- Antigènes de surface

Deux types d'antigènes sont exprimés à la surface de *K. pneumoniae*. Ces deux antigènes contribuent à la pathogénie de cette bactérie.

- **Le lipopolysaccharide (LPS)**

Le lipopolysaccharide (LPS), également appelé endotoxine, est un composant majeur décorant la membrane externe des bactéries Gram-négatives. Le LPS est largement reconnu comme le plus puissant médiateur du choc septique causé par les bactéries (**Martin et al., 2018**). Les molécules de LPS sont composées du lipide A, un domaine central, et de l'antigène O. Les variations des structures de l'antigène O fournissent divers sérotypes O. Chez *K. pneumoniae*, il existe neuf principaux sérotypes O (**Follador et al., 2016**). Les variations du LPS peuvent également jouer un rôle dans la protection des bactéries contre les peptides antimicrobiens, y compris les antibiotiques polymyxines (**Papo et Shai, 2005 ; Cheng et al., 2015**).

- **La capsule**

La capsule de polysaccharide est l'un des facteurs de virulence les plus importants utilisés par *K. pneumoniae*. Elle est principalement utilisée pour aider à échapper au système immunitaire pendant l'infection en protégeant les bactéries de l'opsonophagocytose, est une structure qui se trouve à l'extérieur de la cellule bactérienne attachée à la membrane externe (**Martin et al., 2018**). C'est une véritable enveloppe de nature polysaccharidique présentant un antigène K (**Hennequin et al., 2007**). Parmi les 77 sérotypes capsulaires K1, K2, K21 et K55 sont associés aux souches les plus virulentes. Le lipopolysaccharide protège la bactérie du pouvoir bactéricide du sérum (**Joly et Reynaud, 2002**).

4-2- Adhésines

Une étape critique dans la progression vers l'infection consiste pour les bactéries à adhérer aux surfaces de l'hôte. Chez *K. pneumoniae*, cette étape est souvent réalisée à l'aide de pili (fimbriae). Les pili sont des structures filamenteuses s'étendant à partir de la surface des bactéries. Il existe deux types de pili courants sur *K. pneumoniae* : les pili de type 1 et les pili de type 3. On pense que les pili de type 1 favorisent la virulence grâce à leur capacité à adhérer aux surfaces muqueuses ou épithéliales humaines.

Les pili de type 3 adhèrent également aux surfaces cellulaires, mais ils ont été identifiés comme de puissants promoteurs de la formation de biofilms (**Schroll et al., 2010**).

On pense que les deux types de pili jouent un rôle dans la colonisation des cathéters urinaires, conduisant à des infections urinaires associées aux cathéters (Murphy *et al.*, 2013 ; Martin *et al.*, 2018).

Leur rôle comme facteur de virulence reste hypothétique dans plusieurs modèles d'infections (urinaire, pulmonaire). Néanmoins, du fait que ces structures semblent faciliter l'adhésion à des supports inertes et avoir un rôle dans la formation de biofilm, elles pourraient participer à la physiopathologie des infections urinaires sur sonde (Najiby Kassis, 2012).

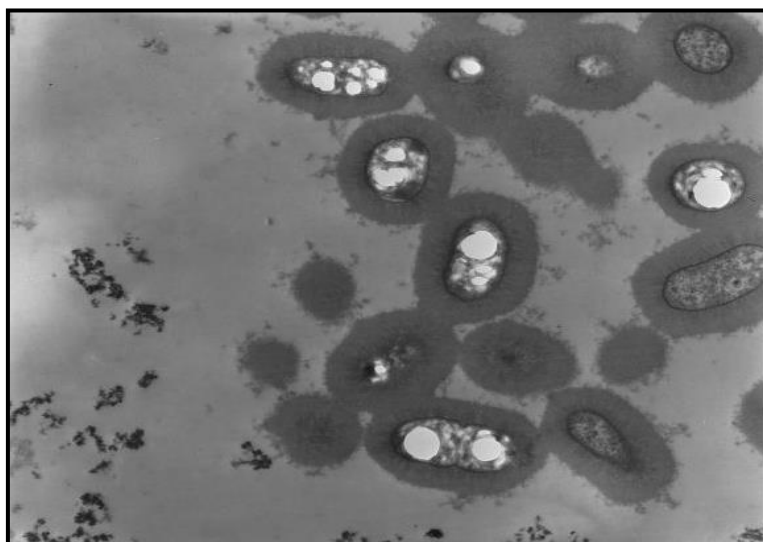


Figure 03 : structure fibrillaire couvrant la surface bactérienne (Najiby Kassis, 2012).

4-3- Sidérophores

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* sont aptes à synthétiser des sidérophores (systèmes de chélation du fer) de type aéro bactéine (hydroxamate) et entérochéline (phénolate) qui favorisent la multiplication bactérienne dans les tissus (Joly et Reynaud, 2002). Elle sécrète plusieurs types de sidérophores (Holden et Bachman, 2015). Dans l'organisme de l'hôte, le fer n'est pas à l'état libre mais associé à des glycoprotéines telles que la transferrine et la lactoferrine. En effet la captation du fer est essentielle à la croissance et à la réplication *in vivo* des bactéries et joue un rôle dans l'installation et la progression de l'infection.

4-4- Ilot de pathogénicité

C'est un grand fragment chromosomique d'ADN (35 - 45 kb) ; il porte les gènes de virulence, en particulier le locus de la yersiniabactine indispensable à l'expression du

phénotype hyper-virulent de *Yersinia sp* ; il s'insère au niveau de la terminaison 3' du gène de l'ARN de transfert; (iii) le taux de G+C% est différent de celui du reste du chromosome et il est flanqué de séquences répétées. Cet îlot contient de nombreux gènes dont le locus de la yersiniabactine: sa fonction essentielle est de capter des molécules de fer essentielles à la croissance et à la dissémination de la bactérie.

4-5- Elément d'intégration et de conjugaison (ICE : Intégrative and Conjugative Element)

Le transfert horizontal de gènes, intra-espèces et inter-espèces, joue un rôle essentiel dans l'évolution et la capacité d'adaptation des bactéries (**Cruz et Davies, 2000 ; Jain et al., 2002**). Trois mécanismes principaux, la transformation, la transduction et la conjugaison (**Davison, 1999**) permettent à des populations bactériennes d'acquérir des gènes par transfert horizontal de répondre ainsi rapidement aux défis et stress environnementaux (**Hacker et Kaper, 2000**).

5- Pouvoir pathogène

Klebsiella pneumoniae est une bactérie pathogène à Gram négatif, a été classiquement considérée comme un agent pathogène opportuniste, une des principales causes d'infections nosocomiales aux États-Unis (**Magill et al., 2014**), chez l'enfant soit de 19,6% en Chine et de 22,7% d'infections nosocomiales en service de néonatalogie et de réanimation pédiatrique en général et néonatales (**Boukadida et al., 2002**).

K. pneumoniae provoque des infections graves, notamment des pneumonies, des infections urinaires et des infections du sang (**Magill et al., 2014**). En fait, les espèces de *Klebsiella* ont été identifiées comme la troisième cause de pneumonie aux États-Unis, définie comme une pneumonie survenant ≥ 48 h après l'admission à l'hôpital (**Magill et al., 2014**).

Les espèces de *Klebsiella* sont également une cause majeure de pneumonie sous ventilation assistée (PVA) chez les patients des unités de soins intensifs (USI) (**Kalanuria et al., 2014 ; Selina et al., 2014**). Le cancer est la principale maladie sous-jacente associée aux infections nosocomiales, tandis que les maladies du foie et le diabète sucré sont les plus fréquemment associés aux infections nosocomiales à *K. pneumoniae*. Les *Klebsiella* sont également responsables d'infections des plaies et du site opératoire. Ce site représente ~13% de toutes les infections causées par la *Klebsiella*. Ensemble, les infections à *K. pneumoniae*

sur chacun de ces sites représentent un agent pathogène opportuniste endémique qui représente une charge importante pour les soins de santé (Martin et al., 2018).

Elle fait partie du groupe KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) qui est d'une grande importance en clinique hospitalière (Nedjai, 2011).

Klebsiella pneumoniae subsp ozaenae : Provoque l'ozène (une rhinite atrophique), elle est responsable d'infections variées de l'arbre respiratoire et au niveau cérébral (méningites et abcès) (Joly et Reynaud, 2002).

Klebsiella pneumoniae subsp rhinoscleromatis: provoque le rhinosclérome, une infection granulomateuse chronique des voies respiratoires supérieures (cavité nasale) (Botelho, 2007).

6- *K. pneumoniae* et épidémies hospitalières

K. pneumoniae est la principale espèce bactérienne responsable d'épidémies intra-hospitalières surtout en service de pédiatrie et de soin intensif. Depuis 2010, plus de 150 publications descriptives référencées dans Pub Med ont été analysées en tapant les mots clés « *Klebsiella pneumoniae and nosocomial outbreak(s)* » (Belbel et al., 2014). Toutes ces publications relatent des épidémies dues à des souches multi résistantes et productrices des nouvelles β -lactamases. Les pays concernés sont répartis sur les 5 continents avec une faible représentation des pays en voie de développement, en raison de l'insuffisance des moyens humains, techniques et biologiques pour publier dans des revues internationales. Les pays les plus concernés par ces problèmes sont : les Etats Unis (n = 11 publications), la Grèce (n=10), Espagne (n=11), Amérique du sud (n=25), Italie (n=8), la France (n=23), Israël (n=5), Chine (n=5), Afrique (n=8). En Algérie deux publications étaient rapportées (y compris notre étude). Le nombre de cas rapportés par épidémie varie de 2 à 161. Dans 25% des cas les services concernés sont des unités de soins intensifs adultes ou de néonatalogie.

En Algérie plusieurs enquêtes épidémiques ont rapporté la diffusion de *K. pneumoniae* dans les hôpitaux ; Une étude a porté sur 100 souches de *K. pneumoniae* collectées durant une période de deux ans (2010 et 2011), à partir de prélèvements bactériologiques à visée diagnostique reçus au laboratoire central de Microbiologie du CHU d'Annaba (Belbel et al., 2014). Une autre étude multicentrique a été réalisée au cours de la période d'étude de 2012 à 2014, portant sur 500 échantillons environnementaux dans trois hôpitaux universitaires (Sétif, Bejaia et Constantine), qui ont été prélevés dans l'unité de soins intensifs (100 échantillons

chacun à Bejaia, Constantine et Sétif), au service médical (62 échantillons à Bejaia et 100 à Sétif) et au service des maladies infectieuses (38 échantillons à Constantine) (**Zenati et al., 2017**).

Le contrôle des infections nosocomiales à *K. pneumoniae* repose d'une part, sur la maîtrise de leur transmission (respect de mesures d'hygiène classiques, lavage des mains, isolement, respect des protocoles de soins des cathéters urinaires et veineux, des trachéotomies, des plaies et de l'équipement hospitalier), d'autre part, sur la maîtrise de la prescription des antibiotiques. Mais ce contrôle ne peut être efficace sans une connaissance approfondie des capacités de virulence et de transmissibilité des différents isolats à l'intérieur de l'espèce *K. pneumoniae* (**Belbel, 2017**).

7-K. pneumoniae en Néonatale

Le nouveau-né, stérile à la naissance, est rapidement colonisé par des germes provenant de sa mère et de l'environnement. Tout apport de germes à risque pathogène déséquilibre cette colonisation (**Lachassinne et al., 2004**). *K. pneumoniae* est l'agent bactérien causal le plus courant des infections néonatales chez les patients immunodéprimés hospitalisés admis dans les unités de soins intensifs néonatales, où il peut provoquer des flambées d'infections entraînant des conséquences néfastes, y compris la mort, chez les nourrissons touchés ainsi qu'une augmentation des coûts des soins de santé. En outre, les nouveau-nés sont des hôtes particulièrement sensibles en raison de leur système immunitaire immature et de leur faible poids à la naissance, notamment lorsque des dispositifs invasifs (source de contamination) sont utilisés (**Belbel, 2017**).

La fréquence de l'infection nosocomiale y est sous-estimée: les enfants sortent avant l'apparition des symptômes et les études sont rares dans cette population à faible risque.

Une infection nosocomiale survient chez 3 % des nouveaux nés de maternité, de localisations cutanées (1,87 %), surtout staphylococciques, conjonctivales (0,63 %) ou ombilicales (0,12 %) (**Lachassinne et al., 2004**).

En Europe *K. pneumoniae* était responsable de 22.7% d'infections nosocomiales en service de néonatalogie et de réanimation pédiatrique (**Raymond et al., 2000**). En Chine, *K. pneumoniae* était responsable de 19.6% d'infections nosocomiales chez l'enfant (**Mai et al., 2011**).

En Afrique, dans le service de néonatalogie, la prévalence des germes habituellement incriminés dans les infections nosocomiales était 33 % avec une prédominance de bacilles gram négatif (79 %). *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* étaient les deux germes les plus fréquents (**Lasme et al., 2011**).

En Algérie, une épidémie d'infection à *K. pneumoniae* multi résistant (clone ST 39) a duré cinq mois de février à Juin 2010 a été identifiée au service de néonatalogie du CHU d'Annaba (**Belbel et al., 2014**).

Chapitre 03

*Résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques*

1- Les antibiotiques

1-1- Définition

L'antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est à dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres micro-organismes. Exemples :

- La Pénicilline est produite par un champignon "*penicillium notatum*".
- Le Chloramphénicol est un antibiotique de synthèse chimique (Yala et al., 2012).

L'utilisation de ces molécules a permis d'augmenter l'espérance de vie, de diminuer la mortalité infantile et joue un rôle important en chirurgie invasive ou en prophylaxie (ex : chimiothérapie) (O'Neill, 2014).

1-2- Classification

La classification des antibiotiques repose sur leur structure chimique et leurs mécanismes d'action, lesquels conditionnent leur spectre d'activité.

- **Mode d'action :** Les antibiotiques peuvent agir sur : la paroi, la membrane cytoplasmique, la synthèse des acides nucléiques et la synthèse des protéines.
- **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) (Yala et al., 2001).

1-2-1- Mode d'action

Les antibiotiques ont deux types d'actions principales : une action bactériostatique, qui inhibe la prolifération bactérienne (tétracyclines, chloramphénicoles, macrolides) et une action bactéricide qui détruit la bactérie (pénicillines, carbapénèmes, fluoroquinolones). Ces dernières classes sont les plus couramment utilisées dans le milieu hospitalier français (Maugat et Berger-Carbonne, 2018).

Ces composés peuvent intervenir à différents niveaux de la cellule procaryote (Figure 4).

Les modes d'action principalement utilisés par les antibiotiques sont axés sur :

- Le métabolisme de l'acide folique : en inhibant les voies métaboliques de synthèse des folates (Ex : sulfaméthoxazole).
- La réplication d'ADN : comme par exemple en se fixant sur l'ADN gyrase ou les topoisomérases (Ex : quinolones) .
- La synthèse protéique, par fixation sur les ribosomes (Ex : macrolides, tétracycline, kanamycine).
- La transcription, par liaison sur l'ARN polymérase (Ex : rifampicine) .
- La synthèse de la paroi. Par exemple, la pénicilline se fixe sur la protéine de liaison des pénicillines (PLP) inhibant ainsi la synthèse du peptidoglycane indispensable à la paroi bactérienne.
- La membrane cellulaire : par augmentation de la perméabilité membranaire (par exemple colistine) (Audrey, 2019).

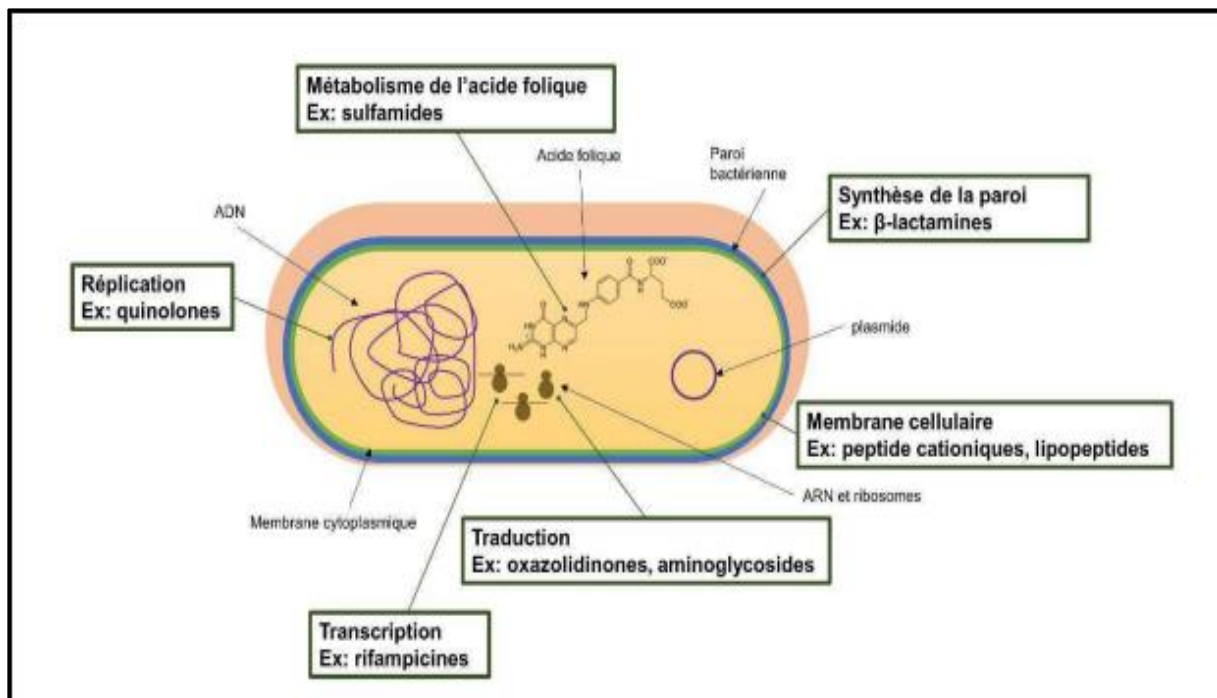


Figure 04 : Schéma illustratif des différents modes d'action des antibiotiques. Pour chaque type d'action, un exemple de classe d'antibiotique est donné (Audrey, 2019).

