



Institut des
Sciences
Vétérinaires
- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**La recherche de Klebsiella pneumoniae dans la région de Chlef, Blida
et Tizi ousou**

Présenté par

Zouheyr Amamra
Brahim Azzouz EL Hadj Ahmed

Devant le jury :

Président(e) :	EZZEROUG. R.	MAA	Institut des sciences vétérinaires Université Blida1
Examineur :	KHALED. H.	MCA	Institut des sciences vétérinaires Université Blida1
Promoteur :	FEKNOUS. N.	MCB	Institut des sciences vétérinaires Université Blida1
Co-promoteur :	BELLABES. R.	MBA	Institut des sciences vétérinaires Université Blida1

Année : 2019/2020

Remerciements

«Nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail ».

*Nous tenons avant tout à exprimer nos remerciements
les plus sincères à notre encadreur Mme **Feknous N.** et Co encadreur Mr **Belabbas R.** pour
avoir accepté de diriger ce travail, pour ses précieux conseils, son aide, ses suggestions sur la
rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de cette
étude.*

Nos vifs remerciements pour les membres du jury

Un grand merci pour vous nos enseignements

A toute personne qui participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail.

Thank you all ...

Dédicace

A ma petite famille

Mes amis

Mes collègues

Le staff de l'ISVB

Et a ceux qui ont partagé le chemin avec ses hauts et ses bas avec nous

God Bless You All.

Zouheyr.

Dédicace

A mes parents et mes frères

Mes amis

Mes camarades

Mes enseignants

A toute personne m'a soutenu dans la vie

Ahmed.

Résumé

Klebsiella pneumoniae est une bactérie pathogène opportuniste. elle est le chef de file des germes responsables d'infections sévères et difficiles à traiter, L'augmentation et la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif, notamment chez *K. pneumoniae*, se qui pourrait représenter un problème majeur de santé publique.

Donc on a mis en évidence la recherche de cette dernière et l'isoler après l'identification des caractères biochimiques pour des études microbiologiques au laboratoire de microbiologie de ISVB et faire aussi une étude d'antibiogramme

Les résultats issus de cette étude ont montré une résistance élevée des souches cliniques de *K.pneumoniae* à la majorité des antibiotiques cliniquement utilisés particulièrement aux β -lactamines

Mais vu le covid on a rien fais de tout ça cette etude est purement bibliographique

Mots clés

Klebsiella pneumoniae – isolement – identification – caractères biochimiques – antibiogramme

Abstract

Klebsiella pneumoniae is an opportunistic pathogenic bacteria. it is the leader in the germs responsible for severe infections which are difficult to treat. The increase and spread of antibiotic resistance in Gram negative bacilli, notably in K. pneumoniae, represents a major public health problem.

So on a highlighted research of the latter and isolate it after the identification of biochemical characters for microbiological studies at the microbiology laboratory of the ISVB and also do an antibiogram study

The results of this study showed high resistance to clinical strains of K. pneumonia to the majority of clinically used antibiotics, particularly to β -lactams.

Keywords

Klebsiella pneumoniae - isolation - identification - biochemical characteristics – antibiogram

ملخص

الكلبسيلة الرئوية هي بكتيريا انتهازية ممرضة، و هي الرائدة في الجراثيم المسؤولة عن عدوى المستعصية وصعبة العلاج،
زيادة على ذلك انتشار المقاومة للمضادات الحيوية في العصيات سلبية الغرام، خصوصا عند الكلبسيلة الرئوية ، يشكل مشكلة رئيسية للصحة عامة

لذا في بحث مميّز عن هذا الأخير وعزله بعد تحديد السمات البيوكيميائية للدراسات
الميكروبيولوجية في مختبر علم الأحياء الدقيقة التابع لمعهد علوم البيطرة في البلدة وأيضاً
دراسة المضادات الحيوية

أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود مقاومة عالية من طرف العزلات السريرية للكلبسيلات
الرئوية لمعظم المضادات الحيوية المستخدمة
سريريا خاصة اتجاه البيتا لاكتامين

الكلمات المفتاحية:

الكلبسيلة الرئوية - عزل - تحديد - الخصائص البيوكيميائية - المقاومة - المضادات الحيوية

Sommaire

Introduction	01,02
Revue bibliographique	
Chapitre 1 : Historique de la bactérie	
Historique	05
Chapitre 2 : Anatomie de la poule	
Morphologie et Anatomie de la poule	08
1/Anatomie interne générale	08
2/Appareil respiratoire	09
3/Le squelette	10
4/Les organes des sens	10
5/L'appareil uro-génital.....	11,12
6/L'appareil digestive	12
Chapitre 3 : Généralités et différents caractères sur la K.pneumoniae	
I- Généralité sur Klebsiella pneumoniae	14
I-1- Dénomination.....	14
I-2- Classification	14
I-3- Habitat	14
I-4- Caractères bactériologiques.....	15
I-4-1- Caractères morphologiques	15
I-4-2- Caractères cultureux	15 ,16
I-4-3- Caractères biochimiques	16,17
Chapitre 4 : Pathogénicité de Klebsiella pneumoniae	
II- Pathogénicité de Klebsiella pneumoniae	19
II-1- Transmission	19
II-2- Pouvoir pathogène.....	19
II-3- Facteurs de pathogénicité.....	20
II-3-1- Antigènes de surface.....	20
II-3-2- Le lipopolysaccharide (LPS)	20,21
II-3-3- La capsule.....	21
II-3-4- Adhésines.....	21
Chapitre 5 : Clinique et Méthode de diagnostic	
1- Clinique.....	23

