

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE



Mémoire de fin d'étude

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master en
Sciences de la nature et de la vie

Option: Microbiologie

Réalisé au laboratoire central, service microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Blida
par

BENDIBA Madina et TEHAR Sara

Master domicilié au laboratoire de biotechnologie, environnement et santé, Blida

Thème

Etude de l'antibiorésistance chez
Klebsiella pneumoniae

Soutenu le 11/07/2019.

DEVANT LE JURY COMPOSE DE:

Mr GUADIOURA A.	M.C.B	à l'USDB 1	Président.
Dr AISSANI-EL FERTAS R.	M.C.B	à l'USDB 1	Examineur.
Dr MEKLAT A.	M.C.A	à l'USDB 1	Promotrice.
Dr BOUBETRA D.	M.C.B	à l'USTHB	Co-promotrice.

Année universitaire 2018- 2019

Remerciements

Avant tout nous remercions Dieu tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail.

Nous désirons à exprimer notre sincère reconnaissance et gratitude à notre encadreur, madame **MEKLAT**, pour avoir accepté de nous encadrer et consacré autant de temps pour nous malgré ses multiples occupations, pour son suivi régulier, sa bienveillance, ses orientations. On aimerait aussi la remercier pour l'autonomie qu'elle nous a accordée, ses précieux conseils et ses critiques qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Une pensée chaleureuse à notre co-promotrice madame **BOUBETRA**. Vous étiez une source de motivation et de courage. Je vous remercie pour votre disponibilité, pour vos remarques et critiques pertinentes et fructueuses et pour toutes nos discussions.

On voudrait également remercier les membres du jury

Monsieur **GUEDIOURA** pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider mes jury de soutenance.

Madame **AISSANI EL-FERTAS** qui ont consenti d'examiner et évaluer notre travail et qui nous font l'honneur de participer à notre soutenance.

On adresse nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et tout le personnel et plus spécialement à docteur **AZROU** du laboratoire central du CHU de Blida par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont bien voulu nous rencontrer et répondre à nos questions durant nos recherches.

Aussi, nous avons à marquer notre reconnaissance et gratitude à l'administration et à l'ensemble du corps enseignant de l'Université de SAAD DAHLAB BLIDA 1 pour leurs efforts à nous garantir la continuité et l'aboutissement de ce programme de Master.

Nous tenons bien évidemment à remercier nos familles, nos camarades et amis pour leur soutien et leurs aides si précieuses.

Enfin en voudrait exprimer nos remerciement à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent tous ici l'expression de notre gratitude et notre sincère considération.

Je dédie ce travail

♥ *A mes chers parents* ♥

Pour lesquels aucune dédicace ne saurait exprimer l'affection et l'amour, l'estime et le respect que j'éprouve pour eux. Puisse ce travail constituer une légère compassion pour tous les nobles sacrifices qu'ils se sont imposés pour assurer mon éducation et mes études.

♥ *A mes chers sœurs* ♥

Sara et Cherifa

Je vous remercie de tout ce que vous m'avez appris et donné, Pour votre optimisme, votre dynamisme, vos aides et soutiens précieux, Je vous souhaite tout le bonheur et la réussite du monde.

Aucun mot, ne serait exprimer l'amour, le respect et la reconnaissance que j'éprouve pour vous.

♥ *A mon cher binôme Sara* ♥

En souvenir des moments agréables que nous avons passé ensemble en réalisant ce travail. Merci d'être à mes cotes dans les moments les plus difficiles.

BENDIBA Madina



Je dédie ce travail

♥ *A mes chers parents* ♥

Pour lesquels aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer réellement votre juste valeur, mon profond amour, mon respect et ma vive gratitude. Votre confiance et votre encouragement m'ont toujours donné de la force pour persévérer et continuer vers l'avant. .Puisse ce travail constituer une légère compassion pour tous les nobles sacrifices qu'ils se sont imposés pour assurer mon éducation et mes études.

♥ *A mes chers frères et sœurs* ♥

Yousef, mon beau frère Mohammed Anes, Asma, Hind, Zineb et Imane

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous et qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

♥ *A mon cher binôme Madina* ♥

En souvenir des moments agréables que nous avons passé ensemble en réalisant ce travail. Un grand merci pour toi. Je vous souhaite une vie pleine de réussite, de santé et de bonheur.

A toute ma famille.

A tous mes amis Khadidja, Noussieba, Sara, Kenza, Imene, Ihsane.

TEHAR Sara



Résumé

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste découvert depuis plus d'une centaine d'années. Aujourd'hui elle est parmi les germes responsables des infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter, des épidémies sont causées par des souches résistantes à une large variété d'antibiotiques.

La présente étude concerne d'une part, l'isolement de plusieurs souches de *Klebsiella pneumoniae* à partir de divers prélèvements analysés au Laboratoire Central de Microbiologie du Centre Hospitalo-universitaire de Blida et d'autre part la détermination du profil de résistance de ces souches.

Soixante dix sept souches de *K. pneumoniae* ont été isolées et identifiées en utilisant les techniques conventionnelles de bactériologie (morphologie, coloration de Gram et tests d'oxydase et de catalase) et les caractères biochimiques à l'aide de galeries API 20 E ou la galerie classique. Une prédominance de *K. pneumoniae* dans les prélèvements urinaires (24,67 %) et dans le service de réanimation (36,36 %) a été observée.

La sensibilité aux antibiotiques et la détection des phénotypes de résistance ont été réalisées par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les souches de *K. pneumoniae* étaient résistantes, avec des niveaux de résistances élevés vis-à-vis de certaines molécules telles que l'amoxicilline + acide clavulanique, la Céfazoline, le Céfotaxime, le Furane, la Cotrimoxazole, la Gentamycine, l'acide nalidixique et la Ciprofloxacine.

Par ailleurs, nous avons mis en évidence la production de β -lactamases à spectre étendu chez 31 souches de *K. pneumoniae*. De plus 14 souches multirésistantes produisent des métallo-carbapénèmases. Une seule souche elle est productrice à la fois de β -lactamases à spectre étendu et des métallo-carbapénèmases.

En conclusion *K. pneumoniae* est devenu un pathogène important des sujets immunodéprimés et présents des problèmes potentiels en ce qui concerne au traitement et à l'élimination pour l'hôte.

Mots clés : *Klebsiella pneumoniae*, infection nosocomiale, antibiotiques, résistance, BLSE, métallo-carbapénèmases.

Abstract

Klebsiella pneumoniae is an opportunistic pathogen discovered for over a hundred years. Today it's among the germs responsible for severe and difficult to treat nosocomial infections, epidemics are caused by strains resistant to a wide variety of antibiotics.

The present study concerns, on the one hand, the isolation several *Klebsiella pneumoniae* strains from the diverse samples analyzed at the Central Microbiology Laboratory of the Blida University Hospital Center and on the other hand the determination of the antibiotic resistance profile of these strains.

Seventy seven *K. pneumoniae* strains were isolated and identified using the conventional technics of bacteriology (Morphology, Gram stain, catalase test, and oxidase test) and biochemical characteristics by API 20 E or classical gallery. A predominant number of *K. pneumoniae* strains were isolated from the urine samples (24,67%) and from the intensive care unit (36,36%).

Antibiotic sensitivity and detection of resistance phenotypes were performed by the diffusion method on agar medium. *K. pneumoniae* strains were resistant, with high resistance levels regarding some molecules such as amoxicillin + clavulanic acid, cefazolin, cefotaxime, furan, cotrimoxazole, gentamycin, nalidixic acid and ciprofloxacin.

Otherwise, we have demonstrated the production of extended spectrum β -lactams in 31 *K. pneumoniae* strains. In addition, 14 multiresistant strains produce metallo-carbapenemases. A single strain it's producer of extended spectrum β -lactams and metallo-carbapenemases.

In conclusion *K. pneumoniae* has become an important pathogen of immunocompromised individuals and presents significant potential problems with respect to treatment and elimination for the host.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, nosocomial infection, antibiotics, resistance, ESBL, metallo-carbapenemases.

الملخص

الكلبسييلة الرئوية هي بكتيريا ممرضة انتهازية ، و هي اليوم تعتبر الجرثومة الأولى المسؤولة عن عدوى المستشفيات المستعصية وصعبة العلاج، تنشأ الأوبئة بسبب سلالات مقاومة لمجموعة واسعة من المضادات الحيوية. تتناول الدراسة الحالية من جهة عزل العديد من سلالات **الكلبسييلة الرئوية** من عينات مختلفة تم تحليلها في المختبر المركزي لعلم الأحياء المجهرية في المستشفى الجامعي بالبليدة ومن ناحية أخرى تحديد ملامح مقاومة هذه السلالات . سبعة وسبعون من سلالات **الكلبسييلة الرئوية** تم عزلها وتحديد استخدامها باستخدام التقنيات التقليدية لعلم البكتيريا (مورفولوجيا، أو جرام، أكسيدازو الكاتلاز والشخصيات الكيميائية الحيوية باستخدام معارض تلوين API 20 E أو معارض كلاسيكي و قد لوحظت هيمنة **الكلبسييلة الرئوية** في العينات البولية (24,67%) و في قسم الإنعاش (36,36%).

تم تنفيذ الحساسية للمضادات الحيوية والكشف عن أنماط المظهر الظاهري للمقاومة بواسطة طريقة الانتشار على أجار، كانت سلالات **كلبسييلة الرئوية** مقاومة ، مع ارتفاع مستويات المقاومة نحو جزيئات معينة مثل الأموكسيلين+ حمض الكلافلانيك، سيفازولين، سيفوتاكسيم، فوران، كوتريموكسازول، جينتاميسين، حمض ناليديكسيك وسيبروفلوكساسين. بالإضافة إلى ذلك، سلطنا الضوء على إنتاج البيتا لكتماز ذو النطاق الواسع عند 31 سلالة من **الكلبسييلة الرئوية** بالإضافة إلى 14 سلالة متعددة المقاومة أنتجت مركبات كاربابينيميز المعدنية. و سلالة واحدة أنتجت في نفس الوقت البيتا لكتماز ذو النطاق الواسع و مركبات كاربابينيميز المعدنية.

في الختام أصبحت **الكلبسييلة الرئوية** من مسببات الامراض المهمة خاصة لدى الافراد الذين يعانون من نقص المناعة ومعرضون لمشاكل كبيرة محتملة فيما يتعلق بالعلاج والقضاء على المضيف.

الكلمات الرئيسية :

الكلبسييلة الرئوية، عدوى المستشفيات المستعصية، المضادات الحيوية، المقاومة، البيتا لكتماز ذو النطاق الواسع، مركبات كاربابينيميز المعدنية.

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
1	Résumé des facteurs de virulence impliqués dans la pathogenèse de <i>K. pneumoniae</i>	7
2	Les types de prélèvements	20
3	Antibiotiques testés contre les souches de <i>K. pneumoniae</i>	21
4	Répartition des souches de <i>K. pneumoniae</i> selon la nature des prélèvements	35
5	Répartition des souches de <i>K. pneumoniae</i> par service	37
6	Phénotypes de résistance de <i>K. pneumoniae</i>	41
Annexe		
1	Matériels non biologique	
2	Résultat de la lecture du test d'oxydase	
3	Résultat de la lecture du test de la catalase.	
4	Dénomination des souches de <i>K. pneumoniae</i>	
5	Lecture des résultats de la galerie API 20 E	
6	Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour Entérobactéries comme indiqué dans le fascicule de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale version 2014	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Micro-morphologiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	4
2	Quatre facteurs de virulence bien caractérisés dans le classique et l'hypervirulent souches <i>K. pneumoniae</i> .	6
3	Structure chimique d'un cycle bêta-lactame.	8
4	Composition du squelette des structures de β -lactamines avec le cycle β -lactame mis en évidence	9
5	Structure de la Streptomycine	10
6	Structure chimique de la ciprofloxacine.	10
7	Structure chimique de la fosfomycine.	11
8	Structure chimique des polymyxines.	12
9	Structure chimique du sulfaméthoxazole	13
10	Structure chimique de Triméthoprime	13
11	Structure chimique de nitrofurane	14
12	Les taux de cultures positives et cultures négatives	33
13	Aspect de colonies sur les milieux d'isolement	33
14	Le taux d'isolement de <i>K. pneumoniae</i> par rapport à d'autres espèces bactériennes.	35
15	Répartition des souches de <i>K. pneumoniae</i> selon la nature des prélèvements	36
16	Répartition des souches de <i>K. pneumoniae</i> par service	38
17	Résultat de test de l'antibiogramme	38
18	Taux de résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux bêta-lactamines	39
19	Taux de résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux autres classes d'antibiotiques	40
20	Résultat du test à EDTA (résultat positif)	40
21	Résultat du test Hodge (résultat positif)	41
Annexe		
1	Résultat de l'identification par la galerie API 20 E	

Liste des abréviations

AAC(6 ⁷)-Ib-cr	Aminoglycoside acetyltransferase ciprofloxacin resistance
ACC1	Ambler class C 1
ADN	Acide désoxyribonucléique
AmpC	Béta-lactamase de type céphalosporinase
API 20 E	Analytical profile index 20 E (E= Entérobactéries)
ARNm	Acide ribonucléique messager
ARNr16S	Acide ribonucléique ribosomique 16S
ATCC	American Type Culture Collection
BGT	Bouillon glucosé tamponné
BLSE	Béta -lactamase à spectre étendu
C3G	Céphalosporine de 3 ^{ème} génération
CIT	Citrate de Simmons
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CTX-M	Céfotaximase –Munich
EDTA	Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique
<i>folP</i>	Gene encoding dihydropteroate synthase
<i>FosA</i>	Gene encoding Glutathione transferase
GEL	Gélatine
GES	Guyana extended-spectrum
GLU	Glucose
<i>gyrA</i>	Gene encoding the enzyme DNA gyrase
H ₂ O ₂	Péroxyde d'hydrogène
H ₂ S	Sulfure d'hydrogène
IMI-2	Gene encoding carbapenemase
IND	Indole
KCN	Cyanure de potassium
L-Ara4N	4-amino-4-deoxy-beta-L-arabinopyranose

MF	Mac farland
MFS	Major Facilitator Superfamily
MurA	UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase
<i>NpmA</i>	Novel plasmid-mediated Aminoglycoside- resistance RNA methyltransferase A
ONPG	Orthonitrophényl- β -galactoside
OqxAB	Olaquinox AB
<i>ParC</i>	Gene encoding the enzyme; topoisomerase IV
pEtN	Phosphoethanolamine
<i>pmrA</i> et <i>pmrB</i>	Regulator of the mucoid phynotype
<i>qnrA</i>	Quinolone resistance gene
RAM	Résistance Anti-microbienne
RM	Rouge de méthyle
Rmt	rRNA methyltransferase
SHV-1	Sulfhydryl variable
<i>subsp</i>	Sous-espèce
<i>Sul</i>	Gene conférant la résistance aux sulfamides
TDA	Tryptophane Désaminase
TEM	Temoniera
URE	Urée
VIM	Verona integron-encoded metallo- β -lactamase

Glossaire

Infections nosocomiales : Le terme nosocomial vient du grec « Nosokomeone » qui signifie hôpital, et quantifie ce qui se rapporte aux hôpitaux. Les infections nosocomiales sont des maladies infectieuses (bactérienne, fongique, parasitaire ou virale) contractées dans une structure de soins, soit par le personnel soignant du fait de son activité, soit par le patient. Dans ce dernier cas, l'infection est considérée comme nosocomiale lorsqu'il est prouvé qu'elle était inexistante lors de l'admission du patient à l'hôpital, et que quarante-huit heures se sont écoulées entre l'hospitalisation et la déclaration des premiers signes cliniques.

Rhinosclérome : est une affection granulomateuse chronique rare due au *Klebsiella rhinoscleromatis* avec un tropisme pour les voies aériennes supérieures mais qui peut s'étendre jusqu'aux bronches.

Ozène : appelée aussi rhinite atrophique, c'est une atrophie de la muqueuse et du squelette des fosses nasales.

Dialyse : est une technique médicale permettant de supplanter les reins qui ne peuvent plus effectuer leur travail en cas d'insuffisance rénale très avancée. Elle permet de filtrer le sang de ses déchets normalement éliminés par le rein.

Corticostéroïdes : sont également des médicaments très puissants. Ils contribuent à contrôler ou à éliminer rapidement l'inflammation en agissant sur le système immunitaire.

Toxicité sélective : c'est à dire spécifique de la bactérie ciblée.

Ototoxicité : (étymologiquement : toxicité pour l'oreille) se manifeste par une altération des fonctions auditives et/ou vestibulaires normales, accompagnée secondairement d'une dégénérescence des cellules sensorielles de la cochlée (audition) et/ou du vestibule (équilibre).

Néphrotoxicité : est la toxicité rénale secondaire à l'administration d'un médicament . Elle peut se présenter cliniquement de plusieurs façons, la plus classique étant l'insuffisance rénale aiguë .

Système SOS : si les dommages dans l'ADN sont trop importants : le système SOS se met en place. C'est le dernier système pour tenter de réparer les dommages de l'ADN. C'est un système de réparation par recombinaison homologue, sauf qu'il est inductible.

Sommaire

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction 1

Partie synthèse bibliographique

I. Généralité sur *Klebsiella pneumoniae*..... 3

1. Historique..... 3

2. Position taxonomique de *Klebsiella pneumoniae*..... 3

3. Habitat..... 3

4. Caractères morphologiques 4

4.1. Caractères culturels..... 4

4.2. Caractères micro-morphologiques 4

5. Caractères biochimiques..... 4

6. Caractères antigéniques..... 5

7. Certaines infections causées par *K. pneumoniae*..... 5

8. Transmission..... 5

9. Facteur de risques..... 6

10. Facteur de virulences..... 6

II. Les antibiotiques..... 7

1. Définition..... 7

2. Classification et mode d'action des antibiotiques 7

2.1. Les β -lactamines 8

2.1.1. Structure des β -lactamines..... 8

2.1.2. Mécanisme d'action des β -lactamines.....	9
2.2. Aminoglycosides ou Aminosides.....	9
2.2.1. Structure des Aminosides	9
2.2.2. Mécanisme d'action des Aminoglycosides ou Aminosides.....	10
2.3. Les quinolones.....	10
2.3.1. Structure des quinolones.....	10
2.3.2. Mécanisme d'action des quinolones	11
2.4. La fosfomycine	11
2.4.1. Structure de fosfomycine.....	11
2.4.2. Mécanisme d'action de fosfomycine.....	11
2.5. Les polypeptides	12
2.5.1. Structure des polypeptides.....	12
2.5.2. Mécanisme d'action des polypeptides	12
2.6. Les sulfamides et diaminopyrimidines.....	13
2.6.1. Structure des sulfamides.....	13
2.6.2 Structure des diaminopyrimidines.....	13
2.6.3. Mécanisme d'action des sulfamides et diaminopyrimidines.....	14
2.7. Les nitrofuranes	14
2.7.1. Structure des nitrofuranes	14
2.7.2. Mécanisme d'action des nitrofuranes	14
III. Résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux antibiotiques.....	14
1. Résistance naturelle.....	15
1.1.Résistance aux bêta-lactamines.....	15
1.2.Résistance aux autres antibiotiques.....	15
2. Résistance acquise	15
2.1. La résistance aux bêta-lactamines	15
2.1.1. Mécanismes de résistance enzymatique aux bêta-lactamines.....	15

A. Pénicillinase à haut niveau	15
B. Céphalosporinase de type AmpC	15
C. Béta-lactamases a spectre étendu (BLSE)	16
D. Carbapénèmases	16
2.1.2. Mécanismes de résistance non enzymatique.....	17
A. Diminution de la perméabilité.....	17
B. Modification de PLP.....	17
2.2. Résistance aux aminosides.....	17
2.3. Résistance aux quinolones	17
2.3.1. Résistance par mutation chromosomique	17
A. Mutations du gène du site cible.....	17
B. Mutations entraînant une réduction de l'accumulation de médicament.....	18
2.3.2. Résistance par plasmide.....	18
2.4. Résistance à la colistine.....	18
2.5. Résistance aux fosfomycines	18
2.6. Résistance aux nitrofuranes.....	19
2.7. Résistance aux sulfamides.....	19
Partie matériel et méthodes	
I. Matériel	20
II. Méthodes	22
1. Conduite à tenir devant les différents prélèvements	22
1.1. Mise en culture des prélèvements.....	22
1.1.1. Les urines	22
1.1.2. Hémoculture.....	22

1.1.3. Liquide céphalo-rachidien et Cathéter.....	23
1.1.4. Pus, Prélèvements Distal Protégé, Prélèvements anaux	24
1.2. Identification de <i>Klebsiella</i>	23
1.2.1. Examen macroscopique des colonies.....	23
1.2.2. Examen microscopique	23
1.2.3. Coloration de Gram	23
1.2.4. Test de la catalase	24
1.2.5. Test d'oxydase	24
1.2.6. Identification biochimique.....	25
A. Galerie classique	25
B. Identification par galerie API 20 E	29
2. Antibiogramme	30
2.1. Préparation de l'inoculum	30
2.2. Ensemencement	30
2.3. Application des disques d'antibiotiques	30
2.4. Lecture	30
3. Tests complémentaires de l'antibiogramme	31
3.1. Détection des métallo-carbapénèmases	31
3.1.1. Test à l'EDTA	31
3.1.2. Test de Hodge	32

Partie résultats et discussion

Résultats	33
1. Diagnostic microbiologique	33
1.1. Résultats de l'isolement	33
1.1.1. Résultats de l'étude morphologique	33
1.1.2. Etude biochimiques	34
2. Taux de <i>K.pneumoniae</i> dans les prélèvements	34
2.1. Répartition des souches de <i>K.pneumoniae</i> selon la nature des prélèvements	35
2.2. Répartition des souches de <i>K.pneumoniae</i> selon les services	36
3. Profil de résistance de <i>K.pneumoniae</i> aux antibiotiques	38
3.1. Résultat de l'antibiogramme.....	38

4. Résultats des tests complémentaires de l'antibiogramme	40
Discussion	42
Conclusion	45
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

L'infection microbienne occupe actuellement la première place dans les pathologies médicales. Elle est connue depuis longtemps, et depuis l'utilisation des antibiotiques, elle a progressivement changé de visage et les cliniciens ont été confrontés à des infections à germes autrefois réputés non pathogènes ou saprophytes. Un des exemples le plus frappant pour illustrer ce propos est *Klebsiella pneumoniae* (Kariuki *et al.*, 2007).