1-3-Notion de la résistance bactérienne

Un micro-organisme est considéré résistant lorsque sa concentration minimale inhibitrice est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Carl, 2009).

2-Types de résistance aux antibiotiques

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

2-1- Résistance naturelle

Certaines espèces présentent une résistance naturelle ou intrinsèque à une ou plusieurs antibiotiques. Dans ce cas, la résistance à un antibiotique donné concerne toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. Les informations qui codent ce comportement habituel d'une souche font partie du patrimoine génétique de l'espèce. La résistance naturelle est un phénomène connu, constant, transmissible à la descendance au cours des divisions successives, définie par le spectre d'activité. Il est donc possible de prévoir l'inefficacité d'une molécule vis-à-vis de la bactérie identifiée et d'en éviter l'emploi (Gazengel et al., 2013).

K. pneumoniae possède un gène chromosomique produisant une hydrolase, la β -lactamase de classe A K2, qui la rend, naturellement résistante aux pénicillines.

Cette pénicillinase est sensible à l'action des inhibiteurs (acide clavulanique, tazobactam). Ainsi, le phénotype sauvage de *K. pneumoniae* est sensible aux associations amoxicilline (ou ticarcilline) + acide clavulanique et pipéracilline + tazobactam ainsi qu'à l'ensemble des céphalosporines. Elle est également sensible aux céfamycines, à l'aztréonam et aux carbapénèmes. Concernant les autres antibiotiques, *K. pneumoniae* est sensible aux aminosides, aux fluoroquinolones, à la fosfomycine et au cotrimoxazole (Courvalin et al., 2006).

2-2- Résistance acquise

Certaines souches, au sein d'une espèce naturellement sensible à l'ATB, deviennent résistantes. Ce phénomène de résistance acquise est imprévisible et évolutif, observé in vivo et in vitro pour la plupart des bactéries et des ATB connus. Il rend nécessaire la réalisation de l'antibiogramme pour évaluer in vitro la sensibilité des souches aux ATB et adapter une thérapeutique en utilisant les substances efficaces (**Soussy et al., 2015**).

Deux phénomènes entrent en jeu dans l'acquisition de la résistance :

- **la mutation** : les bactéries peuvent acquérir leur résistance par mutation spontanée de gènes chromosomiques. Ces gènes chromosomiques produisent des composés ciblant des antibiotiques tels que des protéines ribosomales, des protéines impliquées dans la synthèse de la paroi ou de la membrane cellulaire ou encore impliquées dans des voies métaboliques.
- **le transfert horizontal** : la transmission de gènes via des éléments mobiles comme les plasmides ou les transposons est une source d'acquisition de résistance entre bactéries de même espèce et d'espèces différentes (transmission croisée). L'exposition aux antibiotiques n'induit pas seulement une pression de sélection dans la flore de l'hôte, mais induit aussi le transfert de gènes de résistance entre bactéries (**Holmes et al., 2016**). Ce transfert de gènes de résistance entre bactéries d'espèces différentes dans le contexte hospitalier pose un réel problème de santé publique. Le milieu hospitalier étant propice à la concentration de différentes espèces chez des hôtes plus susceptibles (**Audrey, 2019**).

A partir des années 1980, *K. pneumoniae* a largement contribué à la dissémination hospitalière des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) qui leur confèrent une résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (**Paterson et Bonomo, 2005 ; Sirot, 1995**).

3 - Supports génétiques de la résistance

Les bacilles à gram négatif, en particulier Les entérobactéries, sont particulièrement efficaces pour échanger de l'information génétique et la résistance aux antibiotiques de ces espèces est souvent due à l'acquisition de gènes étrangers. Ces gènes ont été capturés à partir du chromosome d'espèces différentes. Ces mobilisations impliquent deux types différents d'éléments génétiques mobiles. Ceux qui sont capables de transférer ou de capter des gènes entre les molécules d'ADN tels que les séquences d'insertion, les transposons, ou les cassettes

des intégrons, et ceux qui permettent de transfert d'ADN entre cellules, tels que les plasmides conjugatifs et mobilisables ou les éléments intégratifs conjugatifs (ICE) (Belbel, 2017)

4-Bêta-lactamines et *K. pneumoniae*

Les bêta-lactamines sont les antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des infections causées par les *K. pneumoniae* vue leur diversité, faible toxicité, activité bactéricide et large spectre d'action. Elles incluent les dérivés de la pénicilline, les céphalosporines (dont les Cephamicines et la Ceftazidime), les monobactames (dont l'aztréonam), les carbapénèmes et les inhibiteurs de la β -lactamase (Nordmann, 2010).

4-1- Classification des β -lactamines

Les β -lactamines sont classés en 04 sous familles

- ✓ les pénicillines (ou pénames)
- ✓ les céphalosporines (ou céphèmes)
- ✓ les monobactames
- ✓ les carbapénèmes (Karen et Bradford, 2016).

4-2- Mode d'action

Les cibles des β -lactamines sont des protéines membranaires appelées « protéines de liaison aux pénicillines » (PLP) (Spratt, 1975). Ces antibiotiques ont actifs sur des bactéries en phase de croissance et agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne (synthèse du peptidoglycane) par inactivation des principales enzymes impliquées dans cette construction: les PLP; protéines liant les pénicillines (Gerard et al., 2012 ; Ahmed-Kazi et al., 2013).

4-3- Mécanismes de résistance

La résistance naturelle ou acquise aux β -lactamines est caractérisée par au moins quatre mécanismes qui peuvent par ailleurs être combinés :

- * l'imperméabilité de la membrane externe
- * l'expression d'une pompe d'efflux actif
- * la modification d'affinité de la cible (PLP)
- * l'inactivation enzymatique par les β -lactamases, constituant le mécanisme principal de la résistance naturelle et acquise des bacilles à Gram négatif aux β -lactamines

- * Le principal mécanisme de résistance aux bêta- lactamines est la production de l'enzyme bêta-lactamase qui peut les hydrolyser et inactiver les lactamines en détruisant le lien amide sur le cycle lactame (**Belbel, 2014**).

4-4- Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

4-4-1- Définition des BLSE

Sont des enzymes sécrétées par les entérobactéries qui leur confèrent une résistance à la plupart des bêta-lactamines (pénicilline, céphalosporines, aztreonam) (**Bush et al., 1995; George et al., 2005**). Par contre, les souches productrices de BLSE restent généralement sensibles aux céphamycines (ex. céfoxitine) et aux carbapénèmes (ex. imipénème)

4-5 -Les carbapénèmes

Sont devenues des outils essentiels dans le traitement des infections nosocomiales sévères ou acquises dans la communauté (**Patel et Bonomo, 2013**).

Les carbapénèmes sont utilisées lors d'un traitement empirique ou dans le traitement des infections graves dues aux bactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE), majoritairement responsables de la résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) (**Hawkey et Livermore, 2012**).

Parmi les centaines de β -lactamines, les carbapénèmes possèdent le plus large spectre d'activité et la plus grande activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram positif et Gram négatif (**Papp-Wallace et al., 2011**).

Les *Klebsiella pneumoniae*, qui produisent des carbapénémases, sont des agents pathogènes dangereux en raison des options de traitement limitées et de leur potentiel de diffusion rapide dans les établissements de santé (**Belbel et al., 2018**).

4-5-1- Mode d'action

Les carbapénèmes exercent leur activité en se liant aux protéines de liaison à la pénicilline (PLP), inhibant ainsi l'étape de transpeptidation nécessaire à la synthèse du peptidoglycane. Leur affinité pour les différentes PLP varie selon les molécules, ce qui explique en partie leur différence d'activité. Ainsi, l'imipénème se lie préférentiellement à la PLP2, puis à la PLP 1a et 1b, et possède une faible affinité pour la PLP3. Le méropénème et l'ertapénème se lient fortement à la PLP2 puis à la PLP3, et ont une forte affinité pour la

PLP1a et 1b. L'affinité du doripénème pour les différentes PLP dépend de l'espèce bactérienne. Ainsi, le doripénème se lie à la PLP3 de *Pseudomonas aeruginosa*, aux PLP1, 2 et 4 de *Staphylococcus aureus*, et à la PLP2 d'*Escherichia coli* (Zhanet al., 2007).

4-5-2- Mécanisme de résistance

Il y a deux mécanismes de résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries :

- L'un combine l'hyperproduction d'une céphalosporinase à celle de la perte d'une porine comme décrit chez *E. cloacae* ou *E. aérogènes*.
- L'autre consiste en la production d'une carbapénémase de classe A en position chromosomique, donc non transférable entre espèces.

La dernière évolution identifiée depuis peu est beaucoup plus inquiétante car elle est liée à la découverte de carbapénémases plasmidique , permettant un transfert inter-espèces et une dissémination rapide (Abbas et al., 2012).

5- Les aminosides

Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Ce sont des antibiotiques rapidement bactéricides. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et hémi-synthétiques (Yala et al., 2012).

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

5-1- Classification des aminosides

Elles sont classées en fonction de la structure chimique centrale en trois classes :

- Streptamine
- 2 désoxystreptamine
- Streptidine (Yala et al., 2012).

5-2-Mode d'action des aminosides

Le spectre d'action des aminosides est large, agissant sur les bacilles Gram négatifs aérobies notamment les entérobactéries et sur les bacilles à Gram positif (*Listeria*). Ils sont actifs sur les *staphylococcus aureus* sécrétant de pénicillinase, sur les cocci à Gram négatif. Ces antibiotiques sont inactifs sur les streptocoques, pneumocoques, les entérocoques et les anaérobies.

Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne. Ils sont bactéricides (Yala *et al.*, 2012).

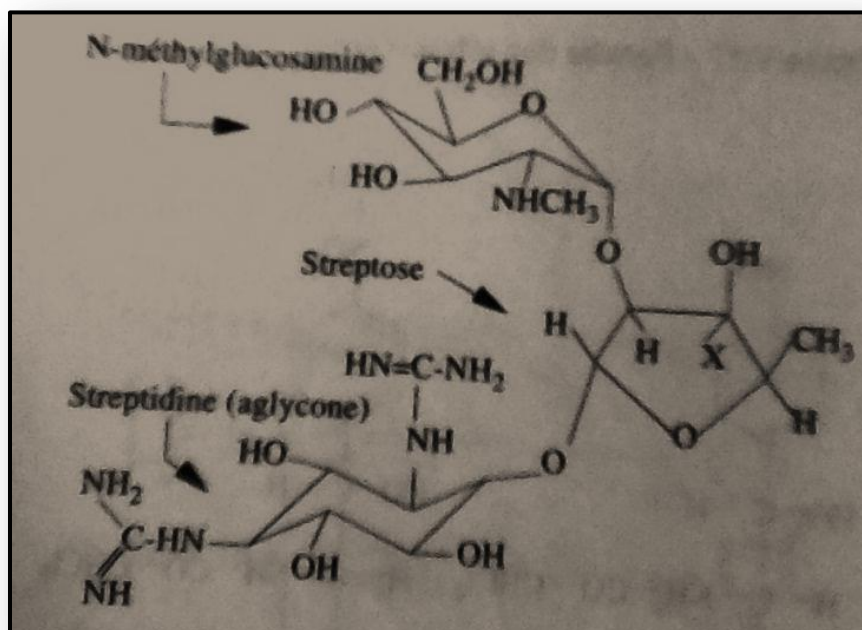


Figure 05: Structure chimique de la famille des aminosides: la streptomycine (Géorge, 2004).

5-3- Mécanismes de résistance

Les mécanismes généraux de résistance aux aminosides sont :

5-3-1- Altération de la cible

Le mode d'action des aminosides laisse présager la mutation de l'ARN 16S comme moyen de résistance. Trois activités de méthylation de l'ARN 16S modifient le site A aux positions G1405 (N7), A1408 et C1407 (N5) (Beauclerk et Cundliffe, 1987) (figure 6).

La méthylation de l'ARN ribosomique 16S (ARNr) est récemment apparue comme un nouveau mécanisme de résistance aux aminoglycosides chez les agents pathogènes gram-négatifs. Cette modification confère une résistance de haut niveau à tous les aminoglycosides cliniquement pertinents. Depuis l'identification des isolats cliniques de *K. pneumoniae* produisant des ARNr méthylases 16S en France en 2003, dix gènes d'ARNr méthyl-transférase 16S (*armA*, *rmtA*, *rmtB*, *rmtC*, *rmtD*, *rmtE*, *rmtF*, *rmtG* et *rmtH*) ont été signalés.

L'*armA* et le *rmtB* sont les méthylases les plus fréquemment identifiées dans les entérobactéries, et elles constituent une préoccupation mondiale. Les gènes codant pour ces méthyl-transférases sont généralement situés sur des plasmides transférables (Belbel, 2017).

En Algérie, la méthylation de l'ARN ribosomique 16S (ARNr) par le gène *armA* est apparue en 2014 comme un nouveau mécanisme de résistance aux aminoglycosides chez *K. pneumoniae* (Belbel et al., 2014).

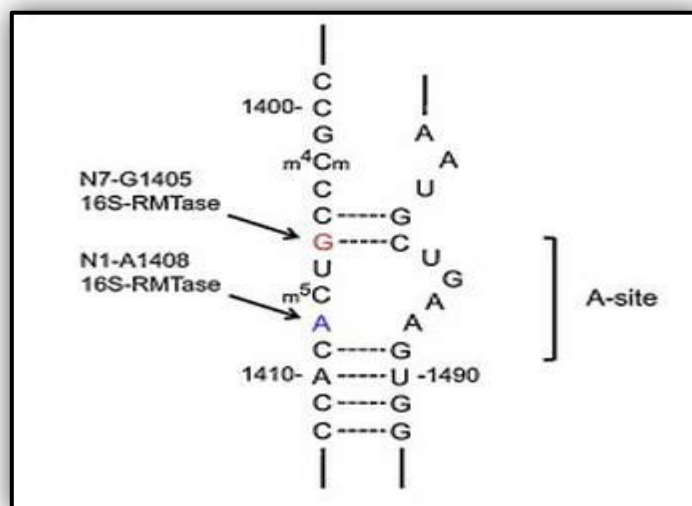


Figure 06 : Site-A : la région qui porte les ARNr16S méthyltransphérase (Wachino et al., 2012).

5-3-2- Modification enzymatique de l'antibiotique

Les enzymes modificatrices des aminosides sont le mécanisme de résistance le plus courant chez les bactéries Gram négatif et positif. Elles ont été regroupées en fonction de la réaction qu'elles catalysent (Ramirez et Tolmasky, 2010).

5-3-3- Piégeage de l'antibiotique

Une enzyme modificatrice peut parfois neutraliser l'action d'un aminoside par une liaison affiné 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 phospho-transférase qui reconnaît la tobramycine sans la modifier celle-ci peut être piégée dans un complexe enzyme-substrat fonctionnellement inactif (**Menard et al., 1993**).

5-3-4- Imperméabilité ou exportation de l'antibiotique

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

6- Quinolones et *K. pneumoniae*

Les quinolones sont des composés antibactériens de synthèse dont le chef de file, l'acide nalidixique, a été décrit en 1962 par Lesher et coll (**Lesher et al., 1962**).

Toutes ces molécules possèdent un cycle pyridine dont l'azote peut être diversement substitué et présentent une fonction cétone en 4 et un groupement carboxylique en 3. Ce cycle est accolé à un autre cycle aromatique variable : benzène, pyridine, pyrimidine.

Les fluoroquinolones se caractérisent par la présence d'un atome de fluor en position 6 et d'un cycle azoté, le plus souvent une pipérazine, en position 7 (**Courvalin et al., 2006**).

6-1-Mode d'action

Les quinolones exercent une inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliquées dans cette synthèse, qui sont :

- * l'ADN gyrase est topoisomérase de type II responsable du surenroulement de type négatif de l'ADN lors de la réplication.
- * l'ADN topoisomérase IV constitue une seconde cible intracellulaire des quinolones. (**Drlica et al., 2009**).

Les quinolones exercent une activité bactéricide pendant la phase de multiplication et de repos des bactéries (**Lewin et al., 1991**).

6-2- Mécanismes de résistance

Deux principaux mécanismes de résistance aux quinolones chez *K. pneumoniae* s'exercent séparément ou en combinaison et confèrent des niveaux de résistance variables.

* la résistance par mutation chromosomique qui est due, soit à la diminution d'affinité des cibles intracellulaires qui sont les complexes ADN-ADN gyrase et ADN-ADN topoisomérase IV, soit à la diminution d'accumulation intracellulaire de l'antibiotique, par défaut de pénétration passive et/ou excrétion active (**Lewin et al., 1991**).

La perte d'affinité pour la cible provient de modification structurale dans une région appelée la QRDR (*Quinolone Resistance Determining Region*), où sont trouvées la majorité des mutations responsables de la résistance aux fluoroquinolones.

* la résistance plasmidique est due à la protection de l'ADN gyrase de la fixation des quinolones. Cette résistance est décrite pour la première fois en 1998 aux USA chez une souche de *K. pneumoniae* hébergeant un plasmide portant le gène *qnrA* qui code pour une protéine QnrA (**Jacoby et al., 2003**). Un second gène *qnrB*, présentant 49,5 % d'identité avec *qnrA*, a été individualisé récemment et la protéine QnrB présente 39.5 % d'identité avec Qnr A (**Jacoby et al., 2006**).

Un autre mécanisme de résistance plasmidique s'effectue par l'inactivation des quinolones par l'acetyltransférase a ac (6')-Ib-cr (**Robicsek et al., 2006**).

7-*K. pneumoniae* et colistine

La colistine (également connue sous le nom de polymyxine E) est un antibiotique polypeptidique qui était à l'origine isolé en 1947 de la bactérie du sol *Paenibacillus polymyxa subsp. colistinus*. La colistine et la polymyxine B appartiennent à la classe des polymyxines, qui est l'une des principales des classes d'antibiotiques ayant une activité contre la plupart des bactéries Gram-négatives (**Laurent et al., 2017**).