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans des infections sévères des infections urinaires (IU), des pneumonies et notamment des bactériémies (Berrazg *et al.*, 2013). Elle est responsable de plus de 10% de toutes les infections bactériennes nosocomiales (Stahlhut *et al.*, 2011) et est de plus en plus signalée comme une cause d'infections invasives dans les milieux hospitaliers, en particulier chez les patients immunodéprimés (Wenzi *et al.*, 2017). Selon le NHSN (National Healthcare Safety Network), *K. pneumoniae* est responsable de 7,9 % de l'ensemble des infections urinaires aux Etats-Unis, ainsi elle est classée en cinquième position parmi tous les agents pathogènes incriminés dans les infections. Cependant, d'après le réseau de L'Antibio-Résistance en Tunisie (LART), *K. pneumoniae* est essentiellement isolée des infections urinaires en milieu hospitalier avec un taux de 60,4 % (Nedjai *et al.*, 2012).

C'est l'une des bactéries la plus couramment rencontrée par les cliniciens du monde entier comme étant une cause d'infection chez l'homme et elle est responsable des épidémies en raison de la propagation de différentes souches associées à des infections opportunistes chez les personnes ayant un système immunitaire affaibli, les diabétiques, les alcooliques et les patients hospitalisés (Berrazg *et al.*, 2013).

Pour contrôler et guérir ces infections causées par *K. pneumoniae* un large catalogue d'antibiotiques tels que les β -lactamines et les aminosides sont efficaces (Bush et Jacoby, 2010; Krause *et al.*, 2016). Cependant, la résistance aux antimicrobiens (RAM) causée par la mauvaise utilisation d'antibiotiques réduit considérablement l'efficacité de ces antibiotiques, ce qui entraîne des difficultés croissantes dans le traitement de *K. pneumoniae*. Par exemple, selon le rapport d'un programme national de surveillance de la résistance aux antimicrobiens en Chine, le taux de résistance à l'imipénème et à le méropénème de *K. pneumoniae* a considérablement augmenté (de 3 à 10,5% pour l'imipénème et de 2,9 à 13,4% pour le méropénème) entre 2005 et 2014 (Hu *et al.*, 2016).

C'est dans ce contexte que nous avons choisi de mener ce travail de mémoire sur *Klebsiella pneumoniae*, qui a pour objectifs :

- L'isolement et l'identification des souches de *Klebsiella pneumoniae* à partir de différents prélèvements pathologiques provenant du laboratoire central de l'unité de microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Blida.
- L'étude du profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae*.

I. Généralité sur *Klebsiella pneumoniae*

1. Historique

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

2. Position taxonomique de *Klebsiella pneumoniae*

Selon la classification de la 2^{ème} édition de Bergy's manuel (**George et al., 2004**), elle appartient au :

Domaine : *Bacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

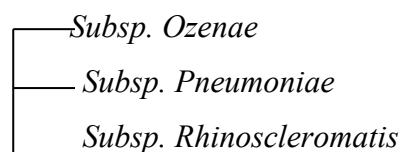
Classe : *Gamma Proteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Klebsiella*

Espèce : *Klebsiella pneumoniae*



3. Habitat

K. pneumoniae n'est pas limitée à l'homme mais elle est omniprésente dans l'environnement écologique. Elle est souvent isolée des eaux de surface, des eaux usées, des effluents industriels, du sol, du bois, des végétaux divers et des aliments (**Dong et al., 2003**) et rencontrée comme saprophyte chez l'homme et d'autres mammifères, colonisant le tractus gastro-intestinal, la peau et le nasopharynx (**Tzouvelekis, 2012**). Le portage digestif de *Klebsiella* est plus important chez les malades hospitalisés que dans la population normale (**Fauchère et Avril, 2002**), elle persiste dans l'environnement hospitalier sur les surfaces et les dispositifs médicaux et de ce fait elle peut être facilement transmise entre les patients et le personnel soignant (**Azimi et al., 2015**).

4. Caractères morphologiques

4.1. Caractères cultureux

Elle se développe sur les milieux classiques d'isolement pour les entérobactéries (Drigalski, Hektoen, Mac Conkey, Gélose éosine bleu de méthylène) et présente des colonies rondes bombées, d'aspect plus ou moins muqueux lisses, brillantes (Clave, 2013). La présence d'une capsule rend les colonies muqueuses, parfois filantes. La production d'une capsule est favorisée par des milieux saccharosés, tel le milieu de Worfel-Ferguson (Denis *et al.*, 2016).

4.2. Caractères micro-morphologiques

Ce sont des bacilles à Gram négatif, non flagellés et non sporulés (Podschun et Ullmann, 1998) de 2 microns de longueur et 0,5 microns de diamètre (Figure 1). Les cellules possèdent une couche épaisse de polysaccharide extracellulaire qui compose la capsule (Shaik *et al.*, 2014).

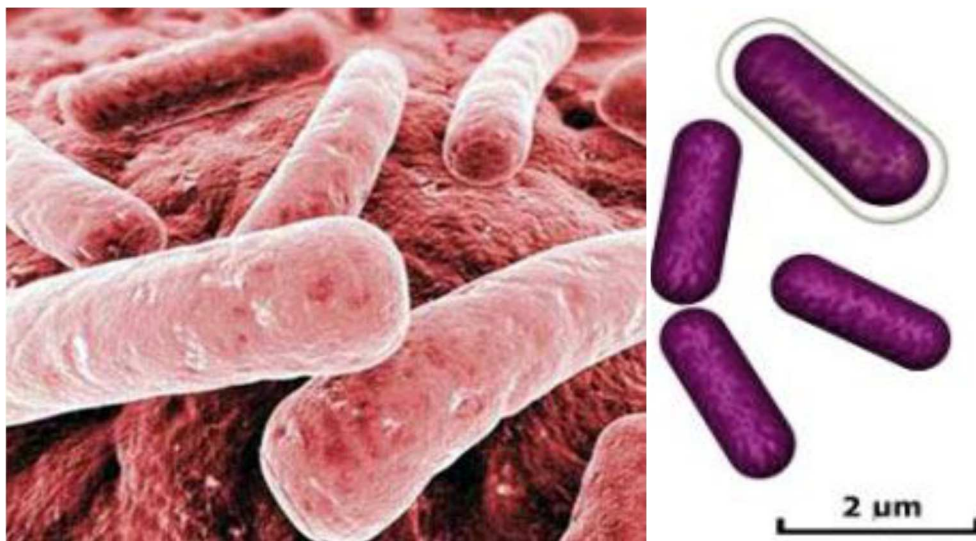


Figure 1. Micro-morphologie de *Klebsiella pneumoniae* (Shaik *et al.*, 2014)

5. Caractères biochimiques

K. pneumoniae est immobile, Voges-Proskauer (VP) +, Rouge de méthyle (RM) -, uréase +, Orthonitrophényl- β -galactoside (ONPG) +, β -xylosidase +, H₂S -, indole -, désaminase oxydative -, lysine décarboxylase (LDC) +, ornithine décarboxylase (ODC) -, lipase, DNase et gélatinase -, KCN +, fermentant de nombreux substrats glucidiques avec production de gaz, utilisant le citrate de simmons et le malonate (Kone, 2010).

6. Caractères antigéniques

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

- Antigènes « O » somatiques : la recherche des antigènes « O » présente peu d'intérêt pratique, en raison de la difficulté de leur détermination par suite du caractère thermostable des antigènes capsulaires.
- Antigènes « K » capsulaires : au moins 77 antigènes K ont été décrits 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, 2, 3,4 et 5 (Freney *et al.*, 2000; Minor et Véron, 1989).

7. Certaines infections causées par *K. pneumoniae*

K. pneumoniae est un pathogène opportuniste qui infecte les patients immunodéprimés hospitalisés ou souffrant de maladies sous-jacentes graves. Cette bactérie peut conduire à des complications, y compris les infections des voies urinaires, les septicémies et les pneumonies chez les personnes âgées ou chez les patients présentant des facteurs prédisposants (Bellifa *et al.*, 2016). Elles peuvent également causer, un abcès cérébral et des maladies chroniques comme la méningite (Botelho-nevers *et al.*, 2007).

- *K. pneumoniae subsp. Rhinoscleromatis* peut être responsable du rhinosclérome ; il s'agit d'un épaissement chondroïde des muqueuses labioglossopharyngées.
- *K. pneumoniae subsp. ozaenae* est responsable de l'ozène qui associe rhinite atrophique fétide et des processus destructifs des bronches.
- *K. pneumoniae subsp. Pneumoniae* est isolée principalement dans les infections urinaires ou respiratoires parfois compliquées de septicémies, surtout en milieu hospitalier où elle serait responsable de 10% des infections nosocomiales (Denis *et al.*, 2016).

8. Transmission

K. pneumoniae est responsable d'infections communautaires dans 25% des cas, mais surtout d'infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter (Arafa *et al.*, 2009). La transmission de ces bactéries d'un patient à un autre se fait facilement par les mains du

personnel soignant ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical (cathéter, masque à oxygène...) (Raud, 2003), ou à un degré moindre par la contamination de l'environnement. La transmission de *K. pneumoniae* est très facile et rapide mais ne se propage pas dans l'air (Boston Medical Research Occupational Health Program, 2012).

9. Facteurs de risque

Les facteurs de risque pour l'acquisition d'infection nosocomiale à *K. pneumoniae* comprennent : le cancer, le diabète, l'hépatopathie chronique, la transplantation d'organes solides et dialyse, le traitement par corticostéroïdes, la chimiothérapie. Les autres populations à risque sont les nouveau-nés et les personnes âgées (Paczosa et Meccas, 2016).

10. Facteurs de virulence

La pathogénicité de *K. pneumoniae* a été attribuée à plusieurs facteurs de virulence qui lui permettent de s'échapper des mécanismes immunitaires innés de l'hôte. Parmi tous les facteurs de virulence, il est important de souligner la capsule, l'exopolysaccharide associé à la mucoviscosité, le lipopolysaccharide (LPS), les adhésines et les systèmes d'absorption du fer (Broberg *et al.*, 2014) et le biofilm (Bansal *et al.*, 2015).

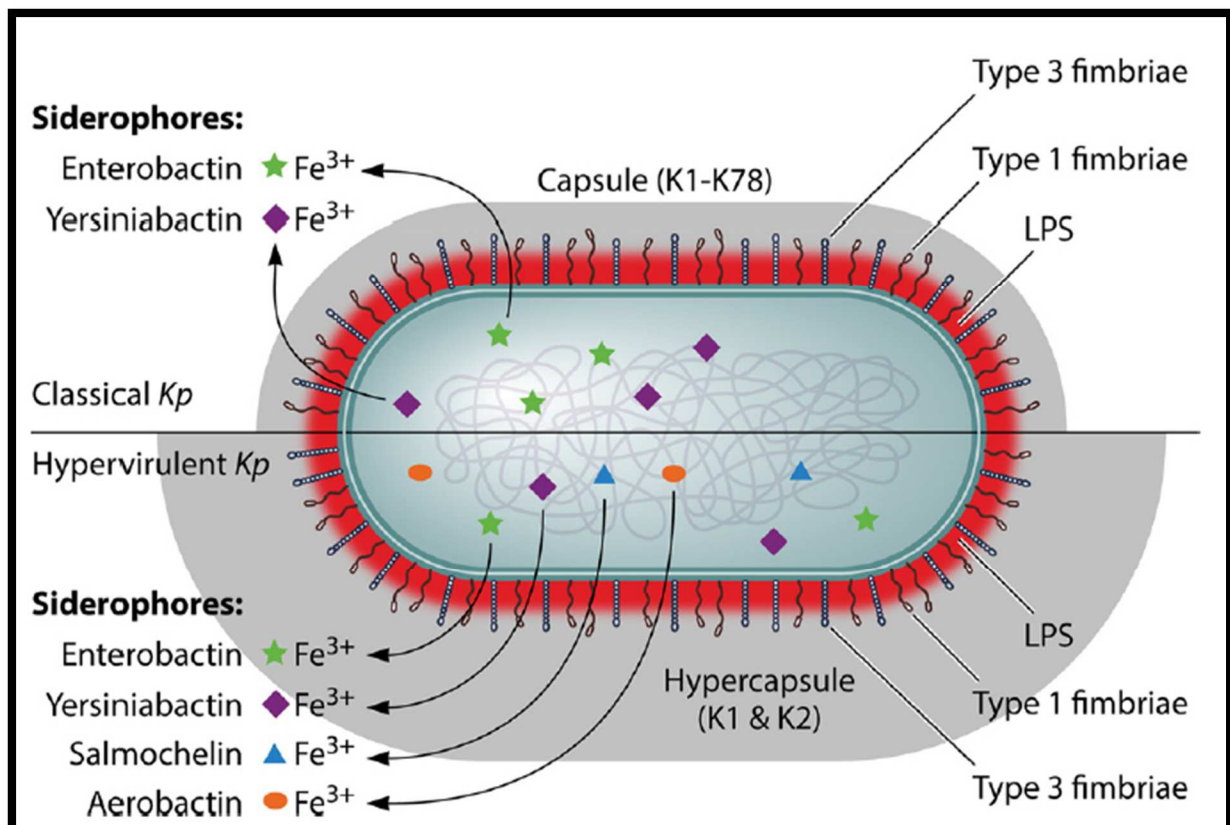


Figure 2. Quatre facteurs de virulence bien caractérisés dans le classique et l'hypervirulent souches *K. pneumoniae* (Paczosa et Meccas, 2016)

Tableau 1. Résumé des facteurs de virulence impliqués dans la pathogenèse de *K.pneumoniae* (Clegg et Murphy, 2016)

Facteur de virulence	Rôle du facteur dans la pathogenèse
Capsule	Inhibe et évite la phagocytose par les cellules hôtes, neutralise le peptide antibactérienne et l'activité de complément
LPS	L'antigène O fournit une résistance au sérum
Sidérophore	Récupère le fer essentiel à la survie, phénotypes hypermucoviscous ont été liés à une augmentation de l'activité de liaison au fer
Fimbriae de type 1	Ils ont la plus grande capacité d'adhésion. Ils sont impliqués dans la colonisation des tractus respiratoire et urinaire
Fimbriae de type 3	Important pour la formation de biofilm sur les surfaces biotiques et abiotiques
Formation de biofilm	La formation favorise la résistance aux mécanismes de défense de l'hôte et aux antibiotiques

II. Les antibiotiques

1. Définition

Le terme antibiotique a été inventé à partir du mot «antibiosis» ce qui signifie littéralement «contre la vie» (Russel, 2004). Ce sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la croissance des micro-organismes ou pour les détruire (Mangin, 2016), ceux qui tuent les bactéries sont appelés bactéricides tandis que ceux qui inhibent la croissance bactérienne sont appelés bactériostatiques (Walsh, 2003). Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries principalement ou obtenus par synthèse et hémisynthèse (Mangin, 2016).

2. Classification et mode d'action des antibiotiques

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

Le pouvoir antimicrobien de la plupart des classes d'antibiotiques est dirigé vers une caractéristique unique de la structure bactérienne ou leurs processus métaboliques (**Ebimiewei et Ibemologi, 2016**), les sites cibles des antibiotiques sont les suivants:

- Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire
- Rupture de la structure ou de la fonction de la membrane cellulaire
- Inhibition de la structure et de la fonction des acides nucléiques
- Inhibition de la synthèse des protéines
- blocage des principales voies métaboliques (**Firoz, 2018**)

2.1. Les β -lactamines

2.1.1. Structure des β -lactamines

Les β -lactamines constituent une famille majeure d'antibiotiques très largement utilisés en clinique (**Cattoir, 2008**), elles sont des antibiotiques naturels ou semi-synthétiques caractérisés sur le plan chimique par la présence d'un noyau bêtalactame (représenté sur la figure 3) (**Enriquez, 2010**).

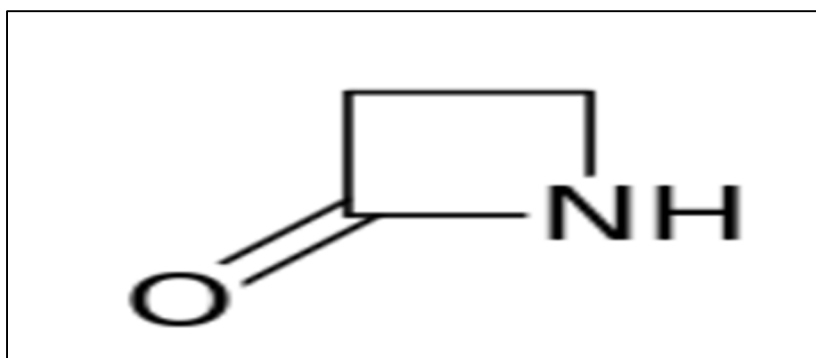


Figure 3. Structure chimique d'un cycle bêta-lactame (**Ebimiewei et Ibemologi, 2016**)

Les β -lactamines incluent les dérivés des pénicillines, les céphalosporines, les monobactames, les carbapénèmes et les inhibiteurs de la bêta lactamase (Figure 4) (**Nordmann, 2010**).

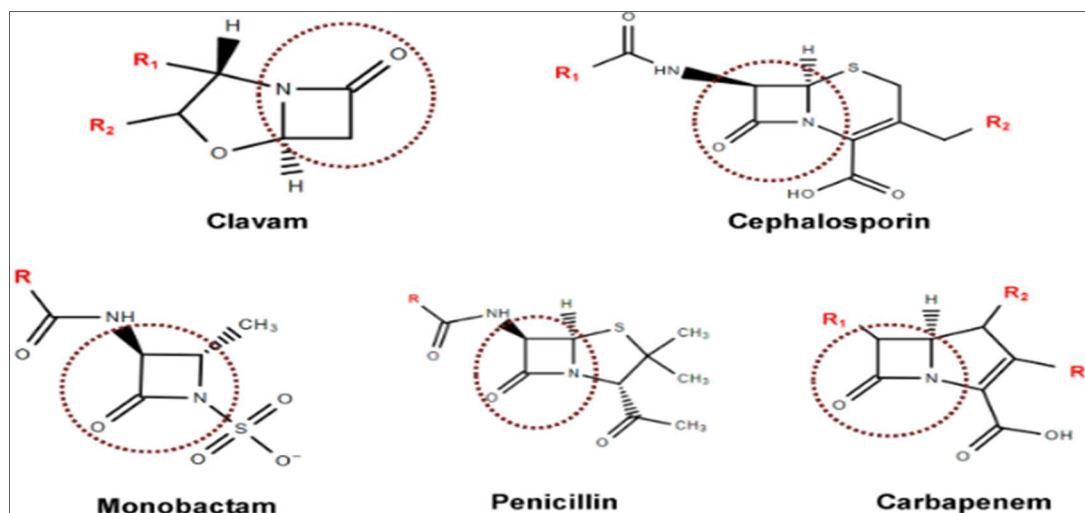


Figure 4. Composition du squelette des structures de β -lactamines avec le cycle β -lactame mis en évidence (Viana *et al.*, 2018)

2.1.2. Mécanisme d'action des β -lactamines

Les β -lactamines empêchent la formation de la paroi bactérienne (Prescott, 2013), plus précisément en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP sont des protéines à activité enzymatique (essentiellement des transpeptidases) impliquées dans la synthèse de la paroi. Elles sont situées sur la face externe de la membrane cytoplasmique. Cette fixation covalente entre les PLP et les β -lactamines induit un blocage des réactions de transglycosylation et transpeptidation consécutif à l'acylation des PLP par les β -lactamines, ainsi qu'une stimulation de l'activité des auto-lysines (Courvalin *et al.*, 2006).

2.2. Aminoglycosides ou Aminosides

2.2.1. Structure des Aminosides

Les aminosides sont une catégorie d'antibiotiques bactéricides réservés à des infections généralement sévères. Ce sont des hétérosides naturels ou hémisynthétiques (Courvalin *et al.*, 2006) pas ou très peu absorbés par voie digestive, ils sont administrés par voie parentérale (Buxeraud et Faure, 2016). Les principaux inconvénients de cette classe d'antibiotiques sont leur ototoxicité et leur néphrotoxicité (Courvalin *et al.*, 2006).

Les aminosides ou aminoglycosides sont des molécules hydrophiles, basiques et polycationiques. Leur structure de base comporte un cycle central aminocyclitol saturé, relié par des liaisons glycosidiques à deux ou trois hexoses (Vakulenko et Mobashery, 2003).

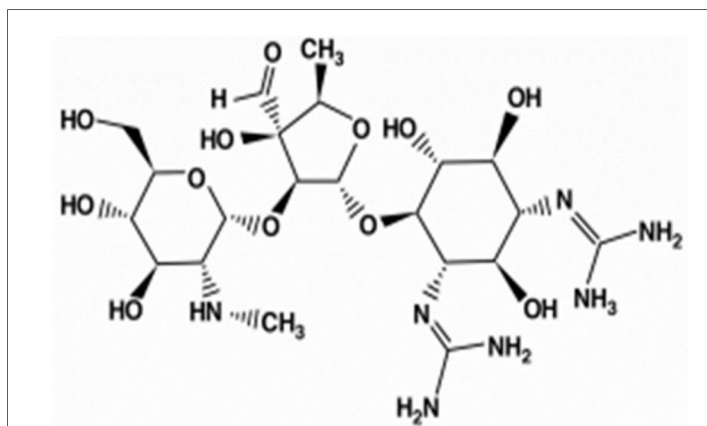


Figure 5. Structure de la streptomycine (Kwiatkowska *et al.*, 2013)

2.2.2. Mécanisme d'action des Aminoglycosides ou Aminosides

Les aminosides sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines (Lambert et Courvalin, 2000; Lambert et Courvalin, 2006). Ils interagissent avec l'ARNr 16S de la sous-unité 30S, près du site A par des liaisons d'hydrogène. Ils provoquent une mauvaise lecture et un arrêt prématuré de la traduction de l'ARNm (Kapoor *et al.*, 2017).

2.3. Les quinolones

2.3.1. Structure des quinolones

Les quinolones sont un groupe hétérogène d'agents antimicrobiens synthétiques (Rubinstein et Lagaci-wiens, 2017). Dans les années 70, et afin d'améliorer la pénétration et la persistance de ces molécules dans les cellules, un atome de fluor a été rajouté aux quinolones, ce qui a donné naissance aux fluoroquinolones. Ces différentes molécules se différencient par leur capacité de pénétration tissulaire et leur spectre d'action (Dima, 2016).

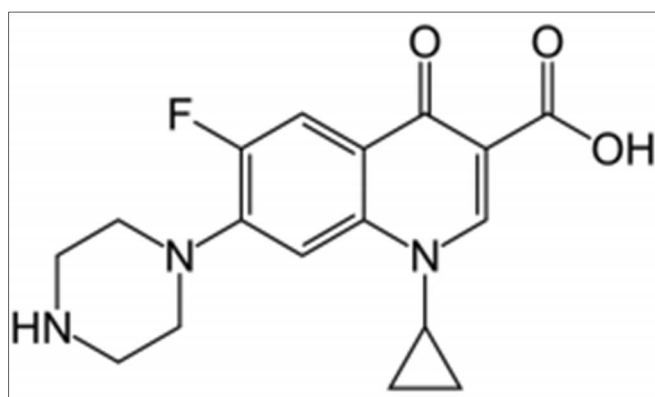


Figure 6. Structure chimique de la ciprofloxacine (Buxeraud^a et Faure^b, 2016)

Les quinolones sont classées en 4 générations en fonction de leur spectre d'activité et de leur date de mise sur le marché (Cattoir, 2012), on distingue :

- Les quinolones de première génération: comprennent des molécules à spectre étroit, (Andriole, 2005). Exemple : acide nalidixique
- Les quinolones de deuxième génération ou fluoroquinolones: présentent un spectre élargi. Exemple : ciprofloxacine
- Les quinolones de troisième génération ou fluoroquinolones anti-pneumococcique sont été développées pour étendre le spectre à *Streptococcus pneumoniae*. Exemple : lévofloxacine
- Les quinolones de quatrième génération: présentent un spectre d'activité étendu aux bactéries anaérobies strictes. Exemple : trovafloxacine (Cattoir, 2012)

2.3.2. Mécanisme d'action des quinolones

Les quinolones agissent par l'inhibition rapide de la synthèse de l'ADN, conduisant à la mort cellulaire. Les cibles principales sont l'ADN gyrase et la topoisomérase IV (Rubinstein et Lagaci-wiens, 2017), empêchant la réplication de l'ADN bactérien (effet bactériostatique). Il en résulte la formation d'ADN double brin coupé qui est à l'origine de l'effet bactéricide par l'activation du système SOS (Tasse, 2017).

2.4. La fosfomycine

2.4.1. Structure de la fosfomycine

La fosfomycine, à l'origine appelée phosphonomycine. C'est un dérivé de l'acide phosphonique, avec un extrêmement faible poids moléculaire (Michalopoulos *et al.*, 2011). Il s'agit d'un antibiotique traditionnellement utilisé pour les infections urinaires (Keating, 2013).

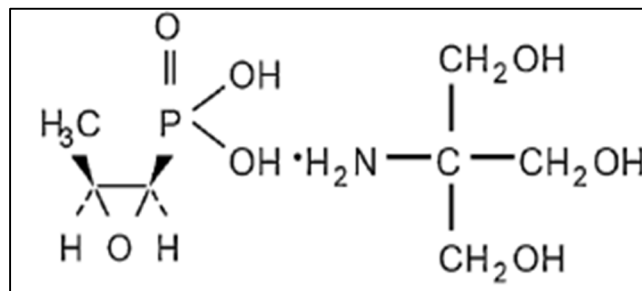


Figure 7. Structure chimique de la fosfomycine (Michalopoulos *et al.*, 2011)

2.4.2. Mécanisme d'action de la fosfomycine

La fosfomycine interfère avec la première étape cytoplasmique de la biosynthèse de la paroi cellulaire bactérienne (Falagas *et al.*, 2016). Inhibe la synthèse du peptidoglycane en

bloquant la formation de l'acide N-acétylmuramique (Kahan *et al.*, 1974). La fosfomycine se lie covalentement dans le site actif de Mur A (enzyme initie la synthèse du péptidoglycane) et l'inactive par conséquent (Falagas *et al.*, 2016).

2.5. Les polypeptides

2.5.1. Structure des polypeptides

Les polypeptides sont des antibiotiques produits naturellement par des espèces de *Paenibacillus polymyxa*. Plusieurs classes existent (Dortet *et al.*, 2016), mais seules 2 classes sont disponibles pour un usage thérapeutique: polymyxine B et la polymyxine E (colistine) (Hermsen *et al.*, 2003). Il s'agit d'antibiotiques peptidiques cycliques, chargés positivement (Landman *et al.*, 2008).

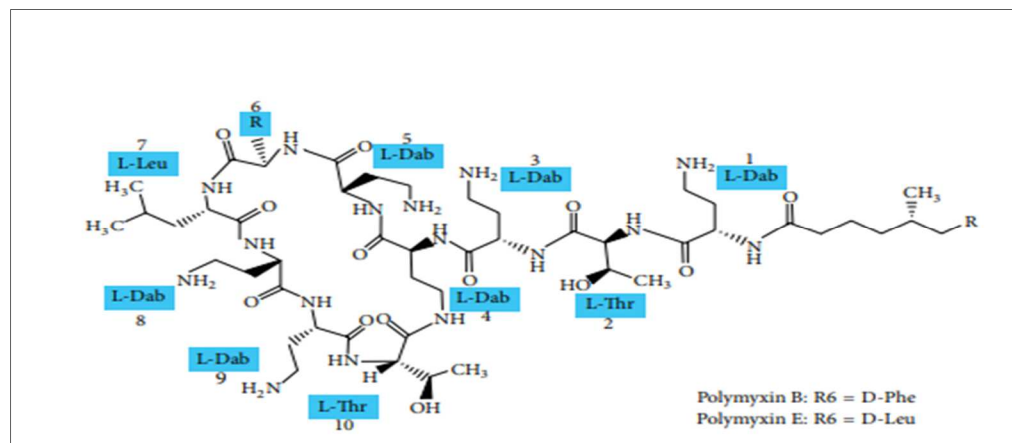


Figure 8. Structure chimique des polymyxines (Zhiliang *et al.*, 2015)

2.5.2. Mécanisme d'action des polypeptides

La cible des polymyxines est la membrane externe des bactéries à Gram négatif. En raison d'une interaction électrostatique entre le résidu d'acide α,γ -diaminobutyrique (Dab) de la polymyxine chargée positivement d'un côté et les groupes de phosphate de lipide A chargée négativement de l'autre côté, puis grâce aux propriétés hydrophobes de l'acide gras (Kipnis et Guery, 2010) déplaçant préférentiellement les ions Mg^{2+} et Ca^{2+} (Ganapathy *et al.*, 2010). La lipopolysaccharide (LPS) est donc déstabilisée, augmentant par conséquent la perméabilité de la membrane bactérienne, conduisant à une fuite de la teneur cytoplasmique et finalement causant la mort cellulaire (Li *et al.*, 2006; Falagas et Kasiakou, 2005). Les polymyxines ont la capacité de se lier à l'endotoxine de LPS libérée pendant la lyse cellulaire et de la neutraliser (Li *et al.*, 2006). Enfin, un autre mode d'action des polymyxines est

l'inhibition des enzymes respiratoires dans la membrane interne bactérienne (Deris *et al.*, 2013).

2.6. Les sulfamides et diaminopyrimidines

2.6.1. Structure des sulfamides

Les sulfamides sont dérivés du p-aminobenzènesulfonamide, qui est un analogue structural de l'acide p-aminobenzoïque (PABA) (Bambeke *et al.*, 2010). Ils se constituent d'un noyau paraminobenzènesulfonamide avec un radical R déterminant (Yala *et al.*, 2001).

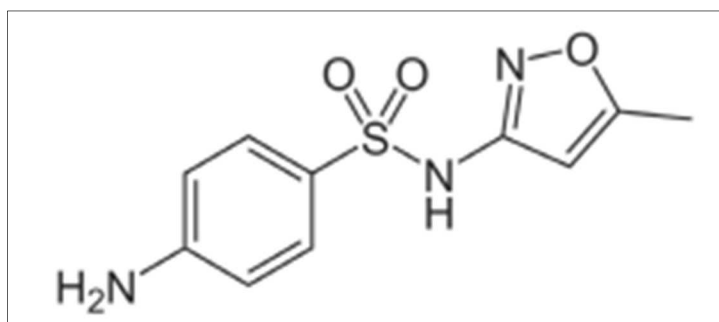


Figure 9. Structure chimique du sulfaméthoxazole (Buxeraud^a et Faure^b, 2016)

2.6.2. Structure des diaminopyrimidines

Les diaminopyrimidines comme le triméthoprime sont des pyrimidines substituées en position 5 par un groupe aromatique. La pyriméthamine a un substituant supplémentaire en position 6 (Bambeke *et al.*, 2010).

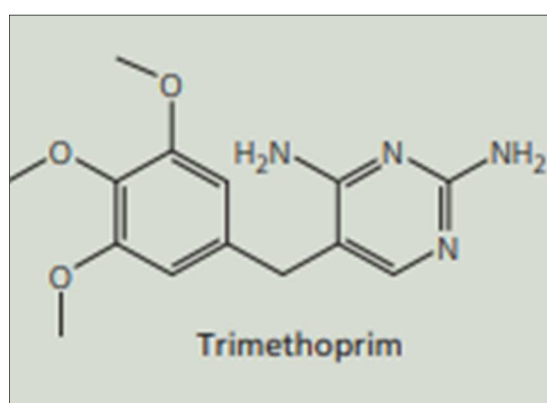


Figure 10. Structure chimique de la triméthoprime (Bambeke *et al.*, 2010)

2.6.3. Mécanisme d'action des sulfamides et diaminopyrimidines

Les sulfamides inhibent la synthèse de l'acide folique, agissant au niveau de dihydroptéroate synthétase en tant qu'analogues de l'acide p-aminobenzoïque, les diaminopyrimidines sont des inhibiteurs compétitifs spécifiques du dihydrofolate réductase bactérien (**Hitchings, 1973; Burchall, 1973**). L'activité des sulfamides est principalement bactériostatique. Une action bactéricide peut être obtenue en associant un sulfamide à une diaminopyrimidine (**Buxeraud^a et Faure^b, 2016**).

2.7. Les nitrofuranes

2.7.1. Structure des nitrofuranes

Ce sont des antibiotiques nitrohétérocycliques (**Bambeke *et al.*, 2010**). Ils sont utilisés pour traiter les infections digestives et urinaires (**Yala *et al.*, 2001**).

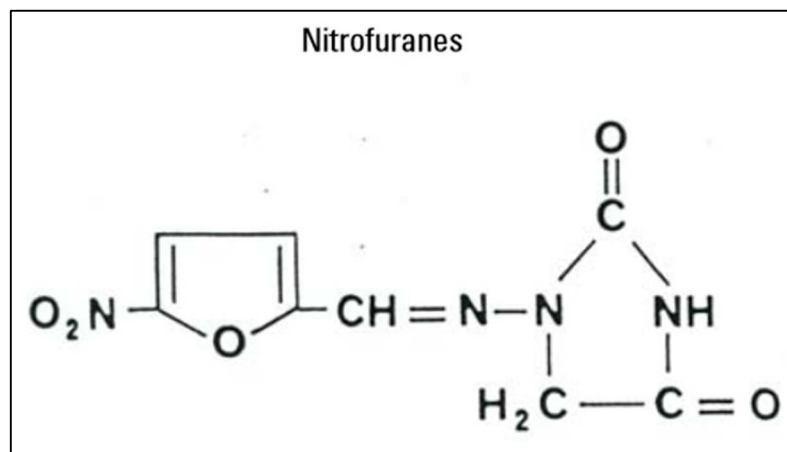


Figure 11. Structure chimique des nitrofuranes (**Cambau et Guillard, 2012**)

2.7.2. Mécanisme d'action des nitrofuranes

Ils peuvent inhiber directement l'activité des enzymes impliquées dans la dégradation du glucose et du pyruvate (**Bambeke *et al.*, 2010**) et perturbent la réplication de l'ADN (**Yala *et al.*, 2001**).

III. Résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques

K. pneumoniae utilise une variété de mécanismes de défense pour lutter contre les effets des antibiotiques : la production de β -lactamase, pompes à efflux et imperméabilité (**Hennequin et Robin, 2016**), des mutations sur les cibles des antibiotiques ce qui réduit l'efficacité des antibiotiques. L'altération et l'inactivation des antibiotiques peuvent être

catalysés par des enzymes codées par des gènes chromosomiques ou plasmidiques (**Zhao et al., 2009; Li et al., 2015; Sharma et al., 2016**).

1. Résistance naturelle

La résistance naturelle est celle que développe un agent infectieux contre un antibiotique donné sans jamais avoir été mis en contact avec celui-ci. Il s'agit alors d'un marqueur d'identification de la bactérie (**Decré, 2012**).

1.1. Résistance aux bêta-lactamines

K. pneumoniae possède naturellement un gène codant pour une pénicillinase chromosomique (**Courvalin et al., 2006**), cette dernière est une bêta-lactamase de type SHV-1 (**Chaves et al., 2001**). Qui lui confère une résistance à bas niveau aux pénicillines (aminopénicillines, carboxypénicillines et uréidopénicillines). 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 à l'aztréonam et aux carbapénèmes (**Courvalin et al., 2006**).

1.2. Résistance aux autres antibiotiques

La membrane externe de *K. pneumoniae* est formée entre autre de lipopolysaccharide (LPS) dont la structure est hydrophile grâce à ses charges électriques de surface et très compacte en profondeur grâce à ses acides gras insaturés. Cette organisation explique une résistance naturelle aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (macrolides, rifampicine, acide fusidique et glycopeptides) (**Nikaido, 1994**).

2. Résistance acquise

La résistance acquise est la résistance développée par un agent infectieux contre un antibiotique auquel il était auparavant sensible (**Joly-guillou et Décré, 2013**).

2.1. La résistance aux bêta-lactamines

2.1.1. Mécanismes de résistance enzymatique aux bêta-lactamines

A. Pénicillinase à haut niveau

Chez *K. pneumoniae* le phénotype pénicillinase à haut niveau se caractérise par la résistance à très haut niveau aux amino et carboxypénicillines, et par une réduction de l'activité des uréidopénicillines et des céphalosporines de première et de deuxième génération

ainsi par une réduction de l'activité des pénicillines associées aux inhibiteurs de β -lactamases (Jarlier et Nordmann, 2000).

B. Céphalosporinase de type AmpC

Ce sont des β -lactamases plasmidiques de classe C d'Ambler qui présentent une résistance à l'ensemble des β -lactamines excepté les carbapénèmes (Gueudet *et al.*, 2009). Concernant *Klebsiella*, le phénotype céphalosporinase de haut niveau est associé à l'acquisition d'un gène plasmidique (*ampC*) (Papanicolau *et al.*, 1990). Plusieurs céphalosporinases transférables ont été mises en évidence chez les entérobactéries, dont le type ACC1, est rapportée en 1999 chez une souche de *K. pneumoniae* (Bauernfeind *et al.*, 1999).

C. Béta-lactamases à spectre étendu (BLSE)

Les BLSE de type TEM et SHV appartenant à la classe A, elles dérivent par mutation ponctuelle des gènes de Béta-lactamases de type *TEM-1*, *TEM-2* et *SHV-1* (Elhani, 2012), elles sont les BLSE les plus courantes que l'on trouve principalement à *Klebsiella* (Colodner, 2005). Elles lui confèrent une large résistance aux β -lactamines. Seuls l'imipénème et les céphamycines demeurent stables vis-à-vis des β -lactamases à spectre étendu (Boukadida *et al.*, 2002). Une nouvelle famille de BLSE, appelée CTX-M, a émergé. Il est maintenant le plus dominant, avec CTX-M-15 étant l'enzyme principale actuellement observée chez *K. pneumoniae* (Calbo et Garau, 2015).

D. Carbapénèmases

Une variété de carbapénèmases de classe A ont été décrites; certaines sont codées par un plasmide (carbapénèmases de *Klebsiella pneumoniae* [KPC], IMI-2, GES), mais toutes hydrolysent efficacement les carbapénèmes et sont partiellement inhibés par l'acide clavulanique (Queenan et Bush, 2007). La première souche productrice d'une KPC-1 a été identifiée en 1996 (Yigit *et al.*, 2001).

Les carbapénèmases de classe B sont des enzymes de type VIM (Verona Integron encoded Métallo- β -lactamase) et IMP (Imipénémase) et plus récemment, du type métallo- β -lactamase-1 de New Delhi (NDM-1) (Queenan et Bush, 2007; Walsh *et al.*, 2005) et il a été signalé pour la première fois en 2009 dans un isolat de *K. pneumoniae* (Yong *et al.*, 2009). Ces enzymes hydrolysent tous les β -lactamines sauf l'aztréonam (Queenan et Bush, 2007; Walsh *et al.*, 2005).

Les carbapénèmases de classe D, oxacilline-48 a été identifiée initialement à partir d'une souche de *K. pneumoniae* en 2003 (Poirel *et al.*, 2003). Cette enzyme n'hydrolyse pas

les céphalosporines de troisième génération et son activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique (Carrër *et al.*, 2010; Uzun *et al.*, 2008).