La colistine est considérée comme un traitement de dernier recours pour les infections causées par *K. pneumoniae* résistant aux carbapénèmes, mais l'utilisation accrue de cet agent antimicrobien a conduit à l'émergence et à la propagation de la résistance à la colistine dans le monde entier (**Belbel et al., 2018**).

7- 1 Mode d'action

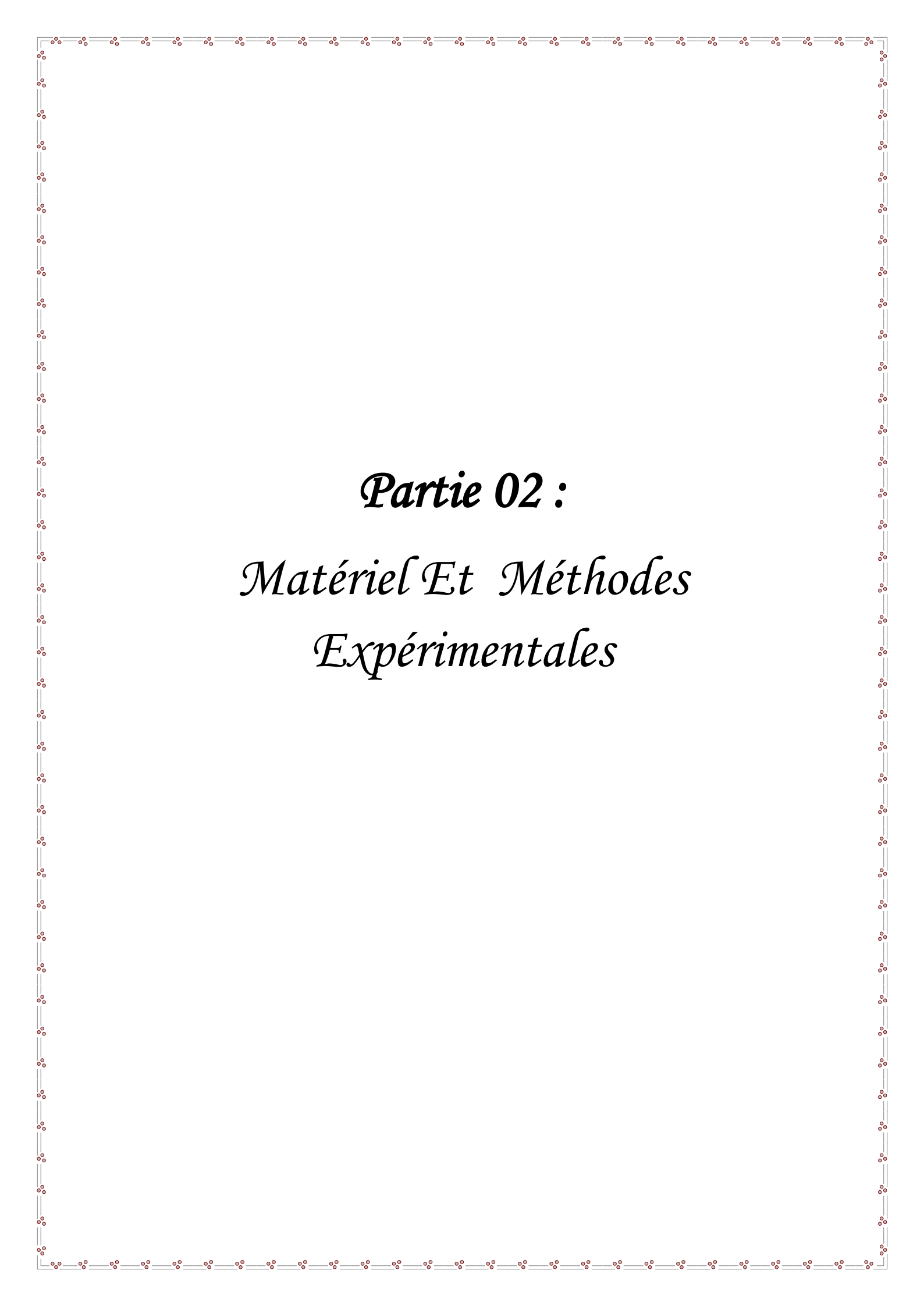
La cible d'action des polymyxines est le composant de la membrane externe des bacilles à gram-négatif. Grâce à leurs structure polycationique, ces molécules se fixent sur le LPS (à la place des ions Ca^{++} et Mg^{++}) provoquant une désorganisation de la paroi externe et secondairement une augmentation de la perméabilité de la membrane cytoplasmique. Ces modifications majeures aboutissent à la lyse rapide de la membrane et mort de la bactérie. Les polymyxines sont des antibiotiques rapidement bactéricides (**Rudy, 2017**).

7-2 Mécanisme de résistance

La résistance à la colistine est liée à des modifications de la composition du LPS des bactéries à gram-négatif. Ces modifications ont toutes comme conséquence de diminuer la charge négative du LPS, essentiellement via l'ajout de résidus chargés positivement, entraînant ainsi une diminution d'affinité de la colistine (elle-même chargée positivement) pour sa cible d'action.

La résistance à la colistine chez les bactéries à Gram négatif est médiée par des mutations chromosomiques fréquemment dans le gène *mgrB* ainsi que dans le système de contrôle PhoPQ / PmrAB, modifiant le lipopolysaccharide (LPS). A partir de 2015, un nouveau mécanisme de résistance plasmidique (transférable) à la colistine (gène *mcr*) et a émergé dans le monde entier (**Baron et al., 2016**).

En Algérie, le premier signalement de la résistance à la colistine des souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* a été rapporté en 2018. La résistance était liée à l'inactivation de la protéine PmrB et la modification de *mgrB* (**Belbel et al., 2018**).



Partie 02 :
Matériel Et Méthodes
Expérimentales

1- Cadre et objectifs de l'étude

Cette étude a été réalisée entre février et mars 2020 au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Tébessa. L'étude porte sur des souches isolées de différentes surfaces de deux services hospitaliers de l'hôpital Khaldi Abdelaziz ; la pédiatrie et la néonatalogie. L'hôpital est situé au centre-ville de la wilaya de Tébessa, d'une capacité de 120 lits, réservé exclusivement aux maladies maternelles et infantiles et à la pédiatrie. Il regroupe 06 différents services (gynécologie, grossesse a haute risque, pédiatrie, néonatalogie et poste opératoire).

Cette étude a été réalisé dans le but de :

- ✓ Isoler et l'identifier les bactéries qui colonisent l'environnement hospitalier ;
- ✓ Mettre en évidence la prévalence des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées ;
- ✓ Déterminer la résistance de ces souches à différentes classes d'antibiotiques ;
- ✓ Détecter les zones épidémiques afin de mettre des mesures préventives.

2-Matériel et méthodes

Le matériel utilisé dans cette étude sera cité au cours des techniques réalisées.

2-1-Prélèvements des surfaces

Les échantillons ont été recueillis une seule fois par semaine, entre 9heure et 12heure. Un total de 80 prélèvements a été réalisé : 42 prélèvement sont été réalisés au niveau du service de néonatalogie et 38 ont été effectués au niveau du service de pédiatrie. Les prélèvements ont été réalisés à l'aide des écouvillons stériles préalablement humidifiés (introduits dans des tubes contenant du bouillon nutritif) (**Annexe1**), afin d'assurer la survie des isolats ; Ensuite, on frottait l'écouvillon sur différentes surfaces : les lits et les draps de malades, les poignées de la porte, les toilettes, les réfrigérateurs, les Pousse-seringues, les masques d'oxygène, les Paillasse, les chariots, et les téléphones portables du personnels soignant.

2-2-Enrichissement

Après avoir effectué les différents prélèvements, les tubes sont ensuite acheminés au laboratoire pour être incubés dans l'étuve à $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ pendant 24 à 48H jusqu'à l'apparition d'un trouble dans le milieu. Le nombre et les dates des prélèvements sont mentionnés dans le tableau suivant (**Tableau 03**).

Tableau 03 : Echantillons de l'environnement hospitalier (date, site de prélèvement, service)

date	N°P	Site de prélèvement	Service	date	N°P	Site de prélèvement	Service	date	N°P	Site de prélèvement	Service
23/02/2020	1	Lit de bébé	NN	05-03-2020	28	Lit de salle de soins	PB	12-03-2020	55	Plaque chauffante	NN
	2	Drap de bébé	NN		29	Salle biberonnerie	NN		56	Blouse	NN
	3	Appareil Respiratoire	NN		30	Appareil respiratoire	NN		57	Téléphone portable de chef service	NN
	4	Lit de salle de soins	NN		31	Chariot de salle des soins	PA		58	Téléphone Portable d'infirmière	NN
	5	Blouse infirmier home	PA		32	Lit de salle de soins	PA		59	Blouse d'infirmière	NN
	6	Blouse infirmier home	PA		33	Lit de bébé	PB		60	Téléphone Portable d'infirmière	NN
	7	Blouse de docteur	PA		34	Drap de bébé	PB		61	Téléphone portable du médecin	NN
	8	Potence	PA		35	Réfrigérateur	PB		62	Lit de salle des soins	NN
	9	Paillasse de salle de soins	PB		36	Balance	PB		63	Plaque chauffant	NN
	10	Blouse d'infirmière	PB		37	Lit de bébé	PB		64	Réfrigérateur	NN
27/02/2020	11	Table de chauffent et de réanimation	NN	38	Biberon	PB	65	Appareil respiratoire de salle prématuré	NN		
	12	Lit de bébé	NN	39	Chauffage central	PA	66	Intérieure de Couveuse respiratoire	NN		
	13	Biberon	NN	40	Appareil respiratoire	PA	67	Boite de lait	NN		
	14	Balance bébé	NN	41	Plaque chauffante	NN	68	Appareil respiratoire	NN		
	15	Appareil respiratoire	NN	42	Intérieure appareil respiratoire	NN	69	Blouse d'infirmière	NN		
	16	Lit de bébé	PB	43	Biberon	NN	70	Masque d'oxygène	PA		
	17	Drap de bébé	PB	44	Téléphone portable d'infirmière	NN	71	Masque d'oxygène	PA		
	18	Matelas de bébé	PB	45	Couverture de lit	NN	72	Couche de bébé	PB		
	19	paillasse de préparation de lait	PB	46	Couveuse de salle contagieuse	NN	73	Boite de lait	PB		
	20	Pousse-seringue	PA	47	Réfrigérateur	NN	74	Biberon	PB		
	21	Lit de malade	PA	48	Drap de bébé	NN	75	Prélèvement de Selle de bébé	PB		
	22	Concentrateur d'oxygène	PA	49	Table de chauffent et de réanimation	NN	76	Lit de bébé	PB		
	23	Mur de service	PA	50	Drap de bébé	NN	77	Poignées de porte de toilette	PB		
	24	Lit dans la salle d'isolement	PA	51	Prélèvement vaginal	NN	78	Lit de bébé	PB		
	25	Blouse infirmier home	PB	52	Prélèvement de selles	NN	79	Prélèvement de Selle de bébé	PB		
	26	Blouse infirmier homme	PB	53	Drap de bébé	NN	80	Chauffage central	PA		
	27	Placard de materiel	PB	54	Prélèvement rectale	NN					

N°P : numéro des prélèvements

NN : Service Néonatalogie

PA : Service Pédiatrie A

PB : Service pédiatrie B

2-3-Isolement et Ensemencement

On procède directement à la recherche de l'espèce de *Klebsiella pneumoniae*. Pour cela, on réalise d'abord un ensemencement en strie à partir de l'écouvillon contenant le bouillon nutritif trouble c'est-à-dire exprimant une culture positive. L'ensemencement a été réalisé sur une gélose Mac Conkey (**Annexe 1**). Ce milieu de culture permet la sélection des bactéries à Gram négatif grâce à l'action de deux inhibiteurs présents dans le milieu. Le Cristal Violet pour l'inhibition de la flore Gram positive et les sels biliaires pour la sélection des entérobactéries.

Nous avons ensemencé une boîte de gélose Mac Conkey comme témoin négatif par un écouvillon qui contient seulement le bouillon nutritif utilisé pour l'enrichissement afin de contrôler sa stérilité. Un spot de chaque écouvillon a été posé sur la gélose. Ensuite, l'ensemencement a été fait à l'aide d'une pipette Pasteur stérile par des stries. Enfin, l'incubation a été réalisée dans l'étuve pendant 24 heures à 37°C (**Figure 07**).

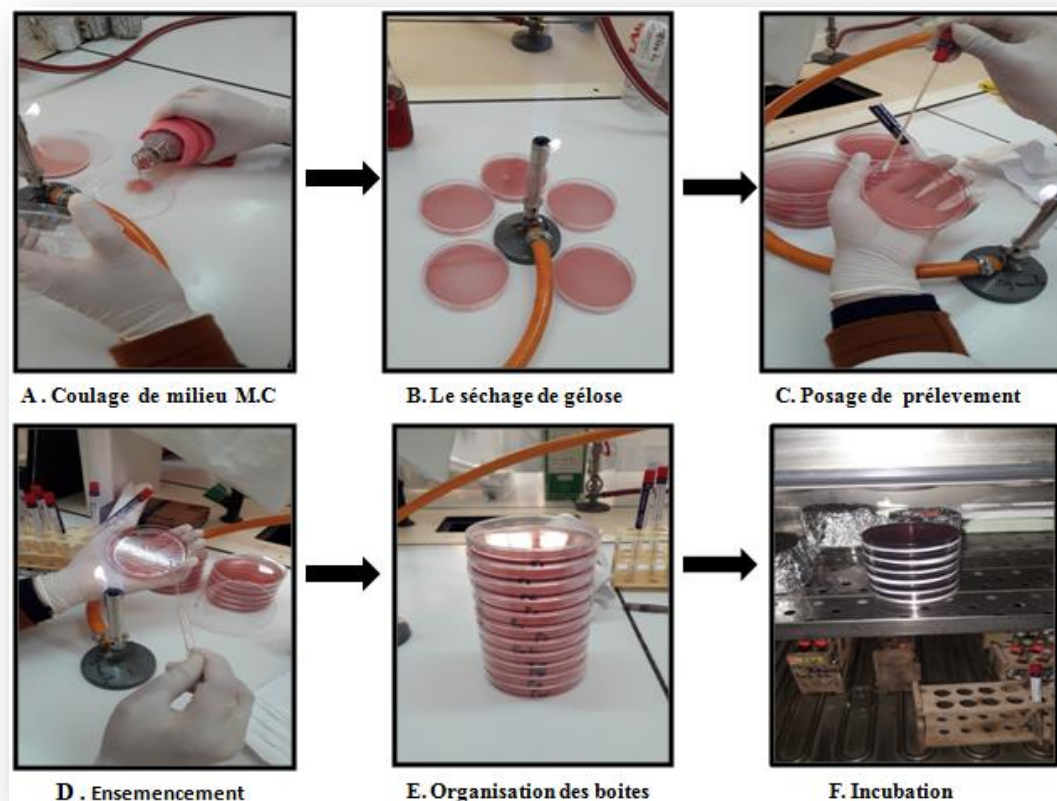


Figure 07: Ensemencement de l'échantillon sur milieu Mac conkey.

(photo personnelle)

2-4-Purification des souches isolées

Les souches qui ont poussé sur le milieu Mac conkey (culture positive), ont été purifiées après plusieurs passages (repiquage plusieurs fois) et incubé à 37°C pendant 24h .Ensuite, nous les avons conservées dans des tubes de gélose nutritive inclinée pour faire l'identification et l'antibiogramme.

2-5- Identification des isolats

2-5-1- Coloration de Gram

Un frottis bactérien réalisé à partir des colonies bactériennes isolées sur milieu Mac Conkey, est colorée pendant 01 minute au violet de cristal ; il est ensuite rincé rapidement à l'eau courante, traité pendant 01 minute par la solution de Lugol et de nouveau rincé rapidement. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration on le traitant avec un solvant comme l'éthanol. Il s'agit là de l'étape critique : la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 01 à 03 secondes seulement, jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau courante. À ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores, les cellules Gram positives violets. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 30 secondes à la Fuschine basique dilué, pour colorer les cellules Gram négatives présente. Après un bref rinçage, on sèche le frottis au Buvard et on l'examine à l'objectif à immersion (grossissement x1.000 environ) (**singleton , 2005**).

2-5-2- Identification biochimique par Api20E

2-5-2-1- Principe et description de la galerie

L'API 20 E est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries et autres BGN non fastidieux, comportant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La galerie est commercialisée dans des boites stériles, elle comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, chaque microtube est partagé en deux parties : le tubule (en bas) et la cupule (en haut).

Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs (**Bio Mérieux**).

2-5-2-2-Technique

- On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation avec la répartition environ 5ml d'eau distillé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, sans oublié d'inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- En effet, on retire la galerie de son emballage individuel et on la dépose dans la boîte d'incubation,
- puis on prépare l'inoculum bactérien: une colonie bien isolée sur milieu gélosé dans 5ml d'eau physiologique.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.
- Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles d'air.
- Pour les caractères soulignés ADH (arginine dihydrolase), LDC (lysine décarboxylase), ODC (ornithine décarboxylase), H₂S, URE, ensemercer le tubule par la suspension et la cupule par l'huile de vaseline stérile.
- Pour les caractères encadrés CIT(citrate utilisation), VP(production d'acétone, réaction Voges Proskauer) et GEL (gélatinasse) ensemercer le tubule et la cupule par la suspension.
- Pour les caractères non encadrés, non soulignés ensemercer uniquement le tubule par la suspension.
- Enfin, on incube à 37 C° ± 1C° pendant 18-24 heures (figure 08).