2.1.2. Mécanismes de résistance non enzymatique aux bêta-lactamines

A. Diminution de la perméabilité

La résistance aux carbapénèmes chez *K. pneumoniae* peut résulter de la perte ou de la modification de porines (OmpK35 et OmpK36) associées à la production de β -lactamases à spectre étendu ou céphalosporinase de type AmpC ou à l'acquisition des gènes de résistance codant pour les carbapénémases (Kaczmarek *et al.*, 2006; Poirel *et al.*, 2003; Rasheed *et al.*, 2008; Weldhagen et Prinsloo, 2004).

Une résistance à l'ertapénème par perte de porine est notée chez des souches de *K. pneumoniae* productrices de CTX-M exposées à des concentrations croissantes d'ertapénème (Grall *et al.*, 2011).

B. Modification de PLP

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

2.2. Résistance aux aminosides

La résistance aux aminosides est essentiellement liée à la production d'enzymes inactivatrices (acétylases, adénylases et phosphorylases). Les gènes codant pour ces enzymes sont présents sur des plasmides (Lin *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2009). Ainsi que la découverte de l'ARNr 16S méthylase, appartenant à la famille du gène *Arm A*, qui code pour des enzymes qui empêchent les aminoglycosides de se lier à leur cible (l'ARNr 16S) (Doi *et al.*, 2016). Ces gènes sont codés par des plasmides dans *K. pneumoniae* (Galimand *et al.*, 2003). D'autres méthylases d'ARNr 16S à médiation plasmidique connues, y compris la famille *Rmt* et la *NpmA*, ont également été trouvées chez *K. pneumoniae* (Krause *et al.*, 2016). La résistance aux aminosides est également associée à des modifications de la perméabilité cellulaire en raison de modifications dans les pompes d'efflux AcrAB-TolC et KpnEF et en raison de la perte de la porine putative, KpnO (Padilla *et al.*, 2010).

2.3. Résistance aux quinolones

2.3.1. Résistance par mutation chromosomique

A. Mutations du gène du site cible

Le mécanisme le plus commun de la résistance de haut niveau est due à des mutations dans les régions de détermination de la résistance de la quinolone (QRDR) d'au moins un des gènes qui codent les cibles de ces médicaments, les topoisomérases de type II et IV (*gyrA*, *parC*), entraînent substitutions d'acides aminés qui modifient structurellement la cible protéine et par la suite l'affinité de liaison au médicament de l'enzyme (Aldred *et al.*, 2014; Redgrave *et al.*, 2014).

B. Mutations entraînant une réduction de l'accumulation de médicament

Les mutations entraînent une réduction de la concentration intracellulaire de médicament, soit par une absorption réduite, soit par une augmentation de l'efflux ou par une combinaison des deux, peut conférer une résistance à la quinolone (Aldred *et al.*, 2014; Redgrave *et al.*, 2014; Hooper et Jakoby, 2016). Un exemple de ces pompes sont deux membres de MFS: KdeA (Ping *et al.*, 2007) et KmrA qui aurait été surexprimé dans un isolât clinique de *K. pneumoniae* RAM (Ogawa *et al.*, 2006).

2.3.2. Résistance par plasmide

Cette résistance est décrite pour la première fois en 1998 chez une souche de *K. pneumoniae* hébergeant un plasmide portant le gène *qnrA* qui code pour une protéine Qnr A (Jacoby *et al.*, 2003) qui protège le complexe ADN-gyrase de l'inhibition par les quinolones (Meradi *et al.*, 2009). Un second mécanisme a été découvert par la suite et consistait en une acétyltransférase modificatrice des aminosides, AAC(6')-Ib-cr. Cette variante est capable d'acétyler l'azote non substitué du cycle pipérazine en C7 que l'on trouve dans les quinolones telles que la ciprofloxacine, conférant ainsi une résistance aux quinolones en diminuant l'activité du médicament (Martínez-Martínez *et al.*, 2008). Le troisième mécanisme est la pompe à efflux *oqxAB* non spécifique (Hansen *et al.*, 2004), qui confère un niveau de résistance aux fluoroquinolones chez *K. pneumoniae* (Holt *et al.*, 2015).

2.4. Résistance à la colistine

Des mutations spécifiques dans les gènes *pmrA* et *pmrB* ont été décrites comme étant responsables de la résistance acquise à la colistine chez *K. pneumoniae* (Nordmann *et al.*, 2016; Cannatelli *et al.*, 2014; Olaitan *et al.*, 2014), ont finalement conduit à des modifications du LPS par l'addition des groupes cationiques (L-Ara4N et pEtN) (Poirel *et al.*, 2017). Ainsi que par des mutations dans les gènes de réglementation *mgrB*, *phoQ*, et *ccrAB*, qui régulent la modification des lipides A bactériens, diminuant la capacité de

l'antibiotique à interagir (**Cannatelli et al., 2013; Jayol et al., 2015; Olaitan et al., 2014; Poirel et al., 2015; Wright et al., 2015**).

2.5. Résistance aux fosfomycines

Fos A est une glutathion dimérique S-transférase dépendante de Mn^{2+} et K^+ , qui catalyse l'addition de glutathion à la fosfomycine, rendant l'antibiotique inactif (**Castaneda-Garcia et al., 2013**). Cette enzyme peut être codé par les plasmides ou les chromosomes. Le gène *Fos A* à médiation plasmidique, tels que *fosA5* et *fosA6*, dont l'origine semble être le chromosome de *K. pneumoniae* (**Ma et al., 2015; Guo et al., 2016**).

2.6. Résistance aux nitrofuranes

Les mécanismes de résistance acquise sont mal connus :

- Résistance par mutations dans les gènes *nfsA* et *nfsB*.
- Diminution de l'accumulation de l'antibiotique (**Cambau et Guillard, 2012**).

2.7. Résistance aux sulfamides

Les gènes *folP*, *sul1*, *sul2*, *sul3* confèrent la résistance aux sulfamides chez *K. pneumoniae* (**Wyres et al., 2016**).

Notre étude a été réalisée au sein du laboratoire central, service microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Blida, elle comporte d'une part l'isolement et l'identification des souches de *Klebsiella pneumoniae* à partir de divers prélèvements provenant de patients externes et de ceux rattachés aux différents services de l'hôpital à savoir les services de réanimation, de Centre Anti Cancer (CAC) hématologie, Oto-Rhino-Laryngologie (ORL), orthopédie, traumatologie, chirurgie générale, neurochirurgie, hématologie, cardiologie rééducation, CAC chirurgie et de néphrologie et d'autre part la détermination du profil de résistance des souches isolées aux antibiotiques. Ce travail a été réalisé durant la période du 3 février au 29 avril 2019.

I. Matériel

1. Types de prélèvements

Durant notre étude 1496 prélèvements ont été réceptionnés au laboratoire de microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Blida et ont été répartis comme suit (Tableau 2).

Tableau 2. Les types de prélèvements

Types de prélèvements	Nombre
Urine	849
Pus	220
Sang	167
Liquide céphalo-rachidien	114
Prélèvements Distal Protégé	62
Prélèvements anaux	46
Cathéter	38

2. Souches de références

Les souches bactériennes utilisées comme témoins dans les tests complémentaires pour l'étude des profils d'antibiorésistances de *K. pneumoniae* sont :

- ❖ *Escherichia coli* ATCC 25922.
- ❖ *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705: Carbapénèmases positive.
- ❖ *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706: Carbapénèmases négative.

3. Matériel non biologique

Notre matériel non biologique consiste aux différents outils de laboratoire, réactifs, et milieux de culture cité en annexe (**Annexe**).

4. Liste des antibiotiques à tester

Les antibiotiques testés contre *K. pneumoniae* selon la recommandation du fascicule de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale version 2014 (**Tableau 3**).

Tableau 3. Antibiotiques testés contre les souches de *K. pneumoniae*

Famille d'antibiotique	Antibiotiques testés	Abréviations	Charges (µg)
Béta-lactamines	Ampicilline	AMP	10
	Amoxicilline	AMX	25
	Amoxicilline / acide clavulanique	AMC	30
	Céfotaxime	CTX	30
	Céfazoline	CZ	30
	Céfalexine	CN	10
	Imipénème	IPM	10
	Ertapénème	ETP	10
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30
	Ciprofloxacine	CIP	5
Aminosides	Amikacine	AK	30
	Gentamicine	GM	15
Sulfamides et associés	Cotrimoxazole	SXT	25
polypeptides	Colistine	CT	10
Fosfomycine	Fosfomycine	FOS	200
Nitrofuranes	Furane	FT	300

II. Méthodes

1. Conduite à tenir devant les différents prélèvements

1.1. Mise en culture des prélèvements

1.1.1. Les urines

La méthode utilisée est celle de KASS modifiée, elle consiste à préparer une dilution en mettant 0,1 ml d'urine bien mélangée dans 9,9 ml d'eau distillée stérile à l'aide d'une pipette calibrée à 0,1 ml ; puis 0,1 ml de cette dilution est ensuite aussitôt étalée sur une gélose nutritive avec un râteau préalablement stérilisé. Cette étape sert à numérotter les bactéries. On ensemence parallèlement l'urine non diluée par stries sur un milieu sélectif BCP (bromocrésol pourpre), ce milieu permet l'isolement des bactéries non exigeantes (**Djennane et al., 2009**).

- **Incubation** : dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

✓ **Lecture**

La numération se fait selon la formule de KASS :

$$N=n.10^2.10 \text{ bactérie/ml}$$

Où: n : Nombre de colonie sur la boîte

10² : Inverse de la dilution

10 : Inverse de l'inoculum

1.1.2. Hémoculture

Il existe deux systèmes ; le système classique qui comporte les anciens flacons et le système automatisé avec les nouveaux flacons.

La mise en culture de sang diffère selon le type de flacon, les anciens flacons sont incubés à 37°C pendant 18 à 24h. Puis sont ensemencés par stries sur milieu BCP sous hotte.

- **Incubation** : dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Tandis que les nouveaux flacons on les mets directement dans l'appareil BD BACTEC™ FX40.

- **Incubation** : pendant 5 jours, sauf pour les prélèvements qui proviennent du service cardiologie l'incubation est de 7 jours.

✓ **Lecture**

L'appareil avertit de toute hémoculture positive grâce à une alarme rouge visuelle et/ou sonore dans ce cas on fait une culture sur milieu BCP. Une alarme verte indique que l'hémoculture est négative (**Denis et al., 2016**).

1.1.3. Liquide céphalo-rachidien et Cathéter

L'ensemencement consiste à prendre 0,1ml (2 gouttes) de prélèvement et les déposés dans le milieu d'enrichissement bouillon BGT, et sur l'extrémité de milieu BCP ; à partir de ce dépôt des stries serrées ont été réalisées.

- **Incubation** : dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

1.1.4. Pus, Prélèvements Distal Protégé, Prélèvements anaux

Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage, les écouvillons reçus sont introduits dans un tube contenant du bouillon d'enrichissement BGT, après en déchargeant en stries condensées, ces écouvillons sur la moitié de la surface des boîtes gélosées de milieu BCP, Puis on ensemence par stries à l'aide de pipette Pasteur.

- **Incubation** : dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

1.2. Identification de *Klebsiella*

L'identification est réalisée selon les étapes suivantes :

1.2.1. Examen macroscopique des colonies

L'étude macroscopique des colonies consiste à noter les caractères suivants: taille, couleur ou pigmentation, forme, aspect de surface, aspect des bords de colonies, consistance, opacité.

1.2.2. Examen microscopique

Il consiste à observer la morphologie des cellules bactériennes et leurs modes de regroupement après coloration de Gram au microscope optique (GX100).

1.2.3. Coloration de Gram

✓ Technique

La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes :

A. Préparation d'un frottis

- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau physiologique puis prélever à l'aide d'une pipette Pasteur une fraction d'une colonie isolée.
- Réaliser le frottis de façon à obtenir un étalement mince et homogène.
- Sécher à l'air libre puis fixer le frottis par 3 passages rapides et brefs de la lame au-dessus d'une flamme d'un Bec Bunsen (frottis situé sur le dessus).

B. Etapes de la coloration différentielle de Gram

- Recouvrir la lame de violet de gentiane pendant 1 minute.
- Rejeter le violet de gentiane et recouvrir de lugol pendant 1 minute.
- Rejeter le lugol, décolorer à l'alcool 95° pendant 5 secondes et rincer immédiatement à l'eau.
- Recouvrir la lame de fuchsine diluée 1/10 pendant 1 minute puis rincer.
- Sécher à la chaleur et examiner à l'immersion (**Denis *et al.*, 2011**).

✓ Lecture

La lecture se fait au grossissement x 100 avec une goutte d'huile à immersion. *K. pneumoniae* et les autres entérobactéries apparaissent colorées en rose (Gram négatif).

1.2.4. Recherche de la catalase

✓ Principe

Il permet de mettre en évidence une enzyme capable de catalyser la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), sous forme d'oxygène gazeuse selon la réaction suivante :



✓ Technique

A partir d'un milieu solide et aérobie, prélever une quantité suffisante de culture à l'aide d'une pipette Pasteur et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame propre.

✓ Lecture

La présence de la catalase est marquée par la formation immédiate des bulles d'O₂, ce qui est le cas des entérobactéries (**Prince, 2009**).

1.2.5. Test de l'oxydase

✓ Principe

Il permet de mettre en évidence la production d'une enzyme « la phénylène diamine oxydase » par la bactérie ; cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine. Dans le cas des entérobactéries, bactéries non productrices d'oxydases, le test doit être négatif.

✓ Technique

Déposer un carré de papier filtre et l'imbiber d'une solution de réactif. À l'aide d'une pipette Pasteur, on écrase une colonie de germes à étudier sur ce papier.

✓ Lecture

La réaction positive à l'oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration violette à l'endroit où la colonie a été déposée (**Prince, 2009**).

1.2.6. Identification biochimique

Cette Identification est faite selon deux méthodes selon la disponibilité des moyens au laboratoire.

A. Galerie classique

➤ Préparation de la suspension bactérienne

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h on racle à l'aide d'une pipette Pasteur stérile quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. On décharge la pipette dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %. On homogénéise la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF déterminée à l'aide d'un densitomètre.

➤ Inoculation de la galerie :

A l'aide d'une pipette Pasteur, les tubes sont remplis par la suspension bactérienne déjà préparée en évitant d'introduire les bulles d'air, l'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 h.

▪ Milieu Clark et Lubs

✓ Principe

A partir du milieu de Clark-Lubs contenant de l'acide pyruvique, la formation d'acide acétique (la formation d'acétoïne ou acétyl-méthylcarbinol « réaction de Voges-Proskauer » [VP]) est étudié.

✓ **Technique**

On met quelques gouttes de la suspension bactérienne dans le bouillon Clark-Lubs.

✓ **Lecture**

Après incubation, on ajoute 5 gouttes de VP1 et 5 gouttes de VP2 ; on fait la lecture après 10 minutes, une couleur rose ou rouge indique une réaction positive (**Denis *et al.*, 2016**).

▪ **Milieu Triple-Sugar-Iron**

✓ **Principe**

Le milieu TSI est un milieu d'identification rapide pour les entérobactéries, permet de mettre en évidence la fermentation du glucose (avec ou sans dégagement gazeux), du lactose, du saccharose et la production de H₂S.

✓ **Technique**

On ensemence à l'aide d'une pipette Pasteur en stries serrées la pente de la gélose puis par piqûre centrale le culot.

✓ **Lecture**

La fermentation du glucose se traduit par le virage du culot au jaune, et la production de gaz se traduit par la formation de bulles de gaz dans la gélose ou le décollement de celle-ci.

La fermentation du lactose et/ou du saccharose se traduit par le virage au jaune de la pente.

Production du H₂S se traduit par noircissement au niveau du culot.

▪ **Milieu citrate de Simmons**

✓ **Principe**

Le milieu citrate de Simmons est utilisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Il permet de rechercher l'utilisation du citrate comme seul source de carbone.

✓ **Technique**

L'ensemencement se fait à l'aide d'une pipette Pasteur par des stries longitudinales de la pente.

✓ **Lecture**

L'utilisation du citrate de Simmons se traduit par un virage de couleur du vert au bleu qui signifie qu'il y a eu une alcalinisation du milieu et que la bactérie possède un citrate perméase plus l'apparition des colonies sur le milieu.

▪ **Milieu urée-indole**

✓ **Principe**

C'est un milieu complexe qui fournit un ensemble de résultats utiles pour la différenciation des entérobactéries. Il permet de rechercher :

❖ **L'uréase**

En présence de cette enzyme, les bactéries uréolytiques peuvent transformer l'urée en ammoniac et en carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu, et qui fait virer l'indicateur coloré de pH (le rouge de phénol) du jaune au rouge-rose en milieu basique.

❖ **La tryptophanase**

Après addition du réactif de Kovacs : le diméthylamino- 4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un anneau coloré en rouge à l'interface du tube.

❖ **La tryptophane désaminase**

La tryptophane désaminase (TDA) est une enzyme qui dégrade le tryptophane en acide indole-pyruvique et NH_3 .

✓ **Technique**

L'ensemencement se fait au moyen d'une pipette Pasteur par l'ajoute de quelques gouttes de la suspension bactérienne dans le milieu urée-indole.

✓ **Lecture**

❖ **L'hydrolyse de l'urée**

Le virage de la couleur de l'orange vers le rouge ou le rose violet signifie qu'il y a eu une alcalinisation du milieu et que la bactérie possède une uréase.

❖ **La tryptophanase**

Après addition du réactif de Kovacs, l'apparition d'un anneau rouge à l'interface du tube montre que la bactérie est indole positif (**Denis *et al.*, 2016**).

❖ **La Tryptophane désaminase**

L'acide indole-pyruvique est mis en évidence grâce à la coloration brune caractéristique.

▪ **Milieu MEVAG (Milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides)**

✓ **Principe**

Les bactéries peuvent utiliser les glucides selon deux voies. La voie fermentative se déroule en absence d'oxygène et les catabolites acides, entraînent une diminution du pH du milieu. Par voie oxydative, l'oxygène est utilisé et peu de catabolites acides sont formés.

✓ **Technique**

Deux tubes de MEVAG sont régénérés à 45°C pour éliminer l'oxygène. Les milieux sont ensuite refroidis complètement etensemencés par piqûre centrale. L'un des deux tubes est recouvert de vaseline.

✓ **Lecture**

Culture positive et acidification dans les deux tubes: métabolisme fermentatif (par exemple entérobactéries) (**Denis *et al.*, 2016**).

▪ **Recherche de décarboxylases (LDC, ODC, ADH)**

✓ **Principe**

Les décarboxylases sont des enzymes qui décarboxylent les acides aminés en formant l'amine correspondante avec dégagement de CO₂, trois décarboxylases sont fréquemment recherchées :

- la lysine – décarboxylase ou LDC (lysine → cadavérine)
- l'ornithine – décarboxylase ou ODC (ornithine → putrescine)
- l'arginine – arginine dihydrolase ou ADH (arginine → agmatine et ornithine)

✓ **Technique**

Les milieux LDC, ODC et ADH sontensemencés par addition de 2 à 3 gouttes de la suspension bactérienne puis sont recouverts avec l'huile de vaseline pour procurer une anaérobiose.

✓ **Lecture**

La lecture des résultats s'effectue après incubation à 37°C pendant 18 à 24 h.

Dans le cas où le milieu vire en jaune il y a eu acidification du milieu liée à l'utilisation du glucose mais il n'y a pas eu réalcalinisation ; le substrat (arginine, lysine ou ornithine) n'a donc pas été dégradé. Et dans le cas où le milieu vire en violet il y a eu acidification du milieu liée à la fermentation du glucose puis il y eu réalcalinisation du milieu liée à la dégradation du substrat (arginine, lysine ou ornithine) par la bactérie (**Denis *et al.*, 2016**).

B. Identification par galerie API 20 E

✓ **Principe**

La galerie API 20 E Bio Mérieux (Appareillage et Procédé d'Identification) est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. Elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. 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 de réactifs.

✓ **Technique**

➤ **Préparation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte
- Sortir la galerie de son emballage
- Placer la boîte dans la boîte d'incubation

➤ **Préparation de l'inoculum**

L'inoculum est préparé de la même façon que la suspension utilisée pour l'inoculation de la galerie classique.

➤ **Inoculation de la galerie**

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant)
- Pour les tests CIT, VP, GEL, remplir tubes et cupules
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules)
- Pour créer une anaérobiose on remplit d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE).
- Refermer la boîte d'incubation
- Incubation à 37°C pendant 18-24 H

➤ Lecture de la galerie

- Après l'incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (**Annexe**) et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel.
- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :
 - Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats
 - Test IND : ajouter 1 goutte de réactif JAMES une couleur rose diffusant dans la cupule indique une réaction positive
 - Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP1 et VP2, attendre au minimum 10 minutes, une couleur rose ou rouge indique une réaction positive

2. Antibiogramme

L'étude de la sensibilité de *K. pneumoniae* aux différentes familles d'antibiotiques a été réalisée par la méthode de l'antibiogramme par diffusion des disques d'antibiotiques sur la gélose Mueller-Hinton.

2.1. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé de la même façon que la suspension utilisée pour l'inoculation de la galerie classique.

2.2. Ensemencement

On ensemence les boîtes par la méthode d'écouvillonnage. On trempe un écouvillon stérile dans l'inoculum, puis on l'essor en le pressant fermement contre la paroi interne du tube. On frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose, de haut en bas en stries serrées. On répète l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. On finit l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

2.3. Application des disques d'antibiotiques

La liste d'antibiotique est indiquée dans le tableau (**page21**). À l'aide d'un applicateur de disques d'antibiotiques, on dépose les disques sur la gélose. Les disques ne sont pas déplacés après leur application. Les deux antibiotiques Amoxicilline/acide-clavulanique (AMC) et Céfotaxime (CTX) ont été déposés dans la même boîte pour vérifier la présence ou l'absence d'une synergie.

- **Conditions d'incubation**

L'incubation des boîtes est réalisée dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

2.4. Lecture

On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle, puis on compare les résultats obtenus aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes (**Annexe**). En plus on vérifie la présence ou l'absence d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les deux disques d'antibiotiques AMC et CTX ce qui signifie la production ou non des enzymes BLSE. Selon les recommandations de CLSI, les bactéries sont classées dans l'une des catégories : sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I).

3. Tests complémentaires de l'antibiogramme

La recherche de la métallo-carbapénèmase a été systématique chez les souches résistantes et/ou de sensibilité réduite à l'imipénème.

3.1. Détection des métallo-carbapénèmases

3.1.1. Test à l'EDTA

- ✓ **Principe**

Ce test consiste à rechercher la métallo-carbapénèmase, inhibées par l'EDTA. Ces enzymes confèrent la résistance aux pénicillines, aux carbapénèmes et aux C3G (céftazidime).

✓ Technique

La recherche de la métallo-carbapénèmase est faite dans les conditions standard de l'antibiogramme, puis on place les disques d'antibiotique comme suit: deux disques d'imipénème (IMP) disposés à une distance de 20 à 30 mm sur les boîtes de Pétri.

On dépose 4 µl d'une solution d'EDTA sur un des disques d'imipénème et on incube pendant 18-24 heures à 37°C.

✓ Interprétation

On compare le diamètre d'inhibition obtenu autour d'un disque IMP+EDTA avec celui d'un disque d'imipénème seul. EDTA inhibe l'enzyme entraînant une augmentation du diamètre d'inhibition du disque IMP+EDTA par rapport au disque IMP seul (CLSI 2014).

3.1.2. Le test de Hodge (test trèfle)**✓ Principe**

Ce test consiste à détecter des métallo-carbapénèmases qui donnent une synergie d'activité enzymatique entre une souche productrice de carbapénèmase et une souche sauvage de référence sensible.

✓ Technique

On prépare une suspension bactérienne de la souche révélatrice (sensibles à la carbapénème) : *E. coli* ATCC 25922, à 0,5 MF dans 5 ml d'eau physiologique et on dilue cet inoculum au 1/10^{ème} (0,5 ml de la suspension de 0,5 MF + 4,5 ml d'eau physiologique). On ensemence une gélose Mueller-Hinton par écouvillonnage et on laisse sécher 3 à 5 mn. Après on dépose un disque d'imipénème au centre de la boîte et on ensemence en stries radiales (du centre à la périphérie de la boîte) la souche à tester, et avec les deux souches de référence (*K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 : carbapénèmase positive) et *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 : carbapénèmase négative). On incube à 37°C pendant 18 à 24 heures.

✓ Lecture

Un test de Hodge est considéré positif quand *Escherichia coli* ATCC 25922 ensemencée par écouvillonnage sur toute la surface du milieu Mueller-Hinton va pénétrer et croître dans le diamètre d'inhibition au contact d'une souche productrice de métallo-carbapénèmase, en donnant un aspect d'invagination de la culture. Cette déformation du diamètre à l'intersection entre une strie et la culture d'*E. Coli* ATCC 25922 signe la présence d'une hydrolyse des carbapénèmes par la souche testée. Le test est considéré négatif quand il n'y a aucune modification du diamètre d'inhibition d'*Escherichia coli* ATCC 25922 au contact des souches étudiées (CLSI 2014).

Résultats

1. Diagnostic microbiologique

1.1. Résultats de l'isolement

Durant notre travail au laboratoire central du service microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Blida, du 3 février jusqu'au 29 avril 2019, 1496 prélèvements ont été analysés. Après mise en culture et incubation pendant 18 à 48h, nous avons obtenu 1084 cultures négatives et 412 cultures positives soit 72% et 28% respectivement (**Figure 12**).

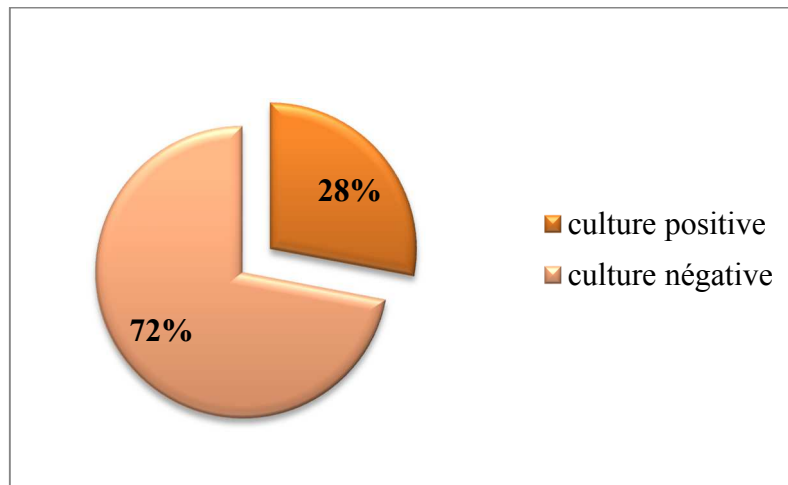


Figure 12. Les taux de cultures positives et cultures négatives

1.1.1. Résultats de l'étude morphologique

L'examen macroscopique des cultures a montré des colonies souvent très muqueuses parfois filantes, larges, luisantes, avec une couleur blanchâtre (**Fauchère et Avril, 2002**) (**Figure 13**), celles-ci ont fait l'objet d'une coloration de Gram.



BCP

Gélose nutritive

Figure 13. Aspect des colonies sur les milieux d'isolement

L'examen microscopique après coloration des colonies par la coloration différentielle de Gram a révélé les caractéristiques micro-morphologiques de *Klebsiella* pour certaines colonies, à savoir la présence de bacilles ou diplobacilles colorés en rose. Donc ce sont des bacilles à Gram négatif (Gueye, 2007).

1.1.2. Etude biochimique

Les tests enzymatiques effectués sur les colonies bactériennes, identifiées d'une manière présomptive comme *Klebsiella* (sur la base de la caractérisation morphologique et coloration de Gram), ont révélé une réaction négative à l'oxydase (**oxydase -**) (Annexe) et positive à la catalase (**catalase +**) (Annexe). L'ensemble des souches présentant ces caractéristiques, ont été identifiées par la galerie API 20 E ou galerie classique (Annexe). Après lecture, codification des résultats et leur interprétation par le logiciel API 20 E, 77 souches ont été rattachées à *K. pneumoniae*.

2. Taux de *K. pneumoniae* dans les prélèvements

Parmi les 412 bactéries isolées, 18,69 % (soit 77 souches) sont des *K. pneumoniae*, tandis que 81,31 % (soit 335 souches) appartiennent à d'autres espèces bactériennes (Figure 15).

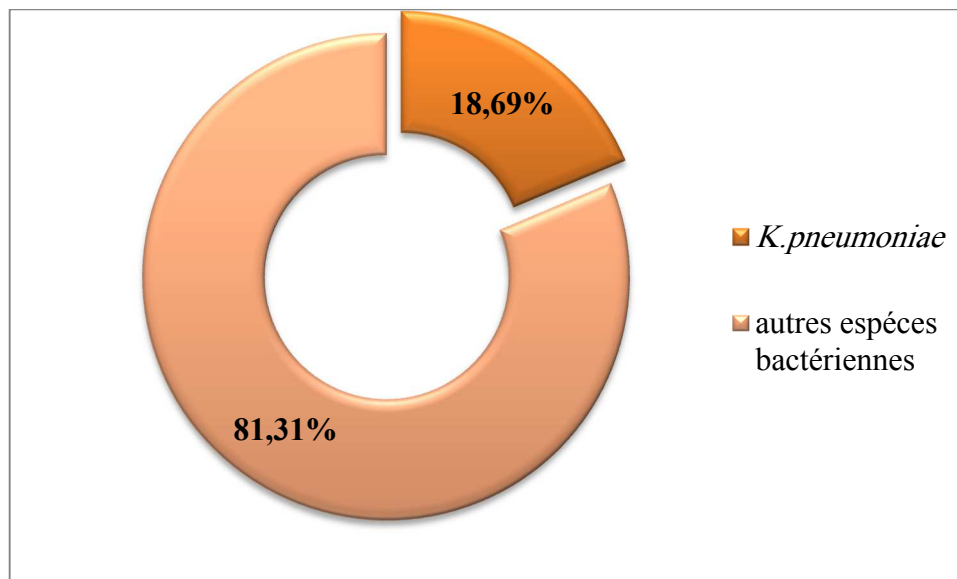


Figure 14. Le taux d'isolement de *K. pneumoniae* par rapport à d'autres espèces bactériennes

2.1. Répartition des souches de *K. pneumoniae* selon la nature des prélèvements

Les 77 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées à partir d'une grande variété de prélèvements cliniques. Nous avons constaté leur présence dans la majorité des prélèvements, principalement urinaires avec un taux de 24,67%, suivi du pus et les prélèvements distal protégé avec un taux de 20,77%, et du sang avec un taux de 19,48%, les prélèvements anaux

avec un taux de 9,09%, Liquide céphalo-rachidien et Cathéter avec un taux de 2,59%. (Tableau 4, Figure 16).

Tableau 4. Répartition des souches de *K. pneumoniae* selon la nature des prélèvements

Nature des prélèvements	Nombre de souches de <i>K. pneumoniae</i>
Urine	19
Pus	16
Prélèvements Distal Protégé	16
Sang	15
Prélèvements anaux	7
Cathéter	2
Liquide céphalo-rachidien	2

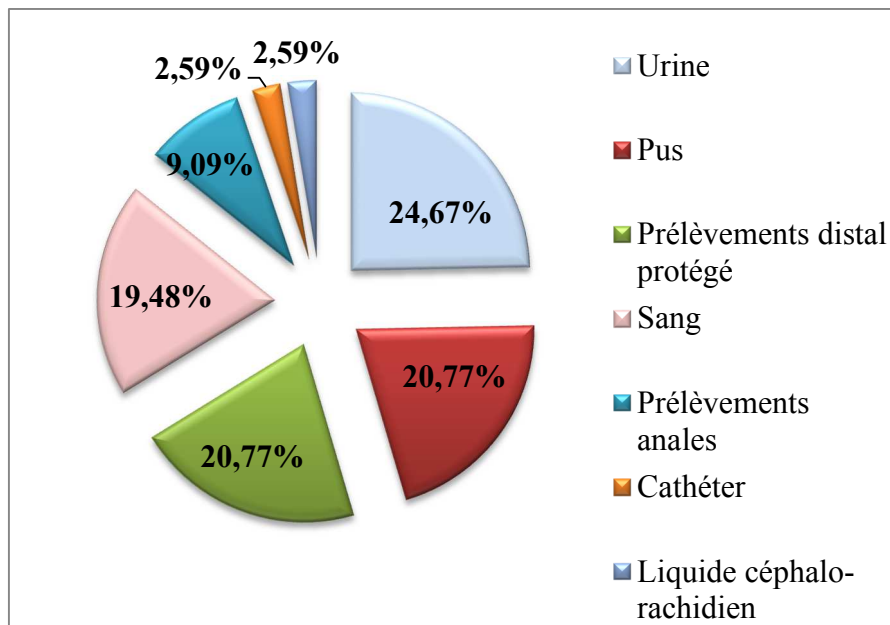


Figure 15. Répartition des souches de *K. pneumoniae* selon la nature des prélèvements

2.2. Répartition des souches de *K. pneumoniae* selon les services

Nous avons isolés 19 souches chez les patients externes (soit 24,7 %) et 58 souches chez les patients hospitalisés (soit 75,3%). Parmi les souches isolées en milieu hospitalier, le

service de réanimation médicale occupe la première place avec 36,36% des souches isolées, suivi par le Centre Anti-Cancer(CAC) hématologie avec 11,7%, le service Chirurgie générale avec 5.2%, Traumatologie avec 3,9%, orthopédie, néphrologie, Oto-Rhino-Laryngologie (ORL), rééducation, CAC chirurgie, hématologie avec 2,59% et cardiologie, neurochirurgie avec 1,30% (Tableau 5, Figure 17).

Tableau 5. Répartition des souches de *K. pneumoniae* par service

Origine des prélèvements		Le nombre de souches de <i>K. pneumoniae</i>	Taux de souches de <i>K.pneumoniae</i> (%)
Hôpital	Réanimation médicale	28	75,30%
	Centre Anti-Cancer Hématologie	9	
	Chirurgie générale	4	
	Traumatologie	3	
	Orthopédie	2	
	Néphrologie	2	
	Oto-rhino-laryngologie	2	
	Rééducation	2	
	Centre Anti Cancer Chirurgie	2	
	Hématologie	2	
	Cardiologie	1	
Neurochirurgie	1		
Externe		19	24,7
Total		77	100

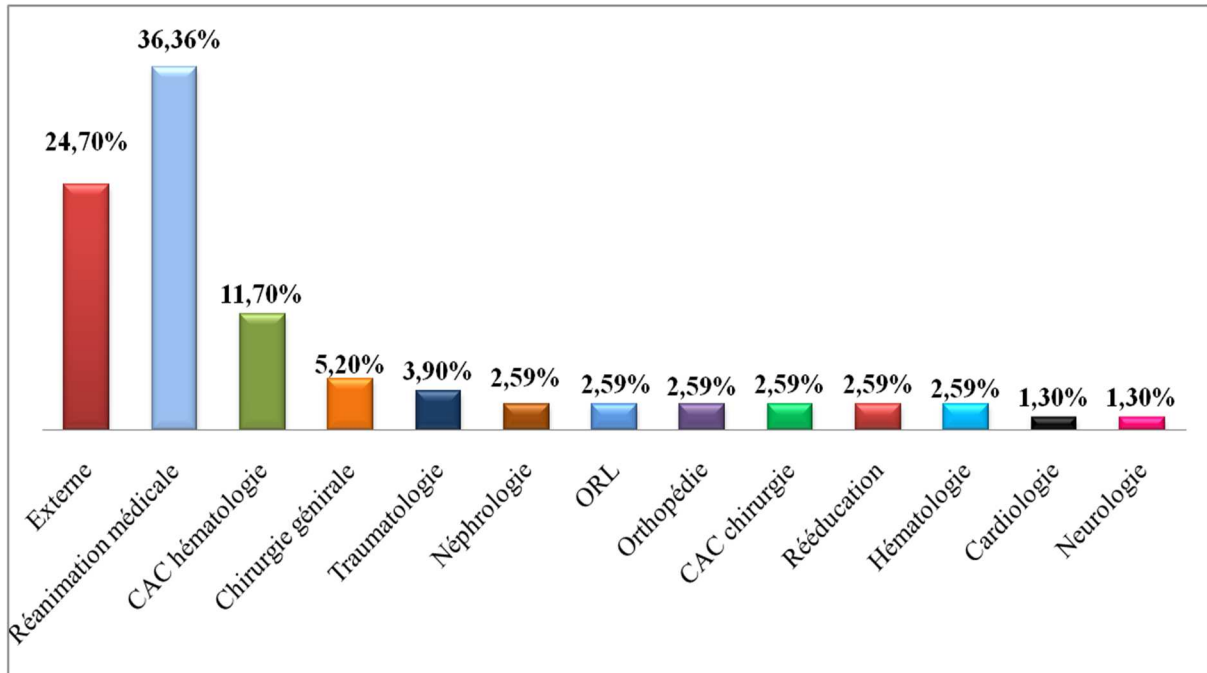


Figure 16. Répartition des souches de *K. pneumoniae* par service

3. Profil de résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques

3.1. Résultat de l'antibiogramme

Toutes les souches de *K. pneumoniae* ont été testées vis-à-vis de 16 molécules d'antibiotiques appartenant à 7 familles différentes (Figure 18).

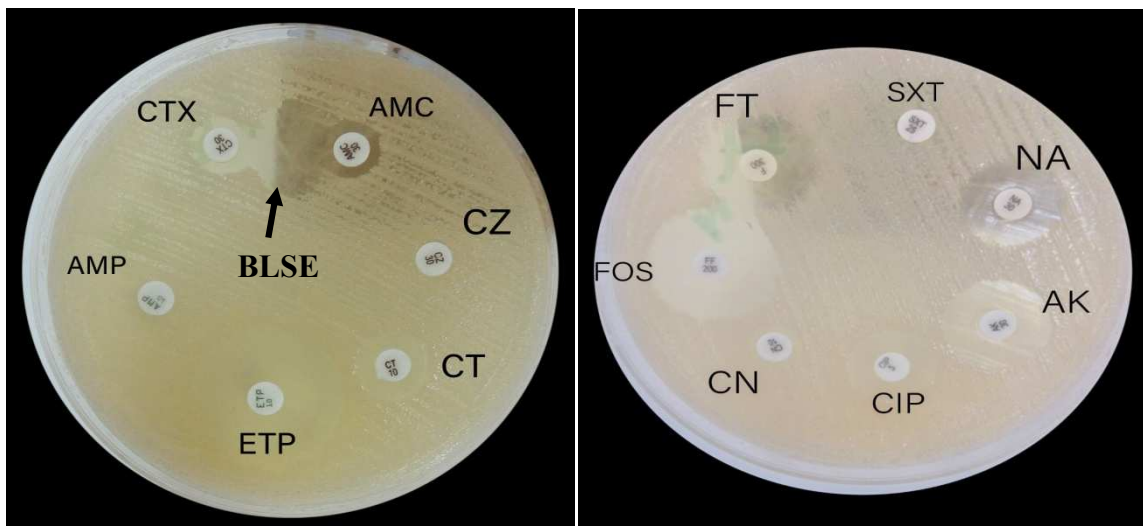


Figure 17. Résultat de test de l'antibiogramme

AMP : Ampicilline, CTX : Céfotaxime, AMC: Amoxicilline + acide clavulanique, CZ : Céfazoline, CT: Colistine, ETP : Ertapénème, SXT: Cotrimoxazole, NA : Acide nalidixique, AK : Amikacine, CIP: Ciprofloxacine, CN :Céfalexine, FOS : Fosfomycine, FT : Furane.

Selon les résultats des antibiogrammes, les souches de *K. pneumoniae* étudiées présentent une résistance plus ou moins importante vis-à-vis la famille des bêta-lactamines. La résistance étant totale vis-à-vis de l'ampicilline, et de l'amoxicilline, et de (72,72%) vis à vis de l'amoxicilline / acide clavulanique. Concernant la céfazoline et le céfotaxime, ces derniers présentent des taux de résistance respectivement de (70, 12%) et de (69,73%), par contre pour l'imipénème, ce taux est de (22,22 %) et pour, l'ertapénème il est de(15,38%) suivi par une faible résistance (5,88 %) à la Céfalexine (**Figure 19**).