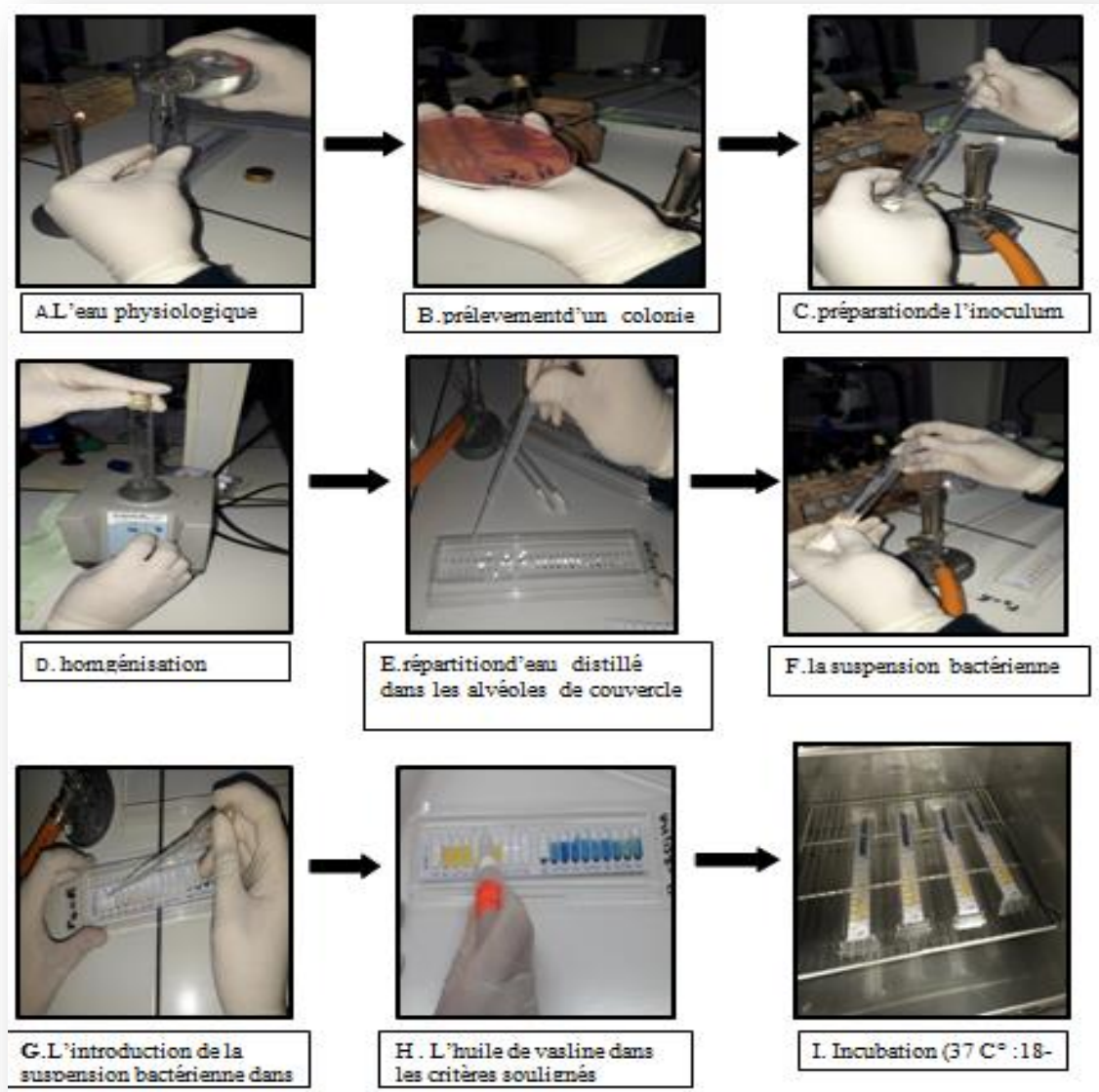


Figure 08: Identification des isolats par le système API 20E (photo personnelle).

2-5-2-3-lecture

Après l'incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant du tableau de lecture (**Annexe 2**).

Si trois tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

Après codification des réactions en un profil numérique (**Annexe 3**) l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (**Annexe 4**) (**Bio Mérieux**).

2-6-Test de sensibilité des souches isolées aux antibiotiques par antibiogramme

2-6-1-Principe

L'antibiogramme est l'interprétation de la sensibilité des bactéries à l'antibiotique en termes d'efficacité clinique. Il permet de catégoriser une souche bactérienne en classes semi-quantitatives (sensible, intermédiaire ou résistante).

Un antibiogramme contenant 12 antibiotiques spécifique pour les entérobactéries a été réalisé selon la méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller-Hinton (BioRad) (**Annexe 1**) et interprété après mesure des diamètres d'inhibition en accord avec les recommandations du comité d'antibiogramme de la Société française de microbiologie CA-SFM 2019. (**Tableau 04**) (**CASFM, 2019**)

2-6-2-Technique

▪ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu Mac Conkey, l'inoculum bactérien est préparé à l'aide de colonies isolées et prélevées puis mises dans un tube contenant 5 ml de l'eau physiologique et bien homogénéiser au vortex.

▪ Ensemencement

L'ensemencement se fait par écouvillonnage sur des boîtes de Pétri gélosées en Mueller-Hinton :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et laisser s'imbiber.
- ensemercé le milieu par stries très serrées en 3 passages en faisant pivoter de 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.
- Laisser sécher les boîtes une période de temps.

▪ Application des disques d'ATB

Les disques d'antibiotiques correspondant ont été appliqués à l'aide d'une pince préalablement flambée en appuyant légèrement. Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement. Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte, et chaque disque doit être éloigné au minimum de 30 mm des autres. Puis incubés pendant 18 à 24h à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, couvercle en bas(**figure09**) .

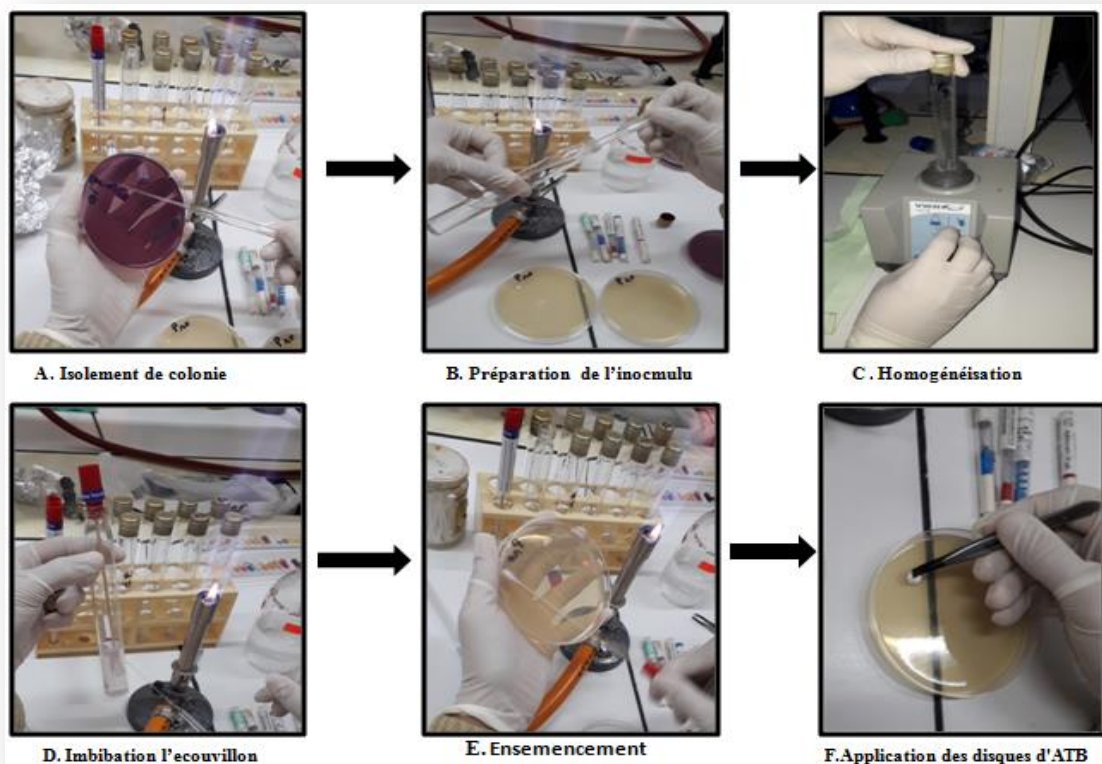


Figure 09: Les étapes de l'antibiogramme(photo personnelle).

2-6-3-Lecture

Après la culture bactérienne avec les antibiotiques, des zones d'inhibitions de croissance vont apparaître dans la boîte de Mueller-Hinton.

-Mesurer avec précision les diamètres d'inhibition au millimètre à l'aide d'une règle.

-Selon les diamètres critiques recommandés par CA-SFM, 2019.on peut classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible- Résistant –Intermédiaire.

*Lorsque le diamètre de la souche testé est plus grand que le diamètre critique, on déclare que la souche est **sensible (S)**.

*Lorsque le diamètre de la souche testé est plus petit que le diamètre critique, on déclare que la souche est **résistante(R)**.

* Lorsque le diamètre de la souche testé est égal au diamètre critique, on la déclare que la souche comme étant **intermédiaire(I)** (CA-SFM, 2019).

Tableau 04 : Antibiotiques testés

Famille		Antibiotique	Abréviation	Charge du disque	Diamètre Critique	
β-lactamines	Aminopénicilline s+ inhibiteur de β-lactamase	Amoxicilline + acide clavulanique	AUG	20 µg	≥24	<18
	Céphalosporine de 2 ^{ème} génération	Céfalotine	CTX	30 µg	≥31	<25
	Céphalosporine de 3 ^{ème} génération	Céfotaxime	CEP	30 µg	≥18	<12
	monobactames	Aztréonam	ATM	30 µg	≥36	<28
	Carbapénèmes	Ertapénème	ETP	10 µg	≥36	<29
Imipénème		IPM	10 µg	≥32	<26	
Aminosides		Amikacine	AK	30 µg	≥26	<19
Quinolones		Ciprofloxacine	CIP	5 µg	≥37	<29
		Acides Nalidixique	NA	30 µg	≥28	<22
Sulfamides		Triméthoprime - sulfaméthoxazole	SXT	25 µg	≥16	<13
Polymixines		Colistine	CT	10 µg	≥11	<8
Les acides fosfoniques		Fosfomycine	FOS	50 µg	≥34	<26



Partie 03

Résultats et Discussion

1-Prévalence des prélèvements hospitaliers contaminés

Parmi la totalité des prélèvements effectués (80) à partir de l'environnement hospitalier du service de pédiatrie et de néonatalogie de l'hôpital Khaldi Abdelaziz, 73 prélèvements présentaient des cultures positives du milieu d'enrichissement (bouillon trouble) soit un taux de contamination microbienne de 91.25% (**Figure 10**), dont 42 (52.5%) prélèvements ont poussé sur milieu Mac Conkey c'est-à-dire des bacilles à Gram négatif (BGN) (**Tableau 5**).

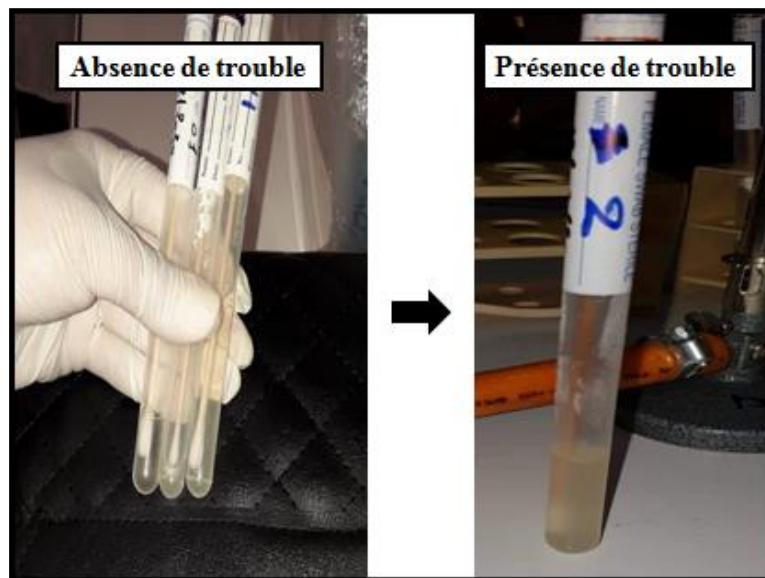


Figure 10:Aspect culture microbienne dans le bouillon nutritif (photo personnelle).

Tableau 05 : Résultats des cultures positives ou négatives sur milieu Mac

date	N°P	Site de prélèvement	RC MC	S	date	N°P	Site de prélèvement	RC MC	S	date	N°P	Site de prélèvement	RC MC	S
23/02/2020	1	Lit de bébé	-	NN	05-03-2020	28	Lit de salle de soins	-	PB	12-03-2020	55	Plaque chauffante	+	NN
	2	Drap de bébé	+	NN		29	Salle biberonnerie	+	NN		56	Blouse	+	NN
	3	Appareil Respiratoire	+	NN		30	Appareil respiratoire	-	NN		57	Téléphone portable de chef service	-	NN
	4	Lit de salle de soins	+	NN		31	Chariot de salle des soins	-	PA		58	Téléphone Portable d'infirmière	-	NN
	5	Blouse infirmier homme	-	PA		32	Lit de salle de soins	-	PA		59	Blouse d'infirmière	-	NN
	6	Blouse infirmier homme	+	PA		33	Lit de bébé	-	PB		60	Téléphone Portable d'infirmière	-	NN
	7	Blouse de docteur	-	PA		34	Drap de bébé	+	PB		61	Téléphone portable du médecin	+	NN
	8	Potence	+	PA		35	Réfrigérateur	+	PB		62	Lit de salle des soins	-	NN
	9	Paillasse de salle de soins	+	PB		36	Balance	-	PB		63	Plaque chauffant	-	NN
	10	Blouse d'infirmière	-	PB		37	Lit de bébé	+	PB		64	Réfrigérateur	-	NN
27/02/2020	11	Table de chauffent et de réanimation	+	NN	38	Biberon	+	PB	65	Appareil respiratoire de salle prématuré	-	NN		
	12	Lit de bébé	-	NN	39	Chauffage central	-	PA	66	Intérieure de Couveuse respiratoire	+	NN		
	13	Biberon	-	NN	40	Appareil respiratoire	+	PA	67	Boite de lait	+	NN		
	14	Balance bébé	+	NN	41	Plaque chauffante	-	NN	68	Appareil respiratoire	-	NN		
	15	Appareil respiratoire	-	NN	42	Intérieure appareil respiratoire	+	NN	69	Blouse d'infirmière	+	NN		
	16	Lit de bébé	+	PB	43	Biberon	+	NN	70	Masque d'oxygène	+	PA		
	17	Drap de bébé	+	PB	44	Téléphone portable d'infirmière	+	NN	71	Masque d'oxygène	-	PA		
	18	Matelas de bébé	+	PB	45	Couverture de lit	-	NN	72	Couche de bébé	+	PB		
	19	paillasse de préparation de lait	+	PB	46	Couveuse de salle contagieuse	-	NN	73	Boite de lait	+	PB		
	20	Pousse-seringue	-	PA	47	Réfrigérateur	+	NN	74	Biberon	+	PB		
	21	Lit de malade	-	PA	48	Drap de bébé	+	NN	75	Prélèvement de Selle de bébé	+	PB		
	22	Concentrateur d'oxygène	+	PA	49	Table de chauffent et de réanimation	+	NN	76	Lit de bébé	+	PB		
	23	Mur de service	-	PA	50	Drap de bébé	+	NN	77	Poignées de porte de toilette	-	PB		
	24	Lit dans la salle d'isolement	+	PA	51	Prélèvement vaginal	-	NN	78	Lit de bébé	-	PB		
	25	Blouse infirmier homme	-	PB	52	Prélèvement de selles	-	NN	79	Prélèvement de Selle de bébé	+	PB		
	26	Blouse infirmier homme	-	PB	53	Drap de bébé	-	NN	80	Chauffage central	+	PA		
	27	Placard de matériel	-	PB	54	Prélèvement rectale	+	NN						

N°P : numéraux des prélèvements de colonie
S : services

RC MC : résultats de culture sur milieu Mac Conkey
NN : Néonatalogie

Culture + : présence de colonie
PA : Pédiatrie A
PB : Pédiatrie B

Culture - : absence

1-2-Aspect macroscopique des isolats

Les isolats bactériens ont montré divers aspects culturaux sur le milieu Mac Conkey, sachant que le diamètre des colonies était de 3 à 4 mm avec un aspect particulier selon les espèces (bombées, lisses, rondes, brillantes, muqueuses ...), de couleur transparente, rose et grenas (**Figure11**).

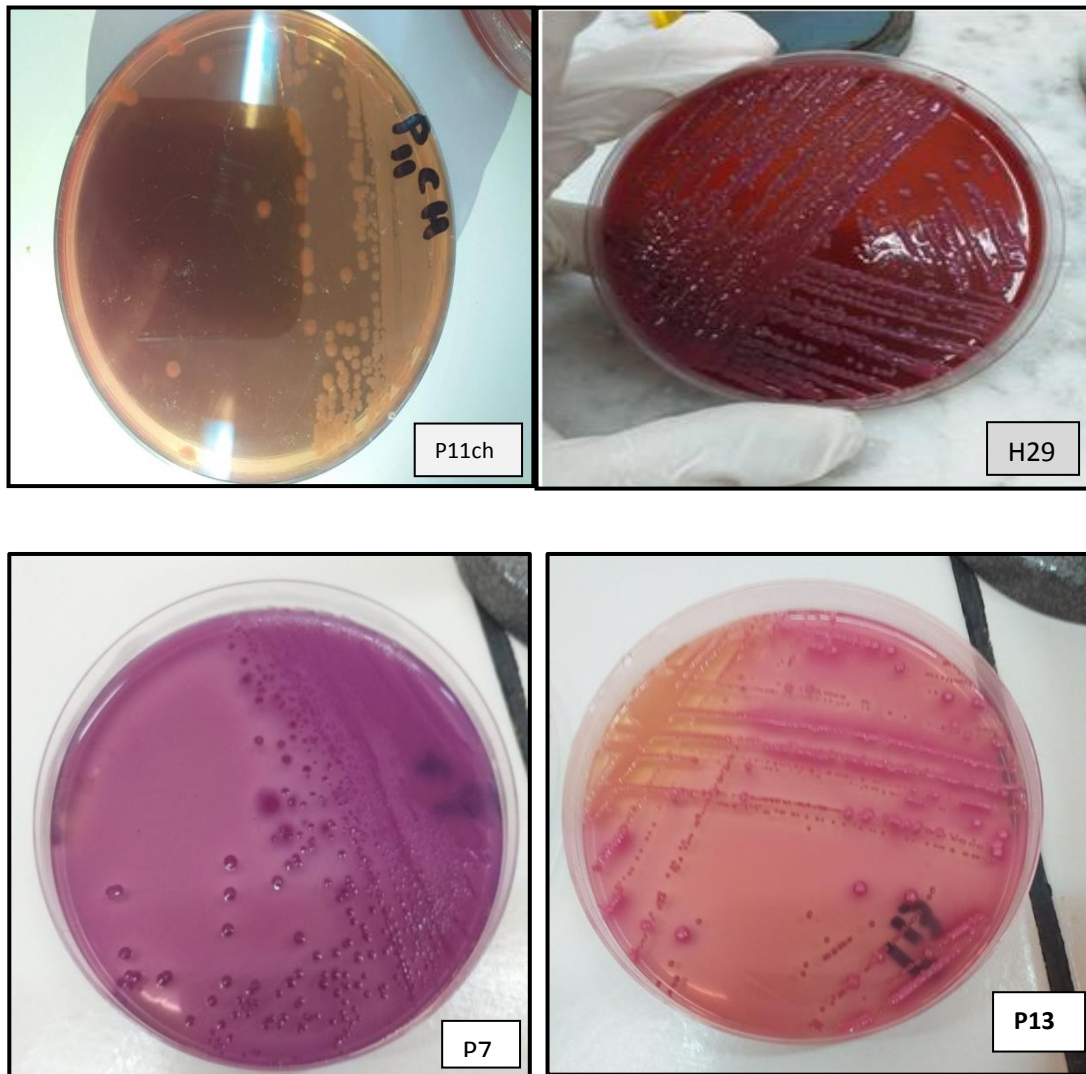


Figure 11 : Aspect macroscopique des isolats sur gélose Mac Conkey (photo personnelle).

1-2-1- Purification et repiquage

Les colonies présentes sur 42 boîtes de Mac conkey ont été repiqué plusieurs fois dans de nouvelles boîtes de Mac conkey et incubé à 37°C pendant 24h jusqu'à l'obtention de colonies pures distincte (**figure 12**)

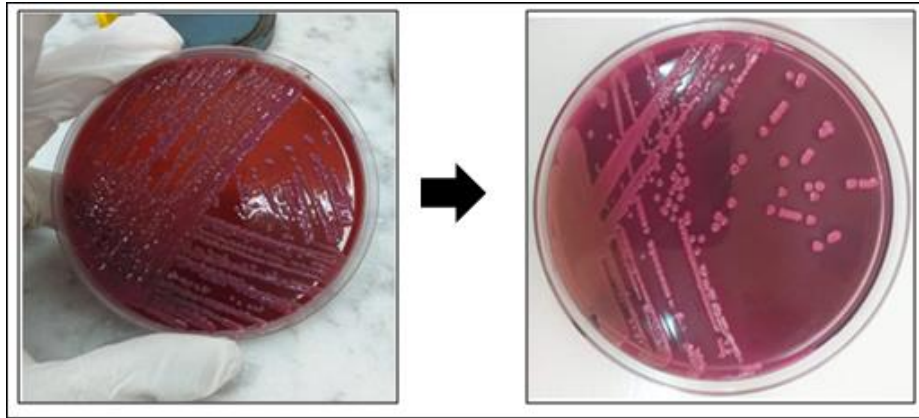


Figure12 : résultat de purification de la souche Pch1 (photo personnelle).

1-4-Aspect microscopique des isolats

Après coloration de Gram d'une souche isolée sur Mac Conkey, l'observation microscopique a montré des bacilles d'une couleur rose à Gram négatif.

2- Identification des souches bactériennes isolées

2-1- Selon les caractères cultureux

Le tableau ci-dessous présente les souches fermentant et non fermentant de lactose dans les services de néonatalogie et pédiatrie, On remarque une prédominance des souches fermentant le lactose avec 35 souches (83%) et 07 souches non fermentant le lactose (17%).

Tableau 06: Fermentation du lactose des 42 souches bactériennes isolées dans notre étude.

Date	N°P	Référence de souche	Site de prélèvement	Service	Caractère culturaux
23/02/2020	2	P2	Drap de bébé	NN	Lac+
	3	P3	Appareil Respiratoire	NN	Lac-
	4	P4	Lit de salle de soins	NN	Lac+
	6	P6	Blouse infirmier homme	PA	Lac+
	8	P8	Potence	PA	Lac+
	9	P9	Paillasse de salle de soins	PB	Lac+
27/02/2020	11	Pch1	Table de chauffent et de réanimation	NN	Lac+
	14	Pch4	Balance bébé	NN	Lac-
	16	Pch6	Lit de bébé	PB	Lac+
	17	Pch7	Drap de bébé	PB	Lac+
	18	Pch8	Matelas de bébé	PB	Lac+
	19	Pch9	paillasse de préparation de lait	PB	Lac+
	22	Pch12	Concentrateur d'oxygène	PA	Lac-
	24	Pch14	Lit dans la salle d'isolement	PA	Lac+
29	Pch19	Salle biberonnerie	NN	Lac+	
05-03-2020	34	P4	Drap de bébé	PB	Lac+
	35	P5	Réfrigérateur	PB	Lac+
	37	P7	Lit de bébé	PB	Lac+
	38	P8	Biberon	PB	Lac+
	40	P10	Appareil respiratoire	PA	Lac+
	42	P12	Intérieure appareil respiratoire	NN	Lac-
	43	P13	Biberon	NN	Lac+
	44	P14	Téléphone portable d'infirmière	NN	Lac+
	47	P17	Réfrigérateur	NN	Lac+
	48	P18	Drap de bébé	NN	Lac+
	49	P19	Table de chauffent et de réanimation	NN	Lac+
50	P20	Drap de bébé	NN	Lac+	
12-03-2020	54	H4	Prélèvement rectale	NN	Lac+
	55	H5	Plaque chauffante	NN	Lac+
	56	H6	Blouse	NN	Lac+
	61	H11	Téléphone portable du médecin	NN	Lac+
	66	H16	Intérieure de Couveuse respiratoire	NN	Lac+
	67	H17	Boite de lait	NN	Lac-
	69	H19	Blouse d'infirmière	NN	Lac+
	70	H20	Masque d'oxygène	PA	Lac-
	72	H22	Couche de bébé	PB	Lac+
	73	H23	Boite de lait	PB	Lac-
	74	H24	Biberon	PB	Lac+
	75	H25	Prélèvement de Selle de bébé	PB	Lac+
	76	H26	Lit de bébé	PB	Lac+
	79	H29	Prélèvement de Selle de bébé	PB	Lac+
80	H30	Chauffage central	PA	Lac+	

Lac+ : présence fermentation du lactose

Lac- : absence de fermentation du lactose

NN : Néonatalogie

PA : Pédiatrie A

PB : Pédiatrie B

2-2- Identification biochimique par Api 2OE

Dans le but de rechercher les souches de *Klebsiella pneumoniae*, nous avons sélectionné 27 souches bactériennes selon les caractères culturels de l'espèce pour lesquelles nous avons réalisé l'identification biochimique par Api 20 E, les résultats sont montrés dans les figures suivantes 13 ; 14 ; 15 ; 16 ; 17 ; 18 ; 19 ; 20 et le tableau 07.

Tableau 07: Identification et biotypage selon le profil numérique d'API 20 E des souches bactériennes isolées dans notre étude.

N°	Références de souches	Types des souches	Sites des prélèvement	Services	Profil numérique
02	P2	<i>Enterobacter cloacea</i>	Drap de bébé	NN	3303373
04	P4	<i>Enterobacter cloacea</i>	Lit de salle de soins	NN	3304573
09	P9	<i>Serratia marcescens</i>	Paillasse de salle de soins	PB	5317773
11	Pch1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Table de chauffent et de réanimation	NN	5211773
16	Pch6	<i>Enterobacter cloacea</i>	Lit de bébé	PB	1301573
17	Pch7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Drap de bébé	PB	5207773
19	Pch9	<i>Enterobacter cloacea</i>	paillasse de préparation de lait	PB	7337573
24	Pch14	<i>Enterobacter cloacea</i>	Lit dans la salle d'isolement	PA	3301563
29	Pch19	<i>Enterobacter cloacea</i>	Salle biberonnerie	NN	3305563
35	P5	<i>Enterobacter aérogènes</i>	Réfrigérateur	PB	7305733
37	P7	<i>Enterobacter cloacea</i>	Lit de bébé	PB	3305573
40	P10	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Appareil respiratoire	PA	5205773
43	P13	<i>Serraciaficaria</i>	Biberon	NN	1307773
44	P14	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Téléphone portable d'infirmière	NN	5205773
49	P19	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Table de chauffent et de réanimation	NN	5205773
50	P20	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Drap de bébé	NN	5205773
54	H4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Prélèvement rectale	NN	5205773
55	H5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Plaque chauffante	NN	5205773
61	H11	<i>Enterobacter aérogenes</i>	Téléphone Portable du médecin	NN	7703773
66	H16	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Intérieure de Couveuse respiratoire	NN	5205773
69	H19	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Blouse d'infirmière	NN	5205773
72	H22	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Couche de bébé	PB	7005773
74	H24	<i>Serratia ficaria</i>	Biberon	PB	5242373
75	H25	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Prélèvement de Selle de bébé	PB	5205773
76	H26	<i>Enterobacter sakazaki</i>	Lit de bébé	PB	3305173
79	H29	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Prélèvement de Selle de bébé	PB	5205773
80	H30	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Chauffage central	PA	5205773

NN : Néonatalogie

PA : Pédiatrie A

PB : Pédiatrie B



Figure13 : le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce *K.pneumoniae*(référence de prélèvement P1chdj ; 5215773)



Figure 14:le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce *K.pneumoniae* (référence de prélèvement H22 ; 7005773)



Figure 15 :le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce *K.pneumoniae*(référence de prélèvement H25 ; 5205773)



Figure 16:le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce *Serratia marcescens* (référence de prélèvement P9 ; 5307773).



Figure 17: le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce *Enterobacter aerogenes* (référence de prélèvement P5 ; 7305773).



Figure 18: le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce *Serratia ficaria* (référence de prélèvement P13 ; 1307773).



Figure 19: le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce *Enterobacter cloacea* (référence de prélèvement P14 ; 3305563).



Figure 20: le résultat biochimique par Api 20 E de l'espèce *Enterobacter sakazaki* (référence de prélèvement H26 ; 3305773).

2-1-Distribution des souches bactériennes selon les espèces

Dans notre étude nous avons remarqué une diversité d'espèces bactérienne isolées de l'environnement hospitalier avec prédominance de l'espèce *Klebsiella pneumoniae* (n=14) parmi la totalité (n=42) des bacilles à Gram négatifs (BGN) isolés dans notre étude soit la fréquence la plus élevée (33%), suivie par les espèces d'*Enterobacter* (n=10) : 7 souches de *Enterobacter cloacea*, deux souches de *Enterobacter aéroènes* et une souche d'*Enterobacter sakazakii*, ensuite les espèces de *Serratia* (n= 3) avec deux souches de *Serratia ficaria* et une souche de *Serratia marcescens*. Les 15 souches qui restent (36 %) représentent les autres BGN non identifiés qui ont exprimé des caractères cultureux autres que *Klebsiella pneumoniae*.

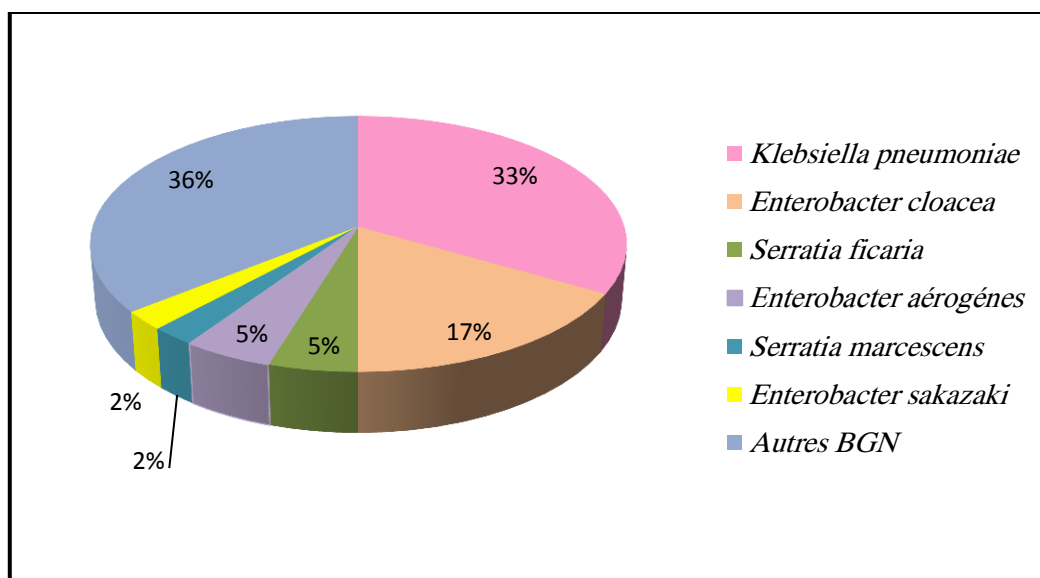


Figure 21: Distribution des BGN isolés selon les espèces identifiées.

2-2- Biotypage des souches de *Klebsiella pneumoniae*

Le profil numérique le plus abondant des souches *Klebsiella pneumoniae* est 5205773 (12 souches), suivis par les profils 5211773 et 7005773 (avec une souche).

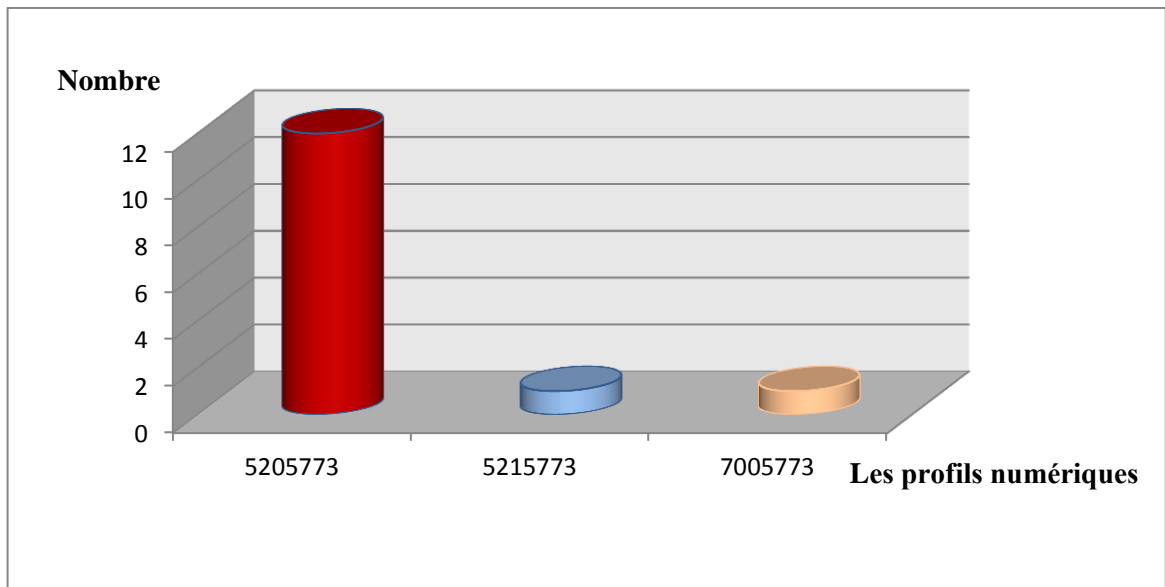


Figure 22: Fréquence des profils numériques en API 20E des souches *Klebsiella pneumoniae*

1-2 –Distribution des 42 souches des entérobactéries selon le service

La figure 23 montre les espèces isolées dans le service de Néonatalogie, On remarque une prédominance de l'espèce de *Klebsiella pneumoniae* avec une fréquence de 40%.

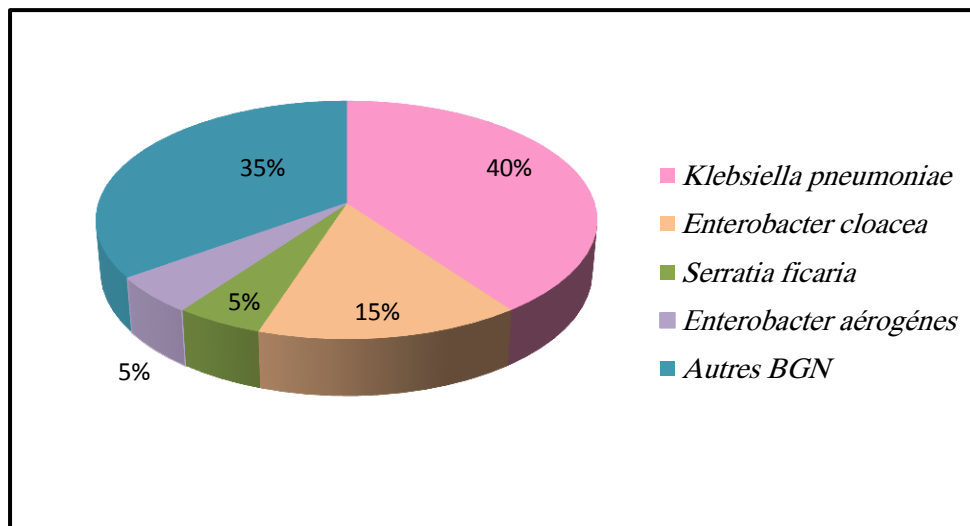


Figure 23 : Distribution des souches entérobactéries dans le service Néonatalogie.