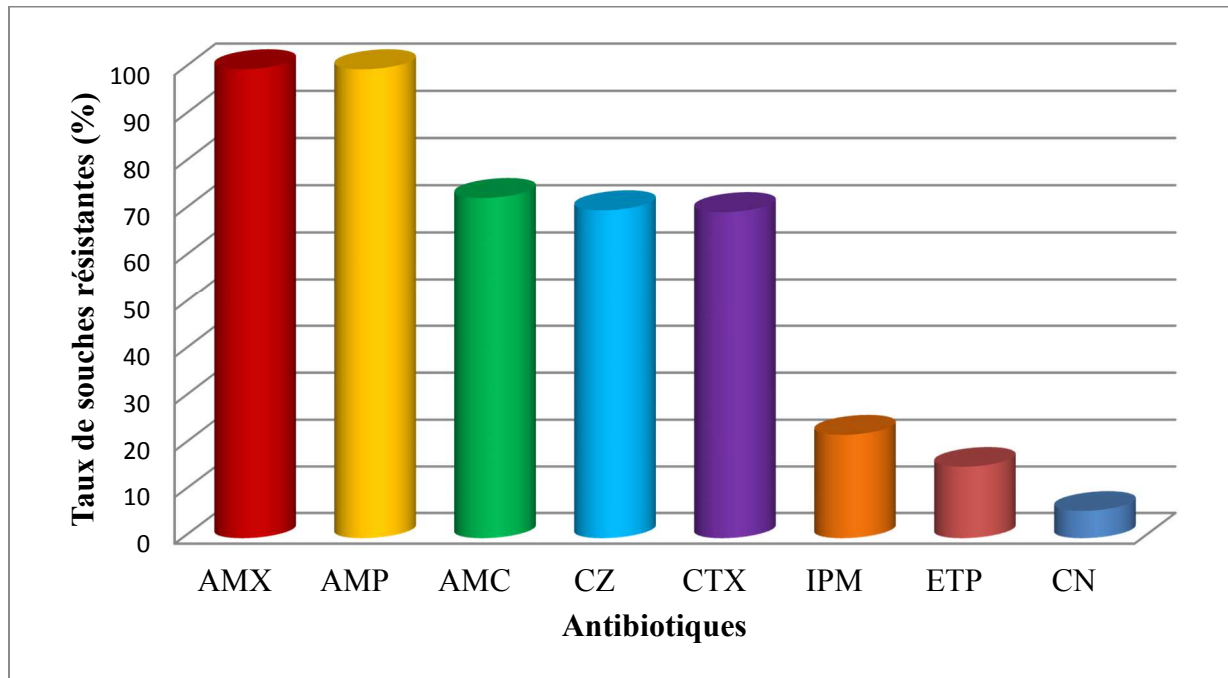


Figure 18. Taux de résistance de *K. pneumoniae* aux bêta-lactamines

AMX: Amoxicilline, **AMP :** Ampicilline, **AMC:** Amoxicilline + acide clavulanique, **CZ :** Céfazoline, **CTX :** Céfotaxime, **IPM :** Imipénème, **ETP :** Ertapénème, **CN :** Céfalexine.

Concernant les autres classes d'antibiotiques, un taux de (77,77%) est noté pour le furane. Pour les aminosides, le taux de résistance le plus important est noté contre la gentamicine (57,37%) suivi de l'amikacine (29,23%). Pour les quinolones, les souches de *K. pneumoniae* présentent des taux de résistances respectivement de (55,26%) pour l'acide nalidixique et de (54,66 %) pour la ciprofloxacine. Pour le cotrimoxazole est de (66,23%) suivi par une très faible résistance contre la fosfomycine (5,26%) et la colistine (1,36 %) (**Figure 20**).

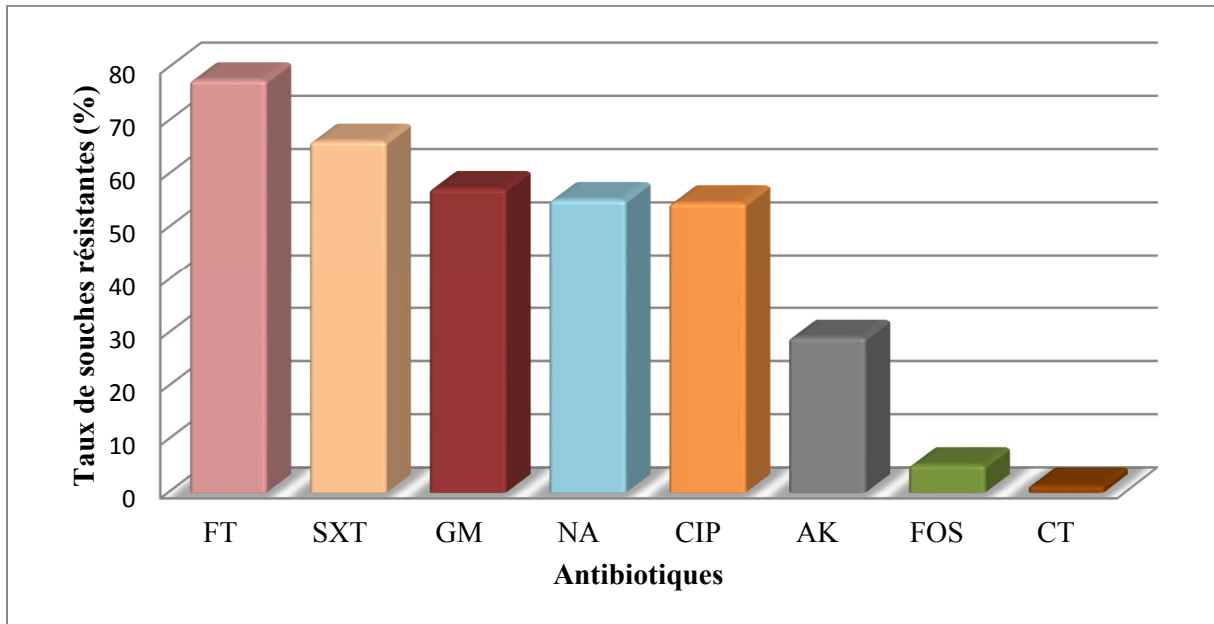


Figure 19. Taux de résistance de *K. pneumoniae* aux autres classes d'antibiotiques

FT : Furane, **SXT**: Cotrimoxazole, **GM**: Gentamycine, **NA** : Acide nalidixique, **CIP**: Ciprofloxacine, **Ak** : Amikacine, **FOS** : Fosfomycine, **CT** : Colistine.

4. Résultats des tests complémentaires de l'antibiogramme

Les tests complémentaires de l'antibiogramme ont révélé phénotypiquement deux mécanisme de résistances enzymatiques chez les souches de *K. pneumoniae* testées : bêta-lactamases à spectre étendu, métallo-carbapénémases (**Tableau 6**).

La production de BLSE a été observée pour les 31 souches (soit 40,25%) de *K. pneumoniae*.

Les tests phénotypiques EDTA et HODGE ont permis de mettre en évidence l'enzyme métallo-carbapénémase produite par 14 souches (soit 18,18%) (**Figure 21,22**).



Figure 20. Résultat du test à l'EDTA (résultat positif)

IMP : Imipénème, **EDTA** : Éthylènediaminetétraacétique

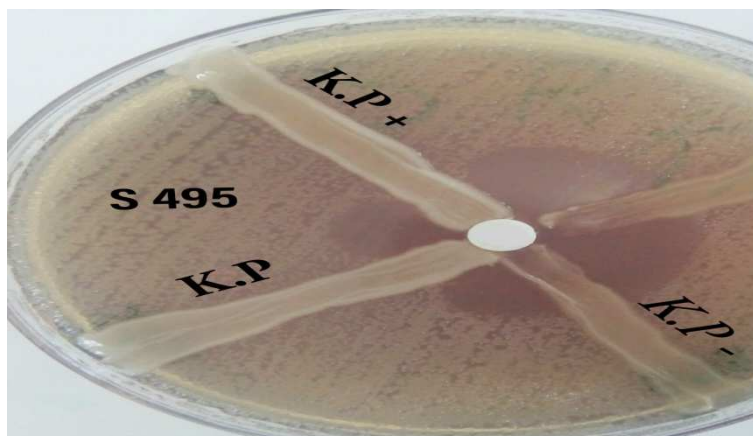


Figure 21. Résultat du test Hodge (résultat positif)

K.P + : *K. pneumoniae* (Carbapénèmases positive+), **K.P-** : *K. pneumoniae* (Carbapénèmases négative-), **K.P** : souche de *K. pneumoniae* à tester .

Tableau 6. Phénotypes de résistance de *K. pneumoniae*

BLSE +		Métallo- carbapénèmase+
Souches	S311	
BLSE+		Métallo- carbapénèmase -
Souches	S682,S769, S1015, S1032, S1287, S181, S201,S202, S273, S319,S359, S360, S362,S379,S402,S403,S456,S549,S595,S611,S641,S96,S121,S125,S147,S161,S197,S257 ,S261 et S32	S342, S357, S360, S413, S475, S500, S680, S682, S717, S769, S941,S1015, S1032, S1143, S1203, S1209, S1240, S1241, S1287, S181, S201, S202. , S224, S254, S260, S268, S273, S319, S340, S359, S362, S365, S379, S381, S402, S403, S456, S457, S490, S542, S549 S573, S595, S611, S633, S641, S653, S96, S121, S125, S147,S161, S189, S197, S227, S257, S261, S272, S274, S106, S132, S32 et S40.
BLSE Non déterminé par le test double disque		Métallo- carbapénèmase+
Souches	S342, S357, S413, S475, S680,S1143, S1203, S1209,S1240,S1241, S181,S224, S254,S260, S268,S340 S365, S381,S398, S427, S446, S457, S458, S488, S490,S495, S522, S542, S557,S558, S573,S633, S653, S673,S96,S161, S169, S189, S192, S193, S197, S227, S272, S274, S106,S32 .	S 398, S427, S446, S458, S488, S495, S522, S557, S558, S673, S169, S192 S193

Discussion

Au cours de notre étude, nous avons analysé 1496 prélèvements, dont 28% se sont révélés positifs. Parmi les 412 prélèvements positifs, nous avons isolé 77 souches de *K. pneumoniae*, ce qui correspond à une fréquence de 18,69%. Des taux relativement similaires ont été trouvés par Hamze *et al.* (2003) (23,7%), Ben moussa (2016) (23,28%), Daffe (2018) (16,91%). Cependant, une prévalence largement inférieure à nos résultats a été signalée par Fayolle-Pivot *et al.* (2014) (3%). Les souches de *K. pneumoniae* ont été isolées de différents types de prélèvements analysés, en particulier ceux provenant des patients hospitalisés avec une fréquence de 75,30%. Les 24,7% restant proviennent des malades externes mais ayant récemment séjournés à l'hôpital, ce qui confirme le caractère nosocomial des infections à *K. pneumoniae* (El Rhazi *et al.*, 2007; Nejari *et al.*, 2000).

Globalement le profil bactériologique des isolats est marqué par une prédominance de *K. pneumoniae* provenant du service de réanimation médicale (36,36%) par rapport aux autres services, cela est dû à l'immunodépression des patients hospitalisés. Une étude réalisée à l'hôpital universitaire de Constantine a montré que 34,7% des souches de *K. pneumoniae* proviennent également des services de réanimation, Arafa *et al.* (2009).

Les prélèvements urinaires sont montrés la présence de cette bactérie avec une fréquence de (24,67 %). Nos résultats concordent avec l'étude réalisée par El-Badawy *et al.* (2017) et Arafa *et al.* (2009) qui notent la présence de *K. pneumoniae* avec (25,08%) et (25,2%) respectivement.

Le pus et le prélèvement distal protégé sont la seconde source de *K. pneumoniae* avec un taux similaire de 20,77%. La plupart de ces prélèvements proviennent des patients hospitalisés. Nos résultats corroborent avec l'étude de Kumar (2013) qui a révélé la présence de *K. pneumoniae* dans 21,1 % des prélèvements de pus. Cependant, Arafa *et al.* (2009), montrent un taux de 46,5%, ce taux est nettement supérieur à celui que nous avons trouvé dans notre étude.

En ce qui concerne le prélèvement distal protégé, un taux inférieur à celui que nous avons obtenu a été révélé par Kabil (2018) soit (12,5%) contre 20,77%.

Le sang vient en troisième position avec un taux de 19,48 %, ce taux est supérieur à celui trouvé par Aljanaby et Alhasani (2016) (13,63%) et Nepal *et al.* (2017) (7,7%).

K. pneumoniae peut être aussi la cause des bactériémies liée au cathéter avec un taux de 2,59%. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Ferreira *et al.* (2018) soit (4%). Par contre l'étude réalisée par Gahlot *et al.* (2014) montre un taux de 8%.

Nous signalons que 2,59 % des souches de *K. pneumoniae* ont été isolées du LCR. Cependant, les résultats obtenus par Qadeer *et al.* (2016) montrent qu'aucune souche n'a été isolée à partir de LCR.

Le profil de résistance aux antibiotiques des souches de *K. pneumoniae* isolées a été déterminé par la technique de l'antibiogramme vis-à-vis de 16 antibiotiques.

Les résultats que nous avons obtenu montrent que toutes les souches étudiées sont résistantes à l'ampiciline et à l'amoxiciline, avec un taux de résistance de 100%, ces résultats sont donc en parfait accord avec les résistances naturelles de ces bactéries mentionnées par Gavar et Briffaud (2009) et Labani (2016).

Nos résultats montrent également, que la fréquence de résistance de *K. pneumoniae* à l'association amoxicilline-acide clavulanique est de l'ordre de 72,72%, ce qui est similaire aux résultats obtenus par Tony Jonan (2014) (66,7%). Le céfazoline présente un taux de 70,12 %, ce taux se rapproche de celui obtenu par Sekhri-arafa (2011) (73,07%). Concernant le céfotaxime, ce dernier présente un taux de résistance de 69,73% comparable au taux trouvé par Arafa *et al.* (2009) soit 67%.

Les carbapénèmes représentent la dernière ligne de défense dans l'armement antimicrobien contre les infections sérieuses ou invasives (Arafa *et al.*, 2009). Une activité de l'imipénème a été notée dans notre étude avec une résistance de 22,22%. Ce résultat est très différent de celui de Guillermo *et al.* (2013) où un taux de résistance de 4,3 % a été révélé en 2013. Shahi *et al.* (2019) ont obtenu un taux de 31,7%, ce taux est plus ou moins similaire à celui que nous avons obtenu. La résistance à l'ertapénème est de l'ordre de 15,38%. Cependant, l'étude d'Ali Abdel Rahim et Ali Mohamed (2012) a révélé un taux bien plus supérieur à celui que nous avons obtenu soit 46,16%.

L'étude réalisée par Nepal *et al.* (2017) a révélé une résistance au céfalexine avec un taux de 94,9 %, ce qui est nettement plus élevé à celui trouvé dans notre étude (5,88%).

En ce qui concerne le nitrofurane, *K. pneumoniae* présente un taux de résistance de 77,77%. Ce résultat se rapproche de celui de Shanmugam *et al.* (2016), qui rapportent un taux de résistance de 64,4%.

Pour la cotrimaxazole, les souches de *K. pneumoniae* présentent un taux de résistance de 66,23 % comparable au taux obtenu par Shahi *et al.* (2019) (69,2%).

Concernant les aminosides, on assiste à l'émergence d'une résistance importante pour la gentamicine avec 57,37%, cette valeur est proche à celle trouvée par Pandeya *et al.* (2017)

(60%). La résistance à l'amikacine, est de 29,23%. Ce taux est similaire à celui trouvé en Iraq (28,12%) (Aljanaby et Alhasani, 2016).

Notre travail montre que la résistance des souches de *K. pneumoniae* aux quinolones atteint un taux de 55,26% à l'acide nalidixique. Nos résultats se rapprochent à ceux obtenus par l'étude menée par Ben Moussa (2016) qui montre un taux de résistance de 53,85%. La ciprofloxacine présente un taux de 54,66 %. Ce qui concorde avec celle de Ghazal *et al.* (2017) (53,3%) par contre ce taux est largement inférieure à celle trouvée au Cameroun et qui est de 13.64% (Ndip *et al.*, 2001).

Nos souches ont montré un faible taux de résistance à la fosfomycine et à la colistine soit (5,26%) et (1,36%) respectivement, ce résultat semble être proche à celui de Daffe (2018) (6,25%) et de Kabil (2018) (3,37%).

Dans notre étude 31 souches de *K. pneumoniae* (soit 40,25%) produisent des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Nos résultats sont très proches de ceux trouvés par Tahou (2017) et Saye (2011), 41% et 43,4% respectivement. Selon le réseau national de surveillance des bactéries résistantes en Algérie, en 2017, la production de BLSE a été estimée à 48,53 % et que le nombre de souches de *K. pneumoniae* productrices des bêta lactamases à spectre étendu (BLSE) est augmenté (Benslimani *et al.*, 2017).

Notre travail révèle que 14 souches de *K. pneumoniae* (18,18%) sont productrices de métallos bêta-lactames. Ce taux est similaire à celui trouvé par Bora *et al.* (2014) (21,08 %). Cependant, l'étude réalisée par Deshmukh *et al.* (2011) montre un taux de 31,6%.

Conclusion

La résistance bactérienne aux agents antimicrobiens est un problème d'importance croissante en pratique médicale. La dissémination des bactéries résistantes est à l'origine d'une augmentation considérable de la mortalité, ainsi que du coût des traitements. Parmi les bactéries multirésistantes (BMR), *Klebsiella pneumoniae* est la plus redoutable car elle est productrice de bêta-lactamases et possède d'autres mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques.

Notre travail nous a permis d'isoler soixante dix sept souches de *K. pneumoniae* à partir de divers prélèvements pathologiques au niveau du CHU de Blida. Cette espèce est isolée avec une fréquence plus au moins importante. La majorité des souches proviennent des prélèvements urinaires des patients externes et de pus et de prélèvement distal protégés des patients hospitalisés dans le service de réanimation.

L'évaluation de l'antibiorésistance des souches isolées aux antibiotiques recommandés pour le traitement des infections à *K. pneumoniae* a révélé une diminution de l'efficacité de la majorité des molécules testées. Nous notons une résistance importante aux trois β -lactamines (Amoxicilline + acide clavulanique, Céfazoline, Céfotaxime) testées par toutes les souches isolées. Cela est dû à la production de différentes enzymes qui dégradent ces molécules. Par ailleurs, le céfalexine, l'ertapénème, l'imipénème, la colistine et le fosfomycine restent les molécules les plus actives.

La mauvaise application des mesures préventives ainsi que la dispensation libre des antibiotiques seraient incriminées dans l'augmentation de la résistance. Alors qu'elles étaient limitées à l'environnement hospitalier, ces bactéries multirésistantes sont devenues un problème majeur d'infections communautaires.

Ainsi, une politique de surveillance régulière de la résistance aux antibiotiques doit être mise en place dans les centres de santé afin de limiter l'émergence des BMR en Algérie. De même que la prescription et l'usage des antibiotiques devraient être repensés.

Références bibliographiques

A

Aldred K.J., Kerns R.J. and Osheroff N. (2014). Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry.*, **53** : 1565–1574.

Ali Abdel Rahim K.A. and Ali Mohamed A.M. (2014). Prevalence of Extended Spectrum β -lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Clinical Isolates. *Jundishapur. J.Microbiol.*, **7** : e17114.

Aljanaby A.A.J. and Alhasani A.H . (2016). Virulence factors and antibiotic susceptibility patterns of multidrug resistance *Klebsiella pneumoniae* isolated from different clinical infections . *African Journal of Microbiology Research.*, **10** : 829-843.

Andriole V.T. (2005). The quinolones: past, present, and future. *Clin. Infect. Dis.*, **41**: 113-119.

Arafa N., Smati F., Scheftel J.M. and Meunier O. (2009). Caractérisation phénotypique et génotypique de souche de *Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae* isolées a l'hôpital universitaire de Constantine, Algeria. *Sciences and Technologie.*,43-49.

Ashurst J.V. Dawson A. (2018). *Klebsiella Pneumonia*. In: StatPearls [Internet].

Azimi L., Talebi M., Pourshafie M. R., Owlia P. and Rastegar L. A. (2015). Characterization of carbapenemases in extensively drug resistance *Acinetobacter baumannii* in a burn care center in Iran. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine.*, **4** : 46-53.

B

Bambeke F.V., Glupczynski G., Mingeot-Leclercq M. and Tulkens P.M. (2010). Mechanisms of action. In: Jonathan Cohen, Infectious Diseases, 3rd edition, Elsevier Limited (Eds) . pp. 1288-1307.

Bansal S., Harjai K. and Chhibber S. (2015). *Aeromonas punctata* derived depolymerase improves susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* biofilm to gentamicin. *BMC.Microbiology.*, **15** : 119.

Bauernfeind A., Schneider I., Jungwirth R., Sahly H. and Ullmann U. (1999). A novel type of AmpC beta-lactamase, ACC-1, produced by a *Klebsiella pneumoniae* strain causing nosocomial pneumonia. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **43** : 1924–1931.