La figure 24 montre les espèces isolées dans le service de pédiatrie, On remarque une prédominance de l'ensemble des BGN non identifié (36%) suivie par l'espèce de *Klebsiella pneumoniae* avec une fréquence de 27%.

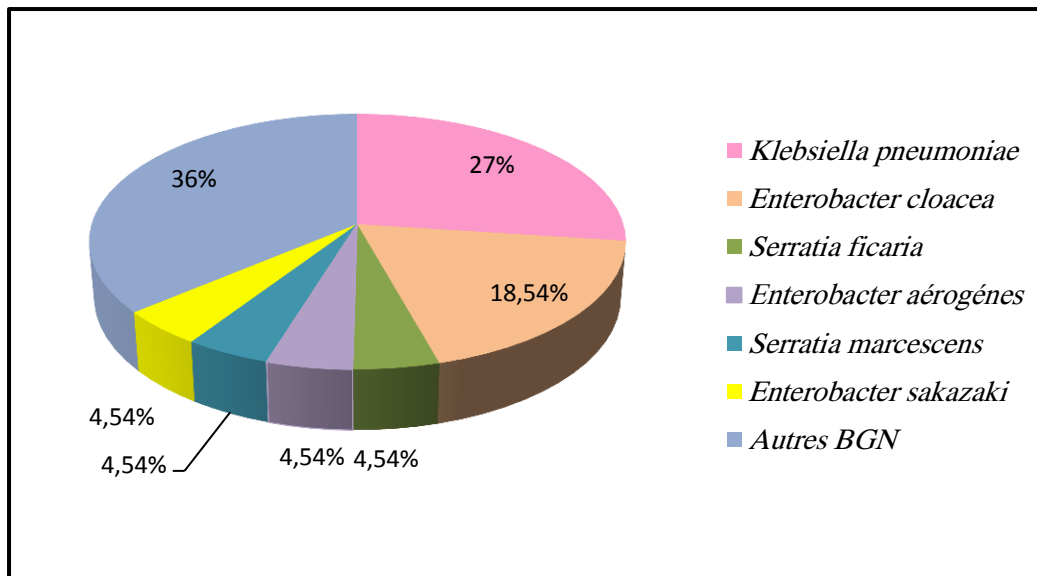


Figure 24: Distribution des souches entérobactériennes dans le service Pédiatrie.

3-2- La répartition de *Klebsiella pneumoniae* selon les sites de prélèvement et les services

La figure 25 et 26 montres la prévalence des souches de *Klebsiella pneumoniae* selon le site de prélèvement et de service, on note une prédominance des souches isolée en service de néonatalogie (n=8).

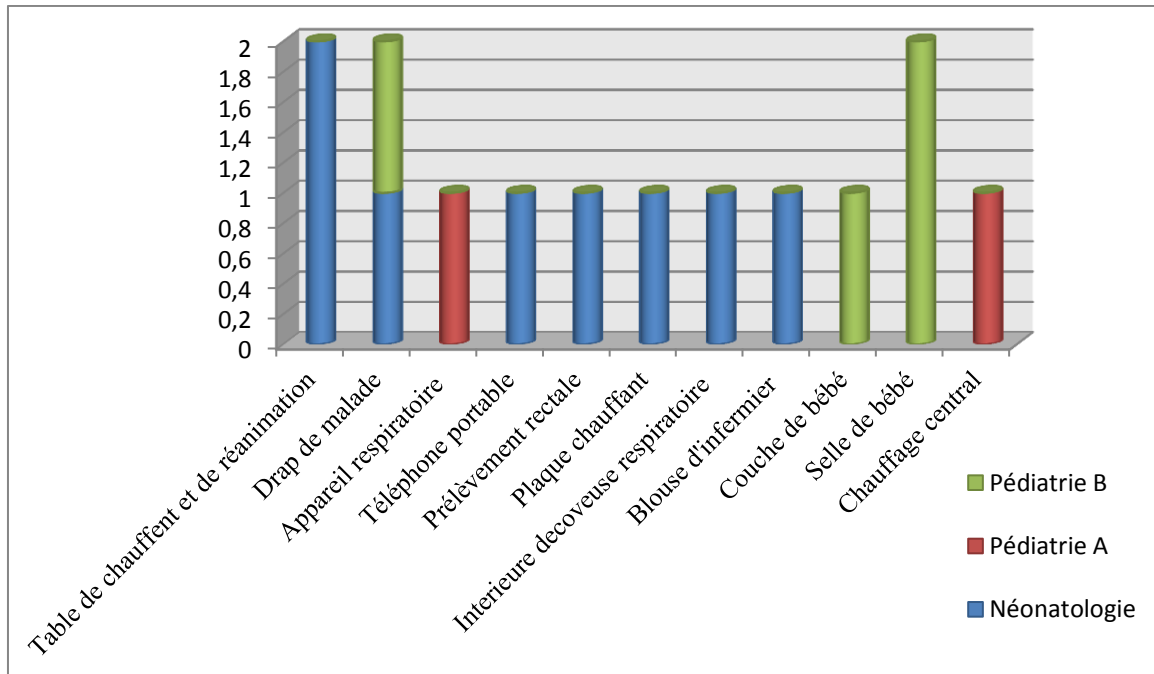


Figure 25 : la répartition de 14 souches de *Klebsiella pneumoniae* selon le site de prélèvement et le service.

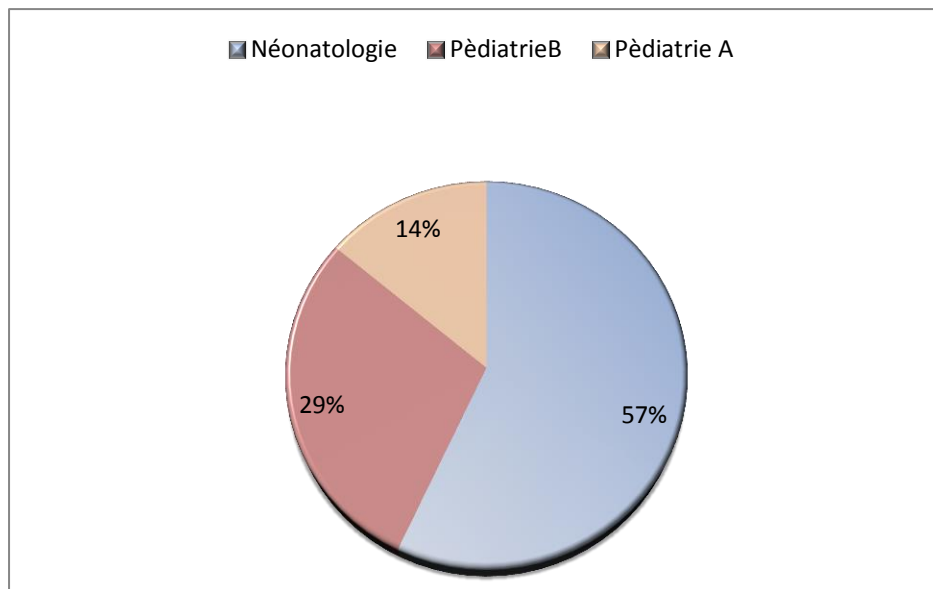
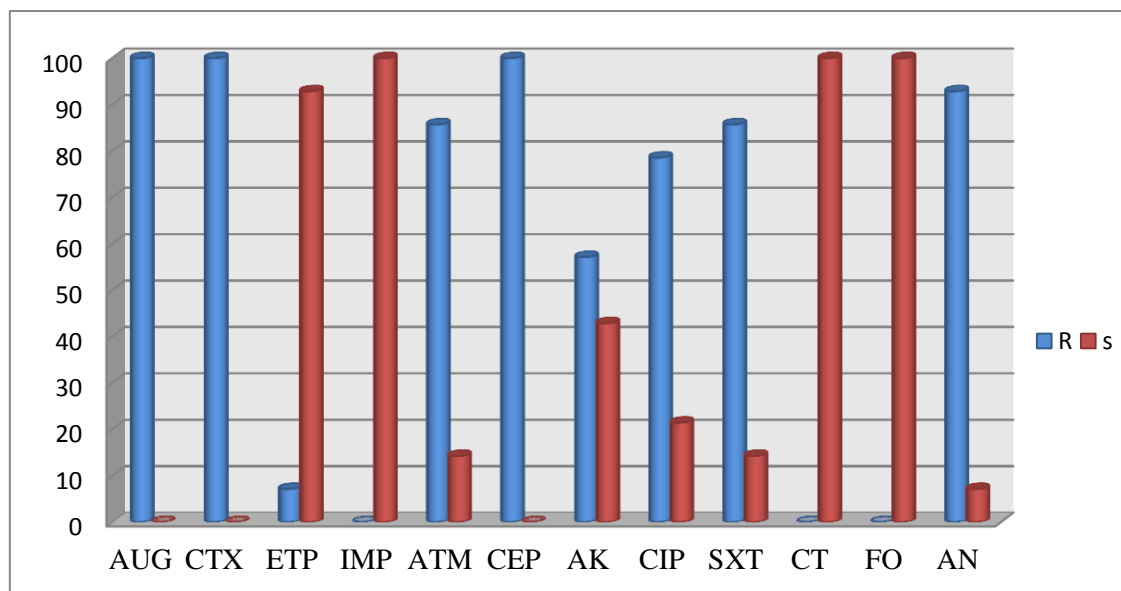


Figure 26: Distribution des *Klebsiella pneumoniae* selon les services.

3- Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae*

Les résultats de l'antibiogramme sont illustrés dans la figure 27 et la figure 28.

K. pneumoniae résiste naturellement à l'ampicilline par production de pénicilline chromosomique. En analysant les profils de résistance aux antibiotiques des 14 souches de *K. pneumoniae* étudiées, on note une résistance très élevée vis-à-vis des β -lactamines: l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique, céphalosporines de première génération et céphalosporines de 3ème génération à hauteur de 100 % par production de bêtalactamase à spectre étendu (BLSE) et une résistance de 85% aux monobactames. Concernant les carbapénèmes, on observe une résistance de 7% à l'ertapénème; alors que toutes les souches (100%) étaient sensibles à l'imipénème. En outre, les aminosides, on observe une résistance assez marquée pour la l'amikacine 57%. Par ailleurs, vis-à-vis des fluoroquinolones, un taux de résistance de 78 % a été détecté pour la ciprofloxacine ; quant aux sulfamides un taux de résistance de 86%. Aucune souche résistante à la colistine a été détecté.



R :résistant, **S** : sensible.

AUG : Amoxicilline + acide clavulanique

CTX : Céfotaxime

ETP :Ertapénème

IPM :Imipénème

ATM :Aztréonam

CEP :Céfalotine

AK : Amikacine

CIP :Ciprofloxacine

CT :Colistine

AN : Acides Nalidixique

STX :Triméthoprimé –sulfaméthoxazole

FO :Fosfomycine

Figure 27: Sensibilité aux antibiotiques des 14 souches de *K. pneumoniae* aux 12 antibiotiques testés.

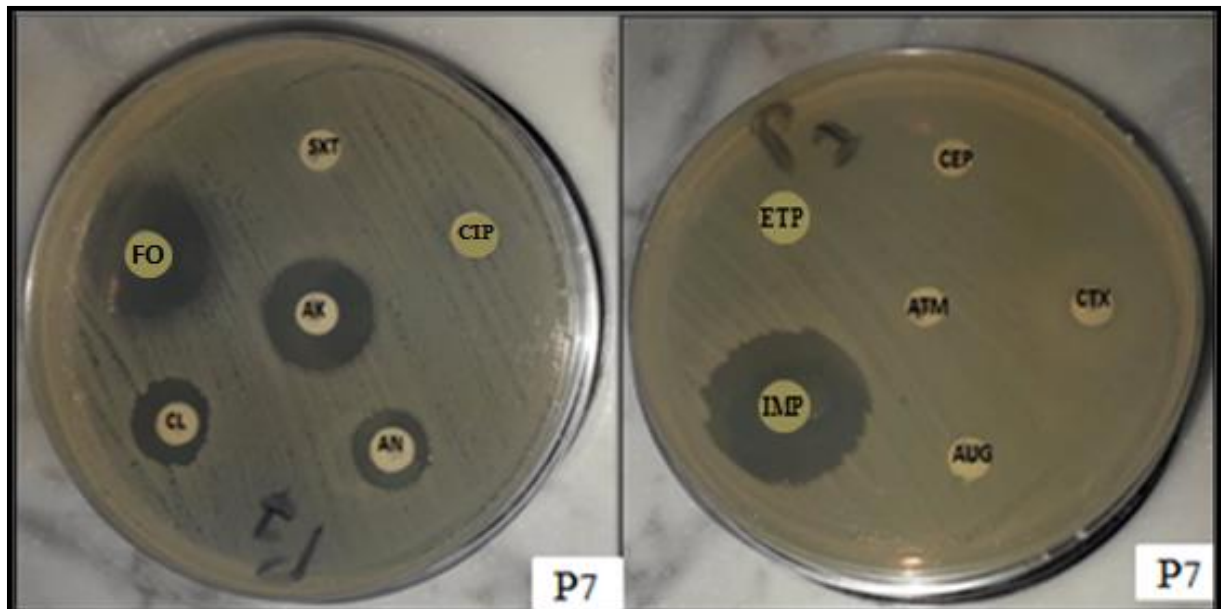


Figure 28: l'antibiogramme de la souche *Klebsiella pneumoniae* (référence de la souche P7)

(photo personnelle).



Discussion

Discussion

Klebsiella pneumoniae est une cause fréquente d'infections nosocomiales qui peuvent entraîner des infections graves avec des taux de morbidité et de mortalité élevés, qui se produisent principalement chez les nouveau-nés et les personnes immunodéprimées adultes (Ni WT et al., 2018; Weidong et al., 2020). De plus, ces bactéries ont un niveau élevé de résistance, ce qui réduit les traitements antibiotiques et prolonge le séjour des patients à l'hôpital (Carrer et Nordmann, 2011).

Cette étude a été réalisée durant un mois (23 Février à 18 Mars 2020) afin d'isoler et identifier les bacilles à Gram négatif (BGN) qui colonisent l'environnement des services de néonatalogie et de pédiatrie de l'hôpital Khaldi Abdelaziz (Tébessa), à partir de 80 échantillons prélevés dans différents endroits (masque d'oxygène, lit de malade, draps, plaque chauffante, table de réanimation et échauffement, ; paillasse, réfrigérateur, les téléphones portables du personnels soignants...) ainsi que de mettre en évidence la prévalence des souches de *Klebsiella pneumoniae* multi-résistantes aux antibiotiques.

Les analyses bactériologiques de 42 BGN isolés ont permis d'identifier plusieurs espèces bactériennes pathogènes tels que *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacea*, *Enterobacter aérogènes*, *Enterobacter sakazaki*, *Serratia ficaria*, *Serratia marcescens* et Autres BGN.

14 souches de *K. pneumoniae* soit 33% par rapport à la totalité des BGN isolées en service de pédiatrie et de néonatalogie de l'hôpital de Tébessa, ont été détecté.

En Algérie, une épidémie d'infection due aux souches de *K. pneumoniae* multi résistantes aux antibiotiques (clone ST 39) a été identifiée en 2010. Cette épidémies a duré cinq mois de février à Juin au service de néonatalogie du CHU d'Annaba (Belbel et al., 2014).

À Abidjan, dans le service de néonatalogie, la prévalence des germes habituellement incriminés dans les infections nosocomiales était 33 % avec une prédominance de bacilles gram négatif (79 %). *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* étaient les deux germes les plus fréquents (Lasme et al., 2011).

En Europe, *K. pneumoniae* était responsable de 22.7% d'infections nosocomiales en service de néonatalogie et de réanimation pédiatrique (Raymond et al., 2000).

Discussion

En Chine, *K.pneumoniae* était responsable de 19.6% d'infections nosocomiales chez l'enfant (Mai et al., 2011)

Selon le NHSN (*National Health care Safety Network*), *Klebsiella.spp* classée au quatrième rang parmi les agents pathogènes associés aux infections néonatale et pédiatrique aux états unis (Sievert et al., 2010).

Nos résultats ont montré également une prédominance des souches de *Klebsiella pneumoniae* en service néonatalogie avec la fréquence la plus élevée (40%) par rapport aux autres BGN isolés dans ce service. En effet, les nouveau-nés sont des hôtes particulièrement sensibles en raison de leur système immunitaire immature et de leur faible poids à la naissance, notamment lorsque des dispositifs invasifs (source de contamination) sont utilisés (Merzougui et al., 2017). Dans ce contexte, il faut signaler que plusieurs publications ont évoqué le rôle de *K. pneumoniae* dans plusieurs épidémies nosocomiales touchant préférentiellement la population néonatale (Perlinot, 2018).

L'étude de profil de résistance aux antibiotiques de 14 souches des de *K.pneumoniae* a montré une résistance de 100% vis-à-vis les antibiotiques suivant : l'amoxicilline associé à l'acide clavulanique (AUG) , céphalosporines de première génération et céphalosporines de 3ème génération soit un taux de production de bêtalactamase à spectre étendu (BLSE) de 100%.Ce taux est identique à celui trouvé en 2017 au niveau du même hôpital chez des souches cliniques (Salem et Abidet , 2017).Le même taux a été détecté en 2017 dans une enquête similaire dans trois hôpitaux universitaires algériens (Sétif, Béjaïa et Constantine) (Zenati et al., 2017), et supérieur à celui trouvé en 2014 à l'hôpital d'Annaba(80%)(Belbel et al., 2014) .

En Tunisie, 100% des souches *K. pneumoniae* cliniques étaient résistantes à l'AMC et 97% aux C3G en 2016 (Mathlouthi et al., 2016).