Bellifa S., Hassaine H., Kara Terki I., Didi W., M'hamedi I., Lachachi M., Benamar I., Morghad T. and Gaouar S. (2016). Study of Biofilm Production and Antimicrobial Resistance Pattern of *Klebsiella Pneumoniae* Isolated from Urinary Catheter at the University Hospital of Tlemcen. *American Journal of Microbiology and Biotechnology.*, **3** : 13-17.

Benmoussa A. (2016). Profil de sensibilité des entérobactéries aux fluoroquinolones au CHU de Rabat . Thèse de doctorat, université Mohammed v- Rabat .29 p.

Benslimani A., Benamrouche N., Ouar-korichi M., Bouhraoua S., Mahieddine C. (2017). Etat de la résistance aux antibiotiques et surveillance des bactéries multi-résistantes (BMR). In. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 18ème Rapport d'évaluation. 145 p.

Berrazg M., Seydina M. D ., Drissi M., Kempf M., Richet H., Landraud L. and Rolain J.M. (2013). Biotyping of Mullidrug Resistan *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates from France and Algeria Using MALDITOF.MS., **8** :1.

Bora A., Sanjana R., Jha B.K., Mahaseth S.N. and Pokharel K. (2014). Incidence of metallo-beta-lactamase producing clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in central Nepal. *BMC. Res. Notes.*, **7**:557.

Boston Medical Research Occupational Health Program. (2012). Available at <http://www.bu.edu/rohpf/files/2012/08/KPC-Klebsiella.pdf>

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

Boukadida J., Salem N., Hannachi N., Monastiri K., Snoussi N. (2002). Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêtalactamase à spectre étendu. *Arch Pédiatr.*, **9** : 463-468.

Broberg C.A., Palacios M. and Miller V.L. (2014). *Klebsiella*: a long way to go towards understanding this enigmatic jet-setter. *F1000Prime Reports.*, **6** : 64.

Burchall J. (1973). Mechanism of Action of Trimethoprim-Sulfamethoxazole: II. *The Journal of Infectious Diseases.*, **128** : S437-S441.

Bush K. and Jacoby G.A. (2010). Updated functional classification of betalactamases. *Antimicrob. Agents. Ch.*, **54** : 969–976.

Buxeraud J. Faure S. (2016). Les aminosides ou aminoglycosides. *Actualités Pharmaceutiques.*, **55** : 13-16.

Buxeraud^a J. Faure^b S. (2016). Les quinolones et les sulfamides. *Actualités Pharmaceutiques .*, **55** : 17-22.

C

Calbo E. and Garau J. (2015). The changing epidemiology of hospital outbreaks due to ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*: the CTX-M-15 type consolidation. *Future Microbiol.*, **10** : 1063–1075.

Cambau E. and Guillard T. (2012). Antibactériens agissant sur la synthèse et la conformation des acides nucléiques. *Rev. sci. tech.*, **31**: 65-76.

Cannatelli A., D’Andrea M.M., Giani T., Di Pilato V., Arena F., Ambretti S., Gaibani P. and Rossolini G.M. (2013). In vivo emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-type carbapenemases mediated by insertional inactivation of the PhoQ/PhoPmGrB regulator. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **57** : 5521–5526.

Cannatelli A., Di Pilato V., Giani T., Arena F., Ambretti S., Gaibani P., D’Andrea M.M. and Rossolini G.M. (2014). In vivo evolution to colistin resistance by PmrB sensor kinase mutation in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* is associated with low-dosage colistin treatment. *Antimicrob. Agents. Chemother .*, **58** : 4399–4403.

Carrër A., Poirel L., Yilmaz M., Akan O.A., Feriha C., Cuzon G., Matar G., Honderlick P. and Nordmann P. (2010). Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **54** : 1369-1373.

Castaneda-Garcia A., Blazquez J. and Rodriguez-Rojas A. (2013). Molecular mechanisms and clinical impact of acquired and intrinsic fosfomycin resistance. *Antibiotics.*, **2**:217-236.

Cattoir V. (2008). Les nouvelles beta-lactamases à spectre étendu (BLSE). *Pathologie infectieuse en réanimation.*, MAPAR. 204-209.

Cattoir V. (2012). Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Rev. Francoph. Lab.*, **445** : 79-87.

Chaves J., Ladona M.G., Segura C., Coira A., Reig R. and Ampurdanés A. (2001). SHV-1 β -lactamase Is Mainly a Chromosomally Encoded Species-Specific Enzyme in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial. Agents and Chemotherapy.*, **10** : 2856-2861.

Clave N. (2013). Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie.1-2.

Clegg S. Murphy C.N. (2016). Epidemiology and virulence of *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiol. Spectrum.*, **4** : UTI-0005-2012.

Colodner R. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: a challenge for clinical microbiologists and infection control specialists. *Am. J. Infect. Control.*, **33** : 104-107.

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

D

Daffe F. M. (2018). Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées au laboratoire Rodolphe merieux de 2016 à 2017. Thèse de doctorat. Université des Sciences des Techniques et Des technologies de Bamako . 49 p.

Decré D. (2012). *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques : un modèle d'adaptation. *Revue francophone des laboratoires.*, **441**: 43-52.

Demoré B., Grare M. and Duval R. (2012). Pharmacie clinique et thérapeutique. Chapitre 40 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Elsevier Masson (Eds). pp.198.

Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. and Quentin R. (2016). Bactériologie médical. Techniques usuelles. Elsevier Masson (Eds). Paris. pp. 30-32 317-318.

Denis F., Poly M.C., Martin C., Bingen E. and Quentin R. (2011). Bactériologie medical. pp.75.

Deris Z.Z., Akter J., Sivanesan S., Roberts K.D., Thompson P.E., Nation R.L., Li J. and Velkov T. (2013). A secondary mode of action of polymyxins against Gram-negative bacteria involves the inhibition of NADH-quinone oxidoreductase activity. *J. Antibiot.*, **67** : 147–151.

Deshmukh D. G., Damle A. S., Bajaj J. K., Bhakre J. B. and Patwardhan N. S. (2011). Metallo- β -lactamase-producing clinical isolates from patients of a tertiary care hospital. *Journal of laboratory physicians.*, **3** : 93–97.

Dima K. (2016). Résistance aux antibiotiques chez *Mycoplasma bovis* : mécanismes moléculaires et évolution en France. Thèse de doctorat, Université de Claude Bernard Lyon 1. Microbiologie et Parasitologie. Français. 55 p.

Djennane F., Mohammedi D., Tiouit D., Touati D. and Rahal K. (2009). Examen Cytobactériologique des Urines. (E.C.B.U). Chapitre II : Examen Cytobactériologique des Urines. IPA – Techniques Microbiologiques. pp.35.

Doi Y., Wachino J. and Arakawa Y. (2016). Aminoglycoside resistance: the emergence of acquired 16S ribosomal RNA methyltransferases. *Infect. Dis. Clin. N. Am.*, **30**:523–37.

Dong Y., Chellius M.K., Brisse S., Kozyrovska G. and Triplet E.W. (2003). Comparisons between two *Klebsiella*: the plant endophyte *K.pneumoniae* 342 and clinical isolate *K.pneumoniae* MGH78578. *J.Symbiosis.*, **35**: 247–259.

Dortet L., Bonnin R., Jousset A., Gauthier L. and Naas T. (2016). Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance ! *J.Anti-Infect.*, **18** : 139–159.

E

Ebimicowei E. Ibemologi A. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research.*, **4** : 90-101.

El Rhazi K., Elfakir S., Berraho M., Tachfouti N., Serhier Z., Kanjaa C., Nejari C. (2007). Prévalence et facteurs de risque des infections nosocomiales au CHU Hassan II de Fès (Maroc) . *La Revue de Santé de la Méditerranée orientale.*, **13** : 56-63.

El-Badawy M.F., Tawakol W.M., El-Far S.W., Maghrabi I.A., Al-Ghamdi S.A., Mansy M.S., Ashour M.S. and Shohayeb M.M. (2017). Molecular Identification of Aminoglycoside Modifying Enzymes and Plasmid Mediated Quinolone Resistance Genes among *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates Recovered from Egyptian Patients. *International Journal of Microbiology.*, 12.

Elhani D. (2012). Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît. *Ann. Biol. Clin.*, **70** : 117-40.

Enriquez B. (2010). Les antibiotiques en médecine vétérinaire, Pharmacologie et Toxicologie expérimentales et cliniques. Polycopié de cours de l'École Nationale Vétérinaire de Maisons-Afort.pp.32.

F

Falagas M.E. and Kasiakou S.K. (2005). Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Clin. Infect. Dis.*, **40** : 1333–1341.

Falagas M.E., Vouloumanou E.K., Samonis G. and Vardakas K.Z. (2016). Fosfomycin. *Clin. Microbiol. Rev.* , **29** : 321–347.

Fauchère J.L. et Avril J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses(Ed). **15**: 252-253; **10**: 151-176.

Fayolle-Pivot L., Blet A., Tissot S., Magnin C., Bertin-Maghit M., Reverdy M.E. and Rimmelé T. (2014). Écologie bactérienne d'un centre de traitement des brûlés sur 4 ans. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation.*, **33** : A113.

Ferreira R.L., Da silva B.C.M., Rezende G.S., Nakamura-Silva R., Pitondo-Silva A., Campanini E.B., Brito M.C.A., Da silva E.M.L., Freire C.C.M., Da cunha A.F. and Pranchevicius M.D.S. (2018). High Prevalence of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Harboring Several Virulence and β -Lactamase Encoding Genes in a Brazilian Intensive Care Unit. *Front. Microbiol.*, **22** : 3198.

Firoz K. (2018). Antibiotics Classification and Visual Target Sites for Bacterial Inhibition. *Adv. Pharmacol. Clin. Trials.*, **3**: 000137.

Freney J.R. F., Hansen W. et Bollet T.C. (2000). Précis de bactériologie clinique.

Friedlaender C. (1882). Ueber die Schizomyceten bei der acuten fibrösen Pneumonie. *Archiv Patholog. Anat. Physiol. Klinische. Med.*, **87** : 319–324.

G

Gahlot R., Nigam C., Kumar V., Yadav G. and Anupurba S. (2014). Catheter-related bloodstream infections. *Int. J. Crit. Illn. Inj. Sci.*, **4** :162–167.

Galimand M., Courvalin P. and Lambert T. (2003). Plasmid-mediated highlevel resistance to aminoglycosides in *Enterobacteriaceae* due to 16S rRNA methylation. *Antimicrob. Agents. Ch.*, **47** : 2565–2571.

Ganapathy H., Pal S.K., Teare L. and Dziewulski P. (2010). Use of colistin in treating multi-resistant Gram-negative organisms in a specialised burns unit. *Burns.*, **36** : 522-527.

Gavar et T. Briffaud M. (2009). *Klebsiella pneumoniae* en aviculture fréquence d'isolement sensibilité aux antibiotiques. Huitièmes Journée de la Recherche Avicole. *St Malo.*, 423-424.

George M., Garrity Julia A., Bell and Timothy G.L. (2004). Taxonomic Outline of the Procaryotes. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2^{ème} édition.

Ghazal L., Qureshi A.H. and Iqbal N. (2018). Antibiotic Susceptibility pattern of Gram Negative Bacilli Isolated from different Clinical Specimens in a Tertiary Care Hospital. *J.I.M.D.C.*, **7**:112-117.

Grall N., Andreumont A. and Armand-Lefèvre L. (2011). Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? *ANTINF.*, 16.

Gueudet T., Richter S., Szulc M., Jehl F. (2009). Les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques : deux cas de *Klebsiella pneumoniae* produisant une céphalosporinase plasmidique. *MEDMAL.*, **3** : 2927.

Gueye O. (2007). Utilisation des méthodes biométrique dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif .pp. 22,24-28.

Guillermo V., Ronald N., Bordon J., Fayyaz M., Duvvuri P. and Ekta G. (2013). *Klebsiella pneumoniae* Antimicrobial Drug Resistance, United States, 1998–2010. *Emerging Infectious Diseases.*, **19** : 133 -136.

Guo Q.L., Tomich A.D., McElheny C.L., Cooper V.S., Stoesser N., Wang M.G., Sluis-Cremer N. and Doi Y.H. (2016). Glutathione-S-transferase FosA6 of *Klebsiella pneumoniae* origin conferring fosfomycin resistance in ESBL-producing *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial. Chemotherapy.*, **71**:2460-2465.

H

Hamze M., Dabboussi F. and Izard D. (2003). Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques : étude sur quatre ans (1998-2001) dans le nord du Liban. *Cahiers d'études et de recherches francophones / Santé.*, **13**: 107-112.

Hansen L.H., Johannesen E., Burmolle M., Sorensen A.H. and Sorensen S.J. (2004). Plasmid encoded multidrug efflux pump conferring resistance to olaquinox in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48** : 3332-3337.

Hennequin C. and Robin F. (2016). Correlation between antimicrobial resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **35**:333–341.

Hermesen E.D., Sullivan C.J. and Rotschafer J.C. (2003). Polymyxins: pharmacology, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical applications. *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, **17**: 545-562.

Hitchings G.H. (1973). Mechanism of Action of Trimethoprim-Sulfamethoxazole-I. *The Journal of Infectious Diseases.*, **128** : S433–S436.

Holt K.E., Wertheim H., Zadoks R.N., Baker S., Whitehouse C.A. and Dance D. (2015). Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **112**: E3574–E3581.

Hooper D.C. and Jacoby G.A. (2016). Topoisomerase inhibitors: fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. *Cold. Spring. Harb. Perspect. Med.*, **6** : a025320.

Hu F.P., Guo Y., Zhu D.M.1., Wang F., Jiang X.F., Xu Y.C., Zhang X.J., Zhang C.X., Ji P., Xie Y., Kang M., Wang C.Q., Wang A.M., Xu Y.H., Shen J.L., Sun Z.Y., Chen Z.J., Ni Y.X., Sun J.Y., Chu Y.Z., Tian S.F., Hu Z.D., Li J., Yu Y.S., Lin J., Shan B., Du Y., Han Y., Guo S., Wei L.H., Wu L., Zhang H., Kong J., Hu Y.J., Ai X.M., Zhuo C., Su D.H., Yang Q., Jia B. and Huang W. (2016). Resistance trends among clinical isolates in China reported from CHINET surveillance of bacterial resistance, 2005–2014. *Clin. Microbiol. Infect.*, **22** : S9–S14.

J

Jacoby G.A., Chow N. and Waites K.B. (2003). Prevalence of plasmid24 mediated quinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47** : 559-562.

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

Jayol A., Nordmann P., Brink A., and Poirel L. (2015). Heteroresistance to colistin in *Klebsiella pneumoniae* associated with alterations in the PhoPQ regulatory system. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **59** : 2780–2784.

Jayol A., Poirel L., Brink A. M., Villegas V., Yilmaz M. and Nordmann P. (2014). Resistance to colistin associated with a single amino acid change in protein PmrB among *Klebsiella pneumoniae* isolates of worldwide origin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **58**:4762–4766.

Joly-guillou M.L. et Decré D. (2013). *Acinetobacter baumannii* : Antibiogramme. *EMC-Biologie medical.*, **8** : 1-8.

K

Kabil S. (2018). Profil de sensibilité des bactéries aux antibiotiques au milieu extra hospitalier à la ville de Marrakech. Thèse de doctorat, université Mohammed v- Rabat. 34 p .

Kaczmarek F.M., Dib-Hajj F., Shang W. and Gootz T.D. (2006). High-level carbapenem resistance in a *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate is due to the combination of blaACT-1 - lactamase production, porin OmpK35/36 insertional inactivation, and down-regulation of the phosphate transport porin PhoE. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **50** : 3396 –3406.

Kahan F.M., Kahan J.S., Cassidy P.J. and Kropp H. (1974). The mechanism of action of fosfomycin (phosphonomycin). *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **235** : 364–86.

Kapoor G., Saigal S. and Elongavan A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *J. Anaesthesiol. Clin. Pharmacol.*, **33** : 300–305.

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

Keating G.M. (2013). Fosfomycin trometamol: a review of its use as a single-dose oral treatment for patients with acute lower urinary tract infections and pregnant women with asymptomatic bacteriuria. *Drugs.*, **73** : 1951–66.

Kipnis E. Guery B.P. (2010). Réévaluation de la colistine. **12** : 205-227.

Kone K.D. (2010). Fréquence d'isolement des *klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel Toure de 2002 à 2017. [PG]: Faculté de Medecine de Pharmacie et OdontoStomatologie.21p.

Krause K.M., Serio A.W., Kane T.R. and Connolly L.E. (2016). Aminoglycosides: an overview. *Csh. Perspect. Med.*, **6** : a 027029.

Kumar A.R. (2013). Antimicrobial sensitivity pattern of *Klebsiella pneumoniae* isolated from pus from tertiary care hospital and issues related to the rational selection of antimicrobials. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.*, **5** : 326-331.

Kwiatkowska B., Maslinsca M., Przygodzka M., Dmowska- Chalaba J., Dabrowska J. and Sikorska-Siudek S. (2013). Immune system as a new therapeutic target for antibiotics. *Adv Biosci Biotechnol.*, **4**: 91–101.

L

Labani Y. (2016). Profil bactériologique et fréquence de résistance aux antibiotiques de l'infection du pied diabétique. Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad. 63p.

Lambert T. Courvalin P. (2000). Entérobactéries et aminosides. Précis de Bactériologie Clinique. ESKA. Paris. pp.666-677.

Lambert T. Courvalin P. (2006). Aminosides et bactéries à Gram négatif. AntibioGramme. 2^{ème} édition. pp.226-246.

Landman D., Georgescu C., Martin D.A. and Quale J. (2008). Polymyxins revisited. *Clin. Microbiol. Rev.*, **21** : 449–465.

Li J., Nation R.L., Turnidge J.D., Milne R.W., Coulthard K., Rayner C.R. and Paterson (2006). Gram-negative bacterial infections. *Lancet. Infect. Dis.* , **6** : 589 – 601.

Li X., Plésiat P. and Nikaido H. (2015). The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.*, **28** : 337–418.

Lin Y.T., Siu L.K., Lin J.C., Chen T.L., Tseng C.P., Yeh K.M., Yeh K.M., Chang F. Yand Fung C.P. (2012). Seroepidemiology of *Klebsiella pneumoniae* colonizing the intestinal tract of healthy chinese and overseas chinese adults in Asian countries. *BMC. Microbiol.*, **12**:13.

M

Ma J., Zeng Z. and Chen Z. (2009). High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr, aac(6')-Ib-cr, and qepA among ceftiofur-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from companion and food-producing animals. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53** :519–24.

Ma Y., Xu X., Guo Q., Wang P., Wang W. and Wang M. (2015). Characterization of fosA5, a new plasmid-mediated fosfomicin resistance gene in *Escherichia coli*. *Lett. Appl. Microbiol.*, **60** : 259-264.

Mangin L. (2016.) Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Thèse de doctorat, université de Lorraine .5 p.

Martínez-Martínez L., Eliecer Cano M., Manuel Rodríguez-Martínez J., Calvo J. and Pascual A. (2008). Plasmid-mediated quinolone resistance. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.*, **6** : 685–711.

Meradi L., Djahoudi A., Abdi A., Bouchakour M., Perrier Gros Claude D. and Timinouni M. (2009). Résistance aux quinolones de types qnr, aac (6')-Ib-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie Qnr and aac (6')-Ib-cr types quinolone resistance among Enterobacteriaceae isolated in Annaba, Algeria. *Pathologie Biologie.*, **59** : e73-e78.

Michalopoulos A.S., Livaditis I.G. and Gougoutas V. (2011). The revival of fosfomycin. *International Journal of Infectious Diseases.*, **15** : e732–e739.

Minor L.L. and Véron M. (1989). Bactériologie médicale, 2ème édition, flammarion médecine-sciences. Paris, **2**.pp.428-432.

N

Ndip R.N. 1., Titanji V.P., Akenji T.N., Mutanga A.M., Mbacham W.F. and Ndip L.M. (2001). Antibigram of *Klebsiella pneumoniae* isolates from Buea, Cameroon. *Cent. Afr. J. Med.*, **47**:173-176.

Nedjai S., Baguigua A., Djahmi N., jamali L. and Zerouali K. (2012). Prevalance and characterization of exteaded specrum-lactamase in *Klebsiella- Enterobacter-Seratia* group bacteria? in Algeria. *Medecine et maladies infectieuses.*, **42** : 20-9.

Nejjari N.S., Benomar and Lahbabi M.S. (2000). Les infections nosocomiales en réanimation néonatale et pédiatrique. Intérêt de la ciprofloxacine. *Arch. Pédiatr.*, **7** : 1268-1273.