En Asie, le taux de résistance aux C3G des souches *K. pneumoniae* cliniques était de (60%) en 2016 (Parajuli et al., 2016).

Selon les données de l'EARS en 2015 et le rapport NHSN 2016, ce taux de résistance le taux de résistance aux C3G des souches *K. pneumoniae* est de 30.5% en France et de 28.3% aux Etats Unis (28.3%) (Weiner et al., 2016).

Discussion

Concernant la résistance des souches de *K. pneumoniae* étudiées aux aminosides ont exprimés un taux 57% de résistance à l'amikacine. Ce taux est supérieur à celui trouvé à Sétif, Béjaïa et Constantine en 2017(11.4 %) (**Zenati et al., 2017**) mais reste proche ce qui a été signalé à Annaba en 2014 (67.5%) (**Belbel et al., 2014**) et en Tunisie en 2016 (66%) (**Mathlouthi et al., 2016**)

Selon les données européennes de l'EARS-net 2012, ce taux de résistance trouvé à l'égard des aminosides se rapproche de celui trouvé en Grèce (62.9%), mais il reste supérieur à celui trouvé en France (23.6%), en Italie (42.2%) et en Espagne (14.1%) (**Ambe et al., 2007**).

Le taux de résistance de nos souches de *K. pneumoniae* aux fluoroquinolones ; est de 78% de résistance à la ciprofloxacine ; une fréquence proche à celle trouvé dans les trois hôpitaux algériens en 2017 (**Zenati et al., 2017**).

Actuellement, les carbapénèmes sont de plus en plus utilisés dans le monde entier car c'est souvent le médicament de dernier recours pour traiter les infections graves causées par les entérobactéries productrices de BLSE. Concernant la production de carbapénémases de nos souches, on a observé une souche résistante à l'ertapénème (7%), alors que toutes les souches (100%) étaient sensibles à l'imipénème. Ces résultats sont similaire à ceux rapportés dans l'environnement hospitaliers de trois hôpitaux algériens ou tous les isolats (100%) étaient sensibles aux carbapénèmes (**Zenati et al., 2017**) et différents à ceux rapportés en Egypte en 2017, dont la résistance à l'ertapénème était de 42,5%, et de 45% pour l'imipénème (**Nahed et al., 2016**).

La colistine constitue le traitement de dernier recours des infections causées par les entérobactéries productrices de carbapénémases, bien que leur utilisation massive en clinique ait entraîné l'émergence de la résistance à cette molécule. La totalité de nos souches de *K. pneumoniae* étaient sensibles à la colistine. Ce résultat est similaire à celui trouvé à partir de surfaces inanimées des trois hôpitaux algériens en 2017 (**Zenati et al., 2017**).

En 2018, une étude réalisée à Annaba a rapporté le premier signalement de résistance à la colistine des souches cliniques de *K. pneumoniae* en Algérie. Ces souches hébergeaient également des carbapénémases de type d'OXA-48 et des BLSE de type CTX-M-15 (**Belbel et al., 2018**). L'émergence de résistance simultanée au carbapénème et à la colistine en Algérie est inquiétante car cela peut contribuer davantage à l'échec thérapeutique.

Discussion

En somme, les infections nosocomiales représentent un risque majeur de santé publique surtout lorsqu'elles touchent les populations fragiles tel les nouveaux nés. La situation devient plus compliquée lorsque ces infections sont causées par des bactéries multi résistantes aux antibiotiques. Une politique de surveillance et des mesures d'hygiène strictes doivent être mises en place afin d'éviter la propagation de ces bactéries dans nos hôpitaux.



Partie 04

Conclusion

Conclusion

Cette étude a fournis des données épidémiologiques nouvelles sur la prévalence des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées d'environnement hospitalier de l'hôpital Khaldi Abdelaziz de Tébessa, ainsi qu'une détermination de leur niveau de résistance aux antibiotiques.

L'analyse bactériologique de divers prélèvements (80) révèle d'abord une certaine diversité pour les espèces d'entérobactéries identifiées, et la prédominance des souches de *K. pneumoniae*, un pathogène opportuniste impliqué souvent dans des épidémies nosocomiales.

Le profil de résistance aux antibiotiques des souches de *K. pneumoniae* étudiées présente un taux élevé de résistance à la majorité des principales familles d'antibiotiques en particulier aux céphalosporines de troisième génération (100%) qui peut être due à l'acquisition d'un plasmide portant une β -lactamases à spectre étendu.

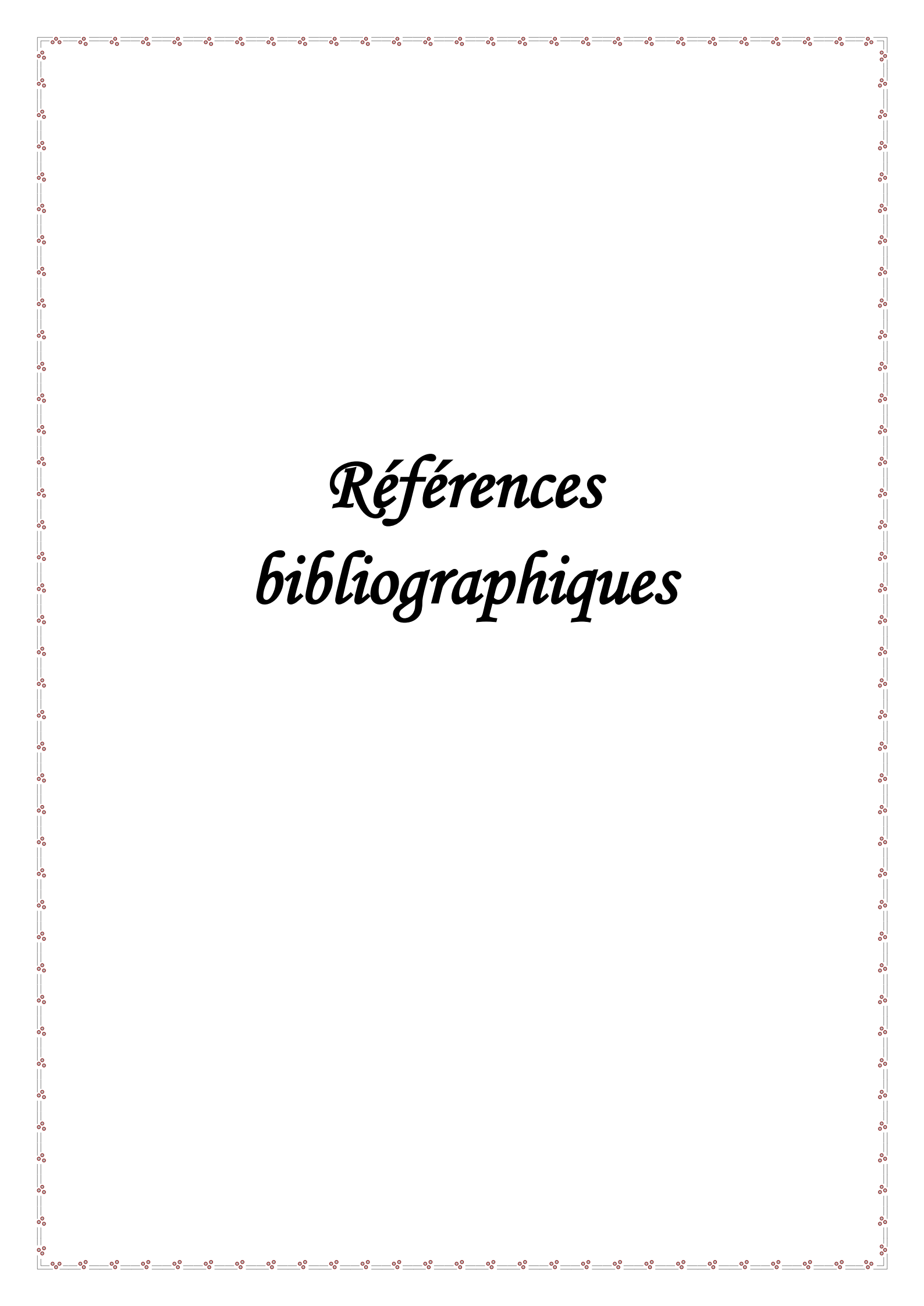
Finalement, cette étude a montré une forte prévalence d'isolats de *K. pneumoniae* multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) et attire l'attention sur le risque infectieux chez les patients admis dans l'hôpital.

En définitive, notre étude souligne la nécessité du respect des mesures d'hygiène et d'une surveillance adéquate des souches BMR dans les hôpitaux algériens, en particulier dans les unités de soins néonatales qui sont le plus souvent associées à un taux élevé de mortalité.

Perspectives

Comme perspective pour ce travail, nous croyons qu'il est important de :

- ✓ Etudier les gènes responsables de ces résistances pour mieux comprendre les mécanismes de résistances aux antibiotiques testés.
- ✓ Identifier le support génétique de ces gènes afin de voir les possibilités de transfert entre les bactéries.
- ✓ Sensibiliser le personnel hospitalier sur le risque infectieux et le respect des bonnes pratiques d'hygiène afin d'éviter la propagation des infections nosocomiales.



Références bibliographiques

A

Abbas M., Cherkaoui C., Fankhauser J., Schrenzel S., Harbarth (2012). Carbapénémases: implications cliniques et épidémiologiques pour la Suisse. *Rev Med Suisse* .8: 882-9.

Abdelaziz MO., Bonura C., Aleo A., Fasciana T., Mammina C (2013). NDM-1 and OXA-163- producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Cairo, Egypt. *J Glob Antimicrob Resist* 2013;1:213–5.

Audrey D(2019). Comprendre et contrôler la transmission des bactéries multi résistantes par l'analyse et la modélisation des réseaux d'interactions interindividuelles en milieu hospitalier. Médecine humaine et pathologie. Université Paris-Saclay, 2019. Français. NNT : 2019SACLV075. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02448298>

Ahmed-Kazi B., Tani Z., Decré D., N Genel., Boucherit-Otmani Z., Arlet G., Drissi M (2013). Molecular and epidemiological characterization of *enterobacterial* multidrug-resistant strains in Tlemcen Hospital (Algeria). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23301522>

Allaouchiche B., Geissler A(2000) .Infections nosocomiales en réanimation : le point de vue du clinicien. In Freney .Précis de bactériologie clinique, Édition Eska, P :450-458.

Ambe J., P I., Gasi S., and Mava Y(2007). Review of neonatal infections in University of Maiduguri Teaching Hospital: comm on bacterial pathogens in Niger. *J.Clin.Pract.* 10:290-293.

Arefian H., Vogel M., Kwetkat A., et al(2016) .Economic Evaluation of Interventions for Prevention of Hospital Acquired Infections: A Systematic Review. 10 :1371. 5-11

Azimi L., Erajiyan G., Talebi M., Owlia P., Bina M., Shojaie A., et al(2015). Phenotypic and molecular characterization of plasmid mediated AmpC among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* isolated from different hospitals in Tehran. *J Clin Diagn Res*;9:DC01–3.

B

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

Baron S., Hadjadj L., Rolain JM., Olaitan AO(2016). Molecular mechanisms of polymyxin resistance: knowns and unknowns. *Int J Antimicrob Agents.* 48(6), 583-591.

Beauclerk A., Cundliffe E(1987). Sites of action of two ribosomal RNA methylases responsible for resistance to aminoglycosides. *J.Mol.Biol.* **193**:661-671.

Belbel Z (2014). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba : Etude bactériologique et moléculaire. Thèse doctorat: microbiologie appliquée. Université Badji Mokhtar. Annaba. 162.

Belbel Z., Chettibi H., Dekhil M., Ladjama A., Nedjai S., Rolain JM(2014). Outbreak of an armA methyltransferase producing ST39 *Klebsiella pneumoniae* clone in a pediatric Algerian Hospital. Multi Drug resistance 20:310-5.

Belbel Z (2017). Etude Bactériologique et Moléculaire de *Klebsiella pneumoniae* : Support génétique de la résistance aux antibiotiques des souches isolées en Algérie. ISBN :978-3639653304.

Belbel Z., Lalaoui R., Bakour S., Nedjai S., Djahmi S., Rolain JM (2018) . First report of colistin resistance in an OXA-48-and a CTX-M-15 producing *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate in Algeria due to PmrB protein modification and mgrB inactivation. Journal of Global Antimicrobial Resistance. vol(14) :158-160. 10.1016/j.jgar.06.014.

Bergogne-Bérézin E(1995). Les infections nosocomiales : nouveaux agents, incidence, prévention. La Presse Médicale, 24 (2), 89-97.

Bio Mérieux SA (2010).

Bush K., Jacoby G., and Medeiros A(1995). A Functional Classification Scheme for Beta-lactamases and Its Correlation with Molecular Structure, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39, no. 6: 1211–1233

Boukadida J., Salem N., Hannachi N., Monastiri K., Snoussi N (2002). Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu. Arch Pédiatr 2002 ; 9 :463-8.

Botelho-Nevers E., Gouriet F., Lepidi H., Couvret A., Amphoux B., Dessi P., Raoult D. (2007). Chronic nasal infection caused by *Klebsiella rhinoscleromatis* or *Klebsiella ozaenae*: two forgotten infectious diseases. International Journal of Infectious Diseases (2007) 11, 423—429.

Boyce JM., Potter-Bynoe G., Chenevert C., King T(1997). Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications. Infect Control Hosp Epidemiol; 18: 622-9

Brisse S., Fevre C., Passet V., Issenhuth-Jeanjean S., Tournebise R., Diancourt L., et Grimont P (2009). Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. PLoS One. 4:e4982.

C

Carrer A., Nordmann P(2011). [CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae*: a change in the epidemiology of ESBL]. Pathol.Biol. (Paris) 59:e133-e135.

Courvalin P., Leclercq R., Bingen E (2006).Antibiogramme.2:142-162, 227-246, 263-277.

Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (1997).

Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (2019).
https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/CASFM2019_V1.0.pdf

Cheng Y H., Lin T L., Pan Y J., Wang Y P., Lin Y T., et Wang, J. T (2015). Colistin resistance mechanisms in *Klebsiella pneumoniae* strains from Taiwan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 59, 2909–2913. doi: 10.1128/AAC.04763-14

Cruz F., DaviesJ(2000). Horizontal gene transfer and the origin of species: lessons from bacteria. *Trends Microbiol.* 8:128-133.

D

Dancer S J (2004).How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals. *J Hosp Infect* 2004;56:10–5.

Davison J (1999). Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*42:73-91. doi:10.1006/plas.1999.1421

Drlica K., Hiasa H ., Kerns RM., Malik A., MustaeV et Zhao X (2009). Quinolones: action and resistance updated. *Curr.Top.Med.Chem.* 9:981-998.

E

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

Epelboin L., Macey J(2012). Maladies infectieuses et transmissibles. Elsevier Maisson.2^e Edition. PP189.

F

Freney J., R. F., Hansen W., and Bollet TC (2000). Précis de bactériologie clinique.1001-1014.649-665.

Follador R., Heinz E., Wyres K. L., Ellington M. J., Kowarik M., Holt K. E., et al (2016). The diversity of *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharides. *Microbial Genomics* 2:e000073. doi: 10.1099/mgen.0.000073

G

Gazenge I J., Orecchioni A(2013).le préparateur en pharmacie.2^eEdition.P P344.

Gerard J.,berdell R., Christine L(2012). Introduction a la microbiologie. 2^{ém} Edition, renouveau pédagogique, Québec, Canada. Pp: 843-852.

George M Garrity., Julia A Bell et Timothy G Lilburn(2004).Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition. DOI :10.1007/bergeys online 200405.

Géorge A., Jacoby .,Luisa Silvia .,Munoz-Price (2005).“The New β -Lactamases, New”. new england journal of medicine. 352(4), 380-430.

Géorge L (2004). Pharmacologie fondamentale et clinique. 9^{ème} édition: Piccin:Paris. Pp: 733-735

Gillings MR(2013) .Evolutionary consequences of antibiotic use for the resistome, mobilome and microbial pangenome.22 :4-4.

H

Hajjar H., Hartemann P., Luu-Duc D., Nicolle MC., Perraud M., Bertrou A., CetreJC.,Chapuis C., Guignement S et Fabry J(2000) Vigilance environnementale : Contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier. *HYGIENES* 2000; VIII(3) : 139-179

Hacker J., Kaper J B (2000). Pathogenicity islands and the evolution of microbes. Annu.Rev. Microbiol. **54**:641-679.

Hancock R E., Farmer SW., Li Z S., Poole K (1991). Interaction of aminoglycosides with the outer membranes and purified lipopolysaccharide and OmpF porin of *Escherichia coli*. Antimicrob.Agents Chemother. **35**:1309-1314.

Hawkey P.,M., Livermore D.,M (2012).Carbapenem antibiotics for serious infections. *BJM*; 344: e3236

HennequinC., Forestier C (2007).Influence of capsule and extended-spectrum beta-lactamases encoding plasmids upon *Klebsiella pneumoniae* adhesion. Research in Microbiology 158(2007) 339-347.

Holden VI., Bachman M A(2015). Diverging roles of bacterial siderophores during infection. *Metallomics* 7, 986–995. doi: 10.1039/C4MT00333

Holmes AH., Moore LSP., Sundsfjord A., Steinbakk M., Regmi S., Karkey A., et al(2016) Under standing the mechanisms and drivers of anti microbial resistance. Lancet. 2016;387: 176–187. doi:10.1016/S0140-6736(15)00473-0

J

Jacoby G A., Chow N ., Waites K B (2003). Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**:559-562.

Jacoby GA ., Walsh K E., Mills D M., Walker V J., Robicsek H, Hooper DC (2006). qnrB, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**:1178-1182

Jain R., Rivera MC., Moore JE, Lake J A (2002). Horizontal gene transfer in microbial genome evolution. *Theor. Popul. Biol.* **61**:489-495.

Jufeng X., Jianjun G., Wei T(2016). Nosocomial infection and its molecular mechanisms of antibiotic resistance. 10:14-21.