Nepal K., Dutt Pant N., Neupane B., Belbase A., Baidhya R., Shrestha R.K., Lakhak B., Bhatta D.R. and Jha B. (2017). Extended spectrum beta-lactamase and metallo beta-lactamase production among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from different clinical samples in a tertiary care hospital in Kathmandu, Nepal. *Ann. Clin .Microbiol. Antimicrob.*, **16** : 62.

Nikaido H. (1994). Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science.*, **264** : 382-388.

Nordmann P., Jayol A. and Poirel L. (2016). Rapid detection of polymyxin resistance in Enterobacteriaceae. *Emerg. Infect. Dis.*, **22** : 1038–1043.

Nordmann P. (2010). Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. *Med. Sci.*, **26** : 950–959.

O

Ogawa W., Koterawasa M., Kuroda T. and Tsuchiya T. (2006) . KmrA multidrug efflux pump from *Klebsiella pneumoniae*. *Biol. Pharm. Bull.*, **29** : 550–553.

Olaitan A.O., Diene S.M., Kempf M., Berrazeg M., Bakour S., Gupta S.K., Thongmalayvong B., Akkhavong K., Somphavong S., Paboriboune P., Chaisiri K., Komalamisra C., Adelowo O.O., Fagade O.E., Banjo O.A., Oke A.J., Adler A., Assous M.V., Morand S., Raoult D. and Rolain J.M. (2014). Worldwide emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from healthy humans and patients in Lao PDR, Thailand, Israel, Nigeria and France owing to inactivation of the PhoP/PhoQ regulator mgrB: an epidemiological and molecular study. *Int. J. Antimicrob. Agents* ., **44** : 500–507.

P

Paczosa M.K. and Mecsas J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiol Mol Biol Rev.*, **80** : 629–661.

Padilla E., Llobet E. and Doménech-Sánchez A. (2010) *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. *Antimicrob. Agents Ch.*, **54** : 177–83.

Pandeya U., Raut M., Bhattarai S., Bhatt P. and Dahal P. (2017). Bacteriological profile and antibiogram of bacterial isolates from Pus samples in tertiary care hospital of Kathmandu. Tribhuvan University. *Journal of Microbiology.*, **4** : 55-62.

Papanicolaou G.A., Medeiros A.A. and Jacoby G.A. (1990). Novel plasmid-mediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and alpha-methoxy beta-lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **34** : 2200–2209.

Ping Y., Ogawa W., Kuroda T. and Tsuchiya T. (2007). Gene cloning and characterization of KdeA, a multidrug efflux pump from *Klebsiella pneumoniae*. *Biol. Pharm. Bull.*, **30** : 1962–1964.

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

Poirel L., Jayol A., Bontron S., Villegas M.V., Ozdamar M. and Turkoglu S. (2015). The *mgrB* gene as a key target for acquired resistance to colistin in *Klebsiella pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, **70** : 75–80.

Poirel L., Heritier C., Tolun V. and Nordmann P. (2003). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48** : 15–22.

Poirel L., Jayol A. and Nordmann P. (2017). Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. *Clinical microbiology reviews.*, **30** : 557–596.

Prescott J.F. (2013). Beta-lactam Antibiotics : Penam Penicillins. In: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 5^{ème} edition. pp.135-152.

Prince C.P. (2009). Practical Manual of Medical Microbiology. Jaypee brothers.

Q

Qadeer A., Akhtar A., Ain Q.U., Saadat S., Mansoor S., Assad S., Ishtiaq W., Ilyas A., Khan A.Y. and Ajam Y. (2016). Antibigram of medical intensive care unit at tertiary Care hospital setting of Pakistan. *Cureus.*, **8** : e809.

Queenan A.M. and Bush K. (2007). Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.* 2007., **20** : 440–58.

R

Rasheed J.K., Biddle J.W., Anderson K.F., Washer L., Chenoweth C., Perrin J., Newton D.W. and Patel J.B. (2008). Detection of the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase type 2 carbapenem-hydrolyzing enzyme in clinical isolates of *Citrobacter freundii* and *K. oxytoca* carrying a common plasmid. *J. Clin. Microbiol.*, **46** : 2066 –2069.

Raud P. (2003). Etude de la diversité génétique des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de beta-lactamases à spectre étendu (BLSE), isolées au CHU de Nantes, de 1990 à 2001. 39-41, 77-79.

Redgrave L.S., Sutton S.B., Webber M.A. and Piddock L.J. (2014). Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends. Microbiol.*, **22** : 438–445.

Rubinstein E. Lagacé-wiens P. (2017) .Quinolones. *Anti-infective Therapy.*, **144** : 1239-1248 .

Russell A. D. (2004). Types of antibiotics and synthetic antimicrobial agents. In: Denyer S. P., Hodges N. A. & German S. P. (Eds) Hugo and Russells pharmaceutical microbiology. 7th edition. Blackwell Science, UK. pp.152-186.

S

Saye T. (2011). Prévalence des entérobactéries productrices de beta-lactamases a spectre élargi au CHU du PG de 2006 à 2008. Faculté de Médecine de Pharmacie et OdontoStomatologie .p.50.

Sekhri-arafa N. (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. thèse de doctorat, université mentouri de Constantine .104 p .

Shahi A., Hasani A., Rezaee M.A., Jafarabadi M.A., Hasani A., Kafil H.S., Memar M.Y. and Soltani E. (2019). *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase production among *K. pneumoniae* isolates and its concern on antibiotic susceptibility. *Microbiology Research.*, **10** : 7587.

Shaik G., Sujatha N. and Mehar S.K. (2014). Medicinal plants as source of antibacterial agents to counter *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.*, **4** : 135-147.

Shanmugam D., Begumesak S. and Narayanaswamy. (2016). Molecular characterisation of *nfsA* gene in nitrofurantoin resistant uropathogens. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.*, **10** : DC05-DC09.

Sharma V. K., Johnson N., Cizmas L., McDonald T. J., and Kim H. (2016). A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Chemosphere.*, **150** : 702–714.

Stahlhut S.G., Struve C., Krogfelt K.A. and Resneir A. (2011). Biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae. 351.

T

Tahou J., Guesed N.K., Sakouri P.D., Gbonon V. (2017). Antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae*-ESBL producing strains isolate from clinical specimens in Abidjab .98.

Tasse J. (2017). Apport de l'antibiofilmogramme et de la mesure de capacite de formation du biofilm dans la prise en charge des infections osteo-articulaires a Staphylocoques.Thèse de doctorat, université de Lyon. Evolution Ecosystèmes Microbiologie Modélisation .208p.

Techniques usuelles. Elsevier Masson (Eds). Paris.pp.75.

Tony Jonan Z. (2014). Mise en place de la surveillance des résistances aux antibiotiques des germes responsables d'infections urinaires dans le laboratoire Rodolphe Merieux de Bamako, Faculté de Médecine de Pharmacie et Odontostomatologie.45p.

Tzouvelekis L.S., Tzelepi E., Prinarakis E., Gazouli M., Katrahoura A., Giakkoupi P., Paniara O. and Legakis N.J. (2012).Sporadic emergence of klebsiella pneumoniae strains resistant to cefepime and cefpirome in greek hospitals. *Journal of Clinical Microbiology.*, 266-268.

U

Uzun O., Hascelik G. and Livermore D.M. (2008). Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int.J .Antimicrob. Agents.*, **31** : 523-526.

V

Vakulenko S.B. and Mobashery S. (2003). Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clin. Microbiol. Rev.*, **16** : 430-50.

Viana M.D., Machado S., Ebinuma V., Duarte C., Converti A. and Porto A. (2018). Production of β -Lactamase inhibitors by *Streptomyces* Species. *Antibiotics.*, **7** : 61.

W

Walsh C. (2003). Antibiotics: actions, origins, resistance. 1st edition. ASM Press, Washington, DC.pp.345.

Walsh T.R., Toleman M.A., Poirel L. and Nordmann P. (2005). Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *Clin. Microbiol. Rev.*, **18** : 306–325.

Weldhagen G.F. and Prinsloo A. (2004). Molecular detection of GES-2 extended spectrum beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in Pretoria, South Africa. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **24** : 35–38.

Wenzi B.I., Haiyang L., Rhys A., Bin L., Von Vergel L. and Jianming C. (2017) Extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* causing nosocomial bloodstream infections in China: informing therapy, and clinical outcomes. 2.

Wright M.S., Suzuki Y., Jones M.B., Marshall S.H., Rudin S.D. and Van Duin D. (2015). Genomic and transcriptomic analyses of colistin-resistant clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* reveal multiple pathways of resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **59**: 536–543.

Wyres K.L. and Holt K.E. (2016). *Klebsiella pneumoniae* Population genomics and antimicrobial-resistant clones. *Trends in Microbiology.*, 13.

Y

Yala D., Merad A.S., Mohamedi D. and Ouar-Korich M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb.*, **91** : 5-8.

Yigit H., Queenan A.M., Anderson G.J., Domenech-Sanchez A., Biddle J.W. and Steward C.D. (2001). Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45** : 1151–1161.

Yong D., Toleman M.A., Giske C.G., Cho H.S., Sundman K., Lee K. and Walsh T.R. (2009). Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53** : 5046–5054.

Z

Zhao S., Duncan M., Tomberg J., Davies C., Unemo M. and Nicholas R. A. (2009). Genetics of chromosomally mediated intermediate resistance to ceftriaxone and cefixime in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53** : 3744–3751.

Zhiliang Y., Wangrong Qin., Jianxun L., Shisong F., and Juanping Q. (2015). Antibacterial mechanisms of polymyxin and bacterial resistance. *BioMed Research International.*, 11.

Annexe

Tableau 1. Matériels non biologique

<p>1-Matériel et appareils non électriques</p> <p>Becs benzen</p> <p>Blouse pour laboratoire</p> <p>Boite de Pétri 9cm de diamètre</p> <p>Compresse</p> <p>Ecouillons médical</p> <p>Gants Peha-taft classic</p> <p>Lames et lamelles</p> <p>Pied à coulisse</p> <p>Pince métallique</p> <p>Pipettes Pasteur</p> <p>Poire</p> <p>Portoir à tubes</p> <p>Tubes stériles</p>	<p>2- Appareils électriques</p> <p>Hotte</p> <p>Etuve bactériologique ou incubateur à température réglable (30°C et 37°C)</p> <p>Microscope optique</p> <p>Un réfrigérateur à +4°C</p> <p>Densitomètre</p> <p>Bain Marie</p> <p>Séchoir</p> <p>BACTEC™ FX40.</p>
<p>3-colorants, solutions, réactifs et disques</p> <p>-Violet de gentiane</p> <p>-Solution de lugol</p> <p>-Fuschine</p> <p>Alcool à 95%</p> <p>Disques d'antibiotiques</p> <p>Eau distillée stérile</p> <p>Eau oxygénée H₂O₂</p> <p>Eau physiologiques stérile à 0,9%</p> <p>L'huile de vaseline</p> <p>L'huile à l'immersion</p> <p>Réactif d'oxydase : Phénylène- diamine</p> <p>Réactif de Kovacs</p> <p>Réactif de Voges et Proskaver 1 et 2 ;VP1 et VP2</p> <p>Reactif de tryptophane désaminase TDA</p> <p>Violet de Gentiane</p>	<p>4-milieux de culture</p> <p>4.1. Milieux de culture solides</p> <p>-Gélose nutritive (GN)</p> <p>-Milieu Bromocrésol pourpre (BCP)</p> <p>-Mueller Hinton (MH)</p> <p>4.2. Milieux de culture liquide</p> <p>-Milieu d'enrichissement BGT</p> <p>4.3.Milieux d'identification biochimiques et métaboliques</p> <p>-Milieu Triple Sugar Iron (TSI)</p> <p>-Milieu Mevag</p> <p>-Milieu Clark et Lubs</p> <p>-Milieu Citrate de Simmons</p> <p>-Milieu Urée Indole</p>

Tableau 2. Résultat de la lecture du test d'oxydase



Observation	Interpretation	Conclusion
	La bactérie n'est pas capable d'oxyder le Ndiméthyl paraphénylène diamine.	La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite oxydase- .

Tableau 3. Résultat de la lecture du test de la catalase

Observation	Interpretation	Conclusion
	La bactérie catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en H_2O et O_2 (visible par formation de bulles).	La bactérie possède la catalase, elle est dite catalase+ .

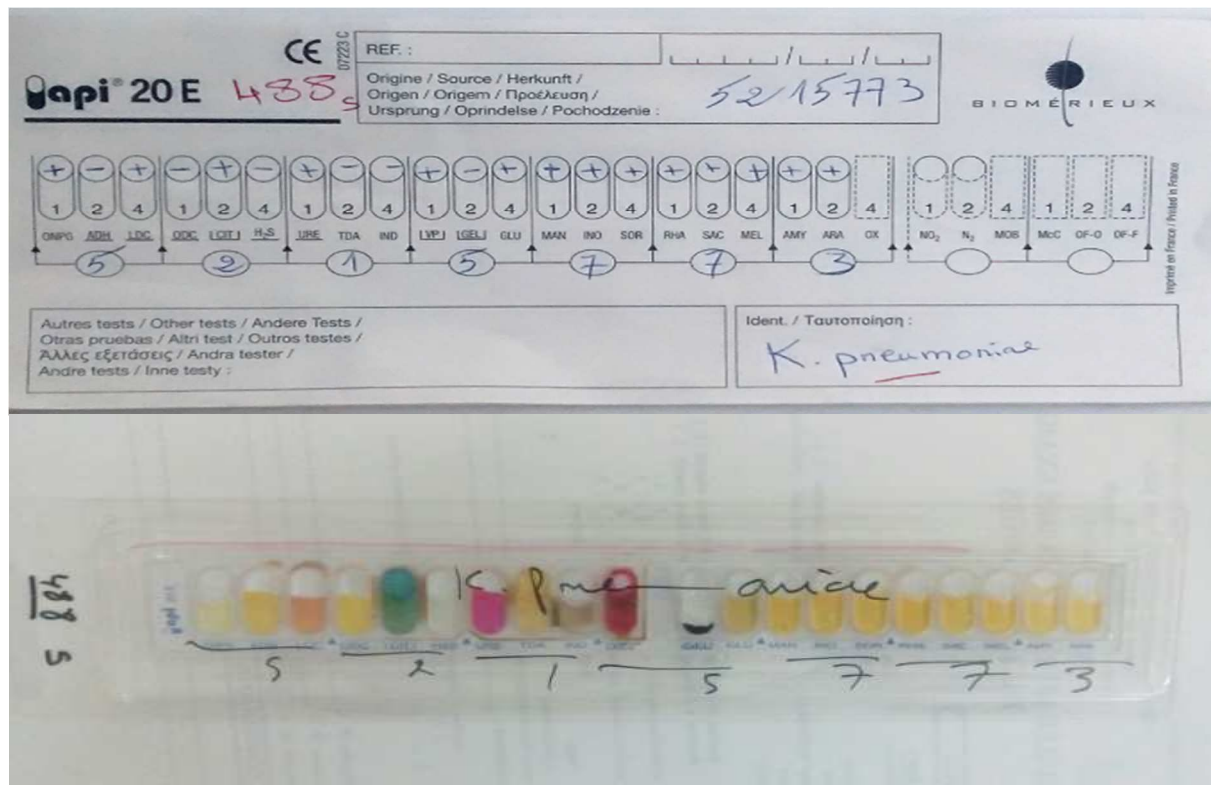








Figure 1. Résultat de l'identification par la galerie API 20 E

Tableau 4. Dénomination des souches de *K. pneumoniae*

	Souches
Code	S342, S357, S360, S413, S475, S500, S680, S682, S717, S769, S941, S1015, S1032, S1143, S1203, S1209, S1240, S1241, S1287, S181, S201, S202. , S224, S254, S260, S268, S273, S311, S319, S340, S359, S362, S365, S379, S381, S398, S402, S403, S427, S446, S456, S457, S458, S488, S490, S495, S522, S542, S549, S557, S558, S573, S595, S611, S633, S641, S653, S673, S96, S121, S125, S147, S161, S169, S189, S192, S193, S197, S227, S257, S261, S272, S274, S106, S132, S32, S40.

Tableau 5. Résultat de l'identification par la galerie classique

Milieux	Observation après incubation à 35°C 18 h	Interpretation	Conclusion
<p>Clark et lubs</p> 		<p>*L'apparition d'une coloration rouge indique que la souche fermente le glucose par la voie butylène glycolique avec production d'acétoïne.</p>	<p>VP +</p>
<p>Triple-Sugar-Iron</p> 		<p>*Acidification la pente et le culot. *la production de gaz se traduit par la formation de bulles de gaz dans la gélose ou le décollement de celle-ci.</p>	<p>lactose (+) saccharose (+) glucose (+) gaz (+) H2S (-)</p>
<p>Citrate de Simmons</p> 		<p>*Il y a eu une alcalinisation du milieu, d'où le virage du milieu du vert au bleu</p>	<p>Citrate de simmons (+)</p>

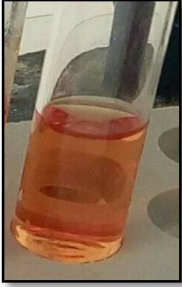





<p>Urée-indole</p> 		<p>*Alcalinisation du milieu donc le virage de couleur de l'orange vers le rouge-rose = hydrolyse de l'urée</p> <p>*L'indole ne se matérialise pas par un anneau rouge, après additionnement de Kovacs.</p> <p>*Absence d'une coloration brun après additionnement de TDA</p>	<p>uréase (+) indole (-) TDA(-)</p>
<p>MEVAG (Milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides)</p> 		<p>*Il y a eu une acidification dans les deux tubes d'où le virage de couleur du rouge de phénol au jaune.</p>	<p>métabolisme fermentatif</p>
<p>LDC, ODC, ADH</p> 		<p>*Alcalinisation du milieu = violet LDC (+)</p> <p>*Acidification du milieu = jaune ODC(-), ADH (-)</p>	<p>LDC(+) ODC (-) ADH (-)</p>

Tableau 6. Lecture des résultats de la galerie API 20 E

Tests	Composants actifs	QTE (mg/cup.)	Réactions/enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (OrthoNitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	jaune
ADH	L-arginine	1,9	ArginineDiHydrolase	Jaune	rouge/ orangé
LDC	L-lysine	1,9	LysineDéCarboxylase	Jaune	rouge/ orangé
ODC	L-ornithine	1,9	OrnithineDéCarboxylase	Jaune	rouge/ orangé
CIT	trisodiumcitrate	0,756	utilisationduCITrate	vertpâle/ jaune	bleu-vert/ bleu
H2S	sodiumthiosulfate	0,075	productiond'H2S	incolore/ grisâtre	dépotnoir/ finliseré
URE	Urée	0,76	UREase	Jaune	rouge/ orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	TryptophaneDésAminase	Jaune	TDA/immédiat marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	Production d'INDole	Incolore vertpâle/ jaune	JAMES/immédia Rose
VP	Sodium pyruvate	1,9	productiond'acétoïne (VogesProskauer)	incolore/ rosepale	VP1+VP2/10min rose/ rouge
GEL	Gelatin (originebovine)	0,6	Gélatinase(GELatine)	nondiffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	fermentation/ oxydation (GLUcose)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune/ jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation/ oxydation (MANnitol)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
INO	Inositol	1,9	fermentation/ oxydation (INOsitol)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation/ oxydation (SORbitol)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation/ oxydation (RHAmnose)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation/ oxydation (SACcharose)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation/ oxydation (MELibiose)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation/ oxydation (AMYgdaline)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation/ oxydation (ARABinose)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune

Tableau 7. Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour *Entérobactéries* comme indiqué dans le fascicule de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale version 2014

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8
Amoxicilline +Ac.clavulanique	20/10µg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤8 /4
Céfazoline	30µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2
Céfalotine	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23-25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Ceftriaxone	30µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Imipénème/Meropénème	10µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Ertapénème	10µg	≤19	20-22	≥23	≥ 1	0,5	≤ 0,25
Amikacine	30µg	≤ 14	15-16	≥17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14-18	≥ 19	≥ 32	-----	≤ 16
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤1
Chloramphénicol	30µg	≤12	13-17	≥18	≥ 32	16	≤ 8
Colistine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Furanes	300µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32
Fosfomycine	200µg	≤12	13-15	≥16	≥256	128	≤ 64
Triméthoprimé+Sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	-----	≤ 2/38

* Tableau extrait du Document M100 – S24. Vol. 34, n°1. 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-four informational supplement.