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

K

Kakupa DK., Muenze PK., Byl B., Wilmet MD (2016). Study of the prevalence of nosocomial infections and associated factors in the two university hospitals of Lubumbashi, Democratic Republic of Congo. *27* :24-275

Kalanuria A A., Zai W., Mirski M (2014). Ventilator-associated pneumonia in the ICU. *Crit. Care* 18:208. doi: 10.1186/cc13775

Karen B., Bradford AP (2016). B-lactams and β -lactamase inhibitors: an overview. *Cold Spring harbor perspective med.* Vol(6). 1-21 disponible sur: <https://perspectivesinmedicine.cshlp.org>

L

Lachassinne E., Letamendia-Richard E., Gaudelus J(2004). Épidémiologie des infections nosocomiales en néonatalogie Epidemiology of nosocomial infections in neonates .*Archives de pédiatrie* .Vol(11), 229–233

Lasme-Guillao E., Famon-Tanoh-Dick V., Bonone G., Akaffour A., Kabas H., Faye-Kette (2011). Infections à *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* en néonatalogie à Abidjan Neonatal infections due to *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* in a tertiary hospital in Abidjan. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, vol(24), 118-124 <https://doi.org/10.1016/j.jpp.2011.03.002>

Laurent P., Aurélie J., Patrice N (2017). Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clinical Microbiology Reviews.* April 2017 Volume 30 Issue 2. <https://cmr.asm.org/content/cmr/30/2/557.full.pdf>

Leshner GY., Froelich EJ., Gruett MD., Bailey JH., Brundage R P (1962). 1,8-naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. *J.Med.Pharm.Chem.*91:1063-1065.

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

Lewin C S., Howard B M and Smith J T (1991). Protein- and RNA-synthesis independent bactericidal activity of ciprofloxacin that involves the A subunit of DNA gyrase. *J.Med.Microbiol.* **34**:19-22.

Ling ML., Apisarnthanarak A., Madriaga G(2015). The burden of healthcare-associated infections in southeast asia :a systematic literature review and meta analysis .pub med .11 :1690-9.

M

Magill SS., Edwards J R., Bamberg W., Beldavs ZG., Dumyati G., Kainer M A., et al. (2014). Multistate point-prevalence survey of health care–associated infections. *N. Engl. J. Med.* 370, 1198–1208. doi: 10.1056/NEJMoa1306801

Mai J Y., Dong L Z., Lin L., Chen SQ (2011). [Investigation and analysis of nosocomial infection in neonates]. *Zhonghua Er.Ke.Za Zhi.* **49**:915-920.

Maugat S, Berger-Carbonne A (2018). Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : une infection évitée, c'est un antibiotique préservé ! 2018. Available:[http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies infectieuses/2018/Consommation-d-antibiotiques-et-resistance-aux-antibiotiques-en-France-une-infection- évitée-c-est-un-antibiotique-préserve](http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies_infectieuses/2018/Consommation-d-antibiotiques-et-resistance-aux-antibiotiques-en-France-une-infection-évitée-c-est-un-antibiotique-préserve).

Martin RM., Bachman MA(2018). Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;8:4. Published 2018 Jan 22. doi:10.3389/fcimb.2018.00004

Mathlouthi N., Al-Bayssari C., El Salabi A., et al (2016). Carbapenemases and extended-spectrum β -lactamases producing *Enterobacteriaceae* isolated from Tunisian and Libyan hospitals; 10:718-727.

Merzougui L., Ben Helel K., Hanachi H., Metjaouel H., Brini H., Barkallah M., Ben Rejeb M., Said-Latiri H(2017) . Facteurs de risque de l'infection nosocomiale Bactérienne au niveau d'un centre de néonatalogie du Centre Tunisien. « Étude cas-témoin » : à propos de 184 cas .*Journal de pédiatrie et de puériculture* .31(2018), 18-26.

Menidjel N(2017) Les infections nosocomiales à bactéries multi- résistantes . Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Biologie moléculaire des procaryotes. Guelma .Université 8 Mai 1945 Guelma. 100P

Murphy C. N., Mortensen M. S., Krogfelt K. A., and Clegg S(2013). Role of *Klebsiella pneumoniae* type 1 and type 3 fimbriae in colonizing silicone tubes implanted into the bladders of mice as a model of catheter-associated urinary tract infections. *Infect. Immun.* 81, 3009–3017. doi: 10.1128/IAI.00348-

N

Nahed A E., Zahrana WA., Makleda AF, El-Sebaeyb HM., ElHendawya GR., Melakea NA., Elham A, El-Khayata AH(2016). Multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* nosocomial uropathogens at Menoufia University Hospitals: phenotypic characterization and detection of resistance genes using real-time PCR. *Menoufia Medical Journal* 2016 Number 4, 01 October. Volume 29, 29:855–861.

NajibyKassis-Chikhani(2012).*Klebsielle pneumoniae* pathogène nosocomial, résistance et virulence. Microbiologie et Parasitologie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI., Français. ffNNT : 2012PA066093ff. fftel-00831671f

Nambiar S., Singh N(2002) Change in epidemiology of health care-associated infections in a neonatal intensive care unit *Pediatr Infect Dis J*, 21, p. 839-842
Epelboin 2012

Nedjai S., Barguigua A., Djahmi N., Jamali L., Zerouali K., Dekhil M., Timinouni M. (2011). Prevalence and characterization of extended spectrum -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Médecine et maladies infectieuses* 42 (2012) 20–29.

Ni WT., Li GB., Zhao J., Cui JC., Wang R., Gao ZC., et al (2018). In vitro activity of minocycline combined with aminoglycosides against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K-pneumoniae*. *J Antibiot.* 2018;71:506–13.

Nordmann P(2010). Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles a gram négatif. médecine/sciences [en ligne]. Vol(26).950-959. Disponible sur: <https://www.médecine.sciences.org>. consulté le 16-02-2019.

O

O’Neill J (2014) .Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations :December 2014. Review on Antimicrobial Resistance

P

Papo N., Shai Y (2005). A molecular mechanism for lipopolysaccharide protection of Gram-negative bacteria from antimicrobial peptides. *J. Biol. Chem.* 280, 10378–10387. doi: 10.1074/jbc.M412865200

Papp-Wallace K., Endimiani M A., Taracila MA., Bonomo RA(2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*; 55 : 4943- 4960.

Parajuli NP., Maharjan P., Joshi G., Khanal PR(2016).Emerging Perils of Extended Spectrum β -Lactamase Producing *Enterobacteriaceae* Clinical isolates in a Teaching Hospital of Nepal.2016:1782835

Paterson D L., Bonomo RA (2005).Extended-spectrum beta-lactamases: aclinical update. Clin.Microbiol.Rev. 18:657-686.

Patel G., Bonomo R A(2013). “Stormy waters ahead”: global emergence of carbapenemases. *Front. Microbiol*; 4: 1-17.

Perlinot H(2018). Epidémiologie et transmission mère-enfant des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (E-BLSE) à Madagascar. Médecine humaine et pathologie. Université Paris-Saclay, 2018. Français. NNT : 2018SACLV074 .<https://tel.archives-ouvertes.fr>.

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

R

Ramirez M., S., and M. E. Tolmasky (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. Drug Resist. Updat. **13**:151-171.

Raymond J., Aujard Y(2000). Nosocomial infections in pediatric patients: aEuropean, multicenter prospective study. European Study Group. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 21:260-263

Robicsek A ., Strahilevitz J., Jacoby G A., Macielag M., Abbanat D., Park C H., Bush K ., Hooper D C(2006). Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of acommon aminoglycoside acetyltransferase. Nat.Med. **12**:83-88.

Rodrigues C., Machado E., Ramos H., Peixe L., Novais A(2014) .Expansion of ESBL producing *Klebsiella pneumoniae* in hospitalized patients: a successful story of international clones(ST15, ST147, ST336) and epidemic plasmids (IncR, IncFIIK). Int J Med Microbiol;304:1100–8.

Rouillon S., Ourdanabia S., Jamart S., Hernandez C et Meunier O (2006). Étude de l’efficacité d’un produit détergent désinfectant pour sols et surfaces sur les souches bactériennes isolées à partir de l’environnement hospitalier. Pathologie Biologie 2006; 54 : 325-330.

Rudy L (2017) .Résistance à la colistine chez les bactéries à gram-négatif .2017-10-30
15:10:53 .

S

Saouide el ayne N., Echchelha A., Chaouch A., Auajjar N., Hamama S., Soulaymani A (2014). rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales: surveillance de la flore des surfaces à l'hôpital el idrissi de kenitra – maroc. *European Scientific Journal* ,vol(10), No.9 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.

Schroll C., Barken K. B., Krogfelt K. A., Struve C (2010). Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation. *BMC Microbiol.* 10:179. doi: 10.1186/1471-2180-10-179

Selina F., Talha K. A., Islam A., Hasan Z., Hyder M., Selvapandian S (2014). Organisms associated with ventilator associated pneumonia (VAP) in intensive care units (ICU). *J. BSA* 22, 72–77. doi: 10.3329/jbsa.v22i2.18146

Salem W ., Abid M (2017). Profil de résistance aux antibiotiques des *Enterobacteriaceae* isolées des infections nosocomiales. Mémoire de Master: Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement. Tébessa : Université de Tébessa ,70.

Sievert D M P., Ricks J R., Edwards A., Schneider J., Patel A., Srinivasan A., Kallen B., Limbago., Fridkin S (2010). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 34:1-14.

Sirot D (1995) . Extended-spectrum plasmid-mediated beta-lactamases. *J. Antimicrob. Chemother.* 36 Sup pl A:19-34.

Soussy CJ., et al (2015). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. http://nosobase.chulyon.fr/recommandations/sfm/2015_antibiotiques_casfm.pdf

Spratt BG (1975). Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K12. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 72:2999-3003.

T

Trifi A, Abdellatif S, Oueslati M, Zribi M, Daly F, Nasri R, Mannai R, Fandri C, Ben Lakhel S (2017). [Nosocomial infections: current situation in a resuscitation-unit](#) . *Tunis Med:* 95(3), 179-184. PMID: 29446811 Clinical Trial.

Tony H., Paul S (1997) . Atlas de poche de microbiologie .1^{er} édition. Paris : Flammarion, 340. ISBN : 2-257-10125-

W

Wachino J., Arakawa Y (2012). Exogenously acquired 16S rRNA methyl transferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: an update. *Drug Resist. Updat.* **15**:133-148

Weidong Q., Wenjing W., Jianing Zh., Ting W., Miao L., Min Y., Zhaohuan., Xiang L., Yongdong L (2020). Antimicrobial and antibiofilm activities of ursolic acid against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* *The Journal of Antibiotics* (2020) **73**:382–391
<https://doi.org/10.1038/s41429-020-0285-6>

Weiner LM., Webb AK., Limbago B., Dudeck MA., Patel J., Kallen AJ., Edward JR., Sievert DM (2016). Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. *Clin Infect Dis* **37** :1–14.

Y

Yala D., Merad A.S., Mohamedi D et OuarKorich M.N (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb* n°91.

Yala D., Merad A.S., Mohamedi D et OuarKorich M.N (2012). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*. Vol(91).6-12. Disponible sur:<https://fr.scribd.com/doc/78406877/classification-etmode-d'action-des-antibiotiques>.

Z

Zenati K, Touati A, Bakour S, Sahli F, Rolain JM (2016). Characterization of NDM-1 and OXA-23 producing *Acinetobacter baumannii* isolates from inanimate surfaces in hospital environment in Algeria. *J Hosp Infect* **2016**;92:19–26

Zenati K., Sahli F., Garcia V., Bakour S., Belhadi D., Rolain JM et Touati A (2017). Occurrence and clonal diversity of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* recovered from inanimate surfaces in Algerian hospital environment: First report of armA, qnrB and aac(60)-Ib-crgenes. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, **10** (2017) 148–153

Zhanel GG., Wiebe R., Dilay L., Thomson K., Rubinstein E., Hoban DJ., Noreddin AM., Karlowsky JA (2007). Comparative review of the carbapenems. *Drugs* **67**(7):1027-1052.



Annexes

Annexes**Annexe 1 : Composition chimique du milieux de culture utilisés****1- Bouillon Nutritif (BN)****• Composition**

- Extrait d'œuf	1.0g
- Extrait de levure	2.0g
- Peptone	5.0g
- Chlorure de sodium	5.0 g

PH 6,8±0,2 à 25°

• Préparation

25g par litre. Autoclaver 20 minutes à 120°C.

2- Gélose de Mac Conkey**▪ Formule en 50g →1L d'eau distillée :**

- Peptone de caséine.....	17
- Peptone de viande.....	3
- Sels biliaires.....	1,5
- Cristal violet.....	0,001
- Lactose.....	10
- Rouge neutre.....	0,03
- NaCl.....	5
- Agar.....	13,5
- pH ± 7,4	

• Préparation

Après dissolution tous les ingrédients dans l'eau distillée ajuster le PH a 7,4 et stériliser a 121C° pendant 20 mn.

3- Gélose Müller-Hinton**• Composition**

- Hydrolysate acide de caséine	17,5g
- Infusion de viande	2g
- Amidon soluble	1,5g
- Agar agar bacteriologique	17g

• Préparation

-Mettre en suspension 38g de milieu déshydrate dans 1 litre d'eau distillée.

-Stériliser a l'autoclave à 115C° pendant 15 minutes.

-PH du milieu prêt a-l'emploi a 25C° :7,3+-0,2.

Annexe 2 :Tableau des Caractères de la Galerie API20E

Caractère	Substrat	Enzyme	Produit(s) formé(s)	indicateur	Réactif(s) ajouté(s)	Lecture +	Lecture -
ONPG	ONPG	ONPG-hydrolase ----- β-galactosidase	ONP (jaune) galactose	/	/	Jaune	Incolore (1)
ADH	Arginine	Arginine Dihydrolase (ADH)	Ornithine NH ₃ CO ₂	RP	/	Rouge - orange	Jaune (2)
LDC	Lysine	Lysine Décarboxylase (LDC)	Cadavérine CO ₂	RP	/	Rouge - orange	Jaune (2)
ODC	Ornithine	Ornithine Décarboxylase (ODC)	Putrécine CO ₂	RP	/	Rouge - orange	Jaune (2)
CIT	Citrate	/	CO ₂ H ₂ O	BBT	/	Bleu	Vert (3)
H ₂ S	S ₂ O ₃ ²⁻	(Thiosulfate Réductase)	S ²⁻ (H ₂ S)	Fer III	/	Noir	Incolore (jaune pâle)
URE	Urée	Uréase	NH ₄ ⁺ (HCO ₃ ⁻)	RP	/	Rouge	Jaune
TDA	Tryptophane	Tryptophane Désaminase (TDA)	Acide indole pyruvique NH ₃	/	TDA / immédiat (Fer III)	Marron Brun	Jaune
IND	Tryptophane	Tryptophanase	Indole A. pyruvique NH ₃	/	James / immédiat ou Kovacs / 2min	Rouge	Incolore Jaune
VP	Pyruvate	/	Acétoïne	/	VP1 (KOH) + VP2 (α-naphtol) / 10min	Rouge	Incolore (5)
GEL	Gélatine	Gélatinase	Acides Aminés	/	/	Noir	Incolore (+particules intactes)
GLU	Glucose	/	Acides	BBT	/	Jaune	Bleu ou bleu-vert (4)
SUCRES (AUXAN.)	Man, Ino, Sor, Rha, Sac, Mel, Amy, Ara	/	Acides	BBT	/	Jaune	Bleu ou bleu vert (4)
NO ₂ /N ₂	NO ₃ ⁻ (cupule GLU)	Nitrate Réductase	NO ₂ ⁻ ----- N ₂	/	Nit1 + Nit2 / 2min ----- (Zinc)	Rouge ----- Incolore	Incolore ----- Rouge

Annexe 3 : logiciel d' identifications bactériennes

The screenshot shows the API 20E software interface. The main window displays a table with columns for 'Taxon le plus probable', 'probabilité', and 'test de l'identification en fonction de l'indice de typicité'. The first row shows 'Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae' with a probability of 0,980 and a test result of 'Excellente Id'. Below this, a list of biochemical tests (ONPG, ADH, LDC, ODC, CIT, H2S, URE, TDA, IND, VP, GEL, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA, OX) is shown with their respective results (+ or -).

Callouts provide the following explanations:

- Taxon le plus probable:** Taxon le plus probable
- probabilité:** test de l'identification en fonction de l'indice de typicité.
- Excellente Id:** Rappel de la valeur de l'indice de typicité
- 0,980:** rappel de la probabilité du taxon
- 1,00:** Rappel de la valeur de l'indice de typicité
- Zone d'introduction des données:** Zone d'introduction des données
- Classement en fonction de la probabilité calculée. (1 = le plus):** Classement en fonction de la probabilité calculée. (1 = le plus)
- Calcul de la probabilité du profil le plus typique pour la taxon.** Calcul de la probabilité du profil le plus typique pour la taxon.
- Affichage du nom du taxon le plus probable.** Affichage du nom du taxon le plus probable.
- Calcul de l'indice de typicité:** Calcul de l'indice de typicité
- Calcul du nombre d'incompatibilités (cas 0 % et caractère + ou 100):** Calcul du nombre d'incompatibilités (cas 0 % et caractère + ou 100)
- La probabilité est normalisée pour que la somme des probabilités soit de 1.** La probabilité est normalisée pour que la somme des probabilités soit de 1.
- Calcul de la "probabilité brute" (les 0 et 100% sont remplacés, si nécessaire, par):** Calcul de la "probabilité brute" (les 0 et 100% sont remplacés, si nécessaire, par)

The bottom of the screen shows a navigation bar with various software versions and modules, including 'Introduction', 'API 20 E 4.0', 'API 10 S 3.0', 'API 10E', 'API20 NE 6', 'API20 Strepto 6.0', 'ID 32 Staph 2.0', 'API Staph 4.0', 'Istera', 'Rapid20E', 'API NH 2.0', and 'API Comme 2.0'.