1-1-Respiratoire.....	23
1-2-Infections du système nerveux central.....	23
1-3-Hépatique.....	23
2- Méthode de diagnostic.....	24
2-1- Définition.....	24
2-2- Diagnostc.....	24
2-2-1- Direct.....	24
2-2-2 Indirect (Sérodiagnostic)	24,25,26

Chapitre 6 : Antibio-resistance de Klebsiella pneumoniae

Resistance de klebsiella pneumoniae aux antibiotiques.....	28
Définition.....	28
Critere de classifications	28
Mode d'action.....	28
Notion de la résistance.....	29
Types de résistance aux antibiotiques.....	29
Résistance naturelle.....	30
Résistance acquise.....	30
Résistance de K.P aux B-lactamines.....	31
Résistance de K.P aux aminosides.....	35
Résistance de K.P aux quinolones	36
Résistance par la modification de la cible.....	36
Résistance par défaut d'accumulation.....	36
Résistance plasmidiques aux quinolones	36,37

Chapitre 7 : Prophylaxie de la pathologie

Définition	39
Conduite d'élevage	39
A/Vide sanitaire.....	39,40
B/ jour de réceptions des poussins	40,41
Conclusion	43

Liste des figures

Figure 1 : Vue microscope électronique <i>K.pneumoniae</i> (Thiolet JM ,2006).....	5
Figure 2 : Vue œil nue autopsie de la poule (avicompus 2008).....	8
Figure 3 : Schéma de l'appareil respiratoire de la poule (laurent sacco , 2009).....	9
Figure 4 : Schéma de l'appareil génital de la poule (Nauciel C. 2000).....	1
Figure 5 : Aspect des colonies de <i>K. pneumoniae</i> sur milieu gélosé (Gueye, 2007).....	16
Figure 6 : Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de <i>K. pneumoniae</i> (Podschun et Ullmann, 1998).....	20
Figure 7 : familles d'antibiotiques hydrophobes.....	24
Figure 8 : B-lactamines.....	25
Figure 9 : comparaison des antibiotiques par rapport au résistance.....	26
Figure 10,11,12 : disques des différents antibiotiques	26
Figure 13 : mécanisme d'action des antibiotiques	29

Liste des tableaux

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

(Joly et Reynaud, 2002).....17

Tableau 2 : Caractères biochimiques d'identification des espèces du genre *Klebsiella* (Freney et Riegel,

2007).....17

Liste des abréviations

ADH : Arginine déshydrogénase

AmpC : Bêta-lactamase chromosomique

BLSE : β -lactamase à spectre étendu

FOX : Gène codant pour une céphalosporinase

H₂S : sulfure d'hydrogène

KPC : Klebsiella pneumoniae Carbapénémase

LCR : Liquide céphalorachidien

LDC : Lysine décarboxylase

ODC : Ornithine décarboxylase

LPS : lipo-polysaccharide

KCN : Le cyanure de potassium

ONPG : Orthonitrophényl- β -D-galactopyranoside

S : sensible

R : résistant

V : variable

SHV : Sulfhydryl variable

Sub sp : sous espèce

TDA : Tryptophane désaminase

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

RM : Rouge de Méthyle

VP : Voges-Proskauer

μ m : micromètre

nm : nanomètre

Introduction

Les infections nosocomiales constituent un problème majeur de santé publique reconnu à l'échelon mondial. Ces maladies suscitent autant d'inquiétudes que d'interrogations, depuis l'utilisation de l'antibiothérapie, elles sont progressivement changées de visage et les cliniciens ont été confrontés à des infections à germes autrefois réputés non pathogènes ou saprophytes. L'un des exemples le plus frappant pour illustrer ce propos est *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*).

Klebsiella pneumoniae est une entérobactérie qui fait partie des espèces commensales de l'homme et des animaux, c'est-à-dire des flores normales du sujet sain (**Kariuki et al., 2007**). Elle est responsable d'infections communautaires (urinaires et respiratoires) et d'infections opportunistes chez les malades hospitalisés (infections urinaires, broncho-pulmonaires, septicémies avec choc, de pneumonies et de bactériémies) (**Berrazeg et Rolain, 2013**). D'après le rapport de l'European Antibiotics Resistance Surveillance System (EARSS) de 2008, elle est responsable de plus de 10 % des infections nosocomiales.

Les espèces du genre *Klebsiella* sont présentes dans le monde entier, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales. Elles sont ubiquistes, c'est-à-dire qu'on les rencontre partout, notamment dans les milieux forestiers, la végétation, le sol, l'eau et les muqueuses des espèces hôtes (**Janda et Abbott, 2006**). Le risque d'infection et le taux de portage de *Klebsiella* augmentent avec la durée du séjour à l'hôpital. D'après une étude, le taux de portage augmente de 11 à 42 % en 14 jours d'hospitalisation (**Janda et Abbott, 2006**). Par ailleurs, les taux d'infection et de portage augmentent avec l'utilisation d'agents antimicrobiens, ce qui conduit en général à l'apparition de bêta-lactamases à large spectre qui confèrent une résistance aux antibiotiques (**Janda et Abbott, 2006 ; Podschun et Ullmann, 1998**).

L'augmentation à l'échelle mondiale de la résistance médiée par les *Klebsiella pneumoniae* productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) constitue une menace importante pour la santé publique, puisque des souches de *K. pneumoniae* BLSE+ résistantes à toutes les β -lactamines ont été isolées. D'après le Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN) de France, en 2001. Au niveau national, et selon le réseau de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (2007-2008), sur 3277 bactéries multi résistantes toutes espèces confondues, isolées en milieu hospitalier et sur un effectif global de 13620 isolats, *K. pneumoniae* vient en tête avec 31,5 % des cas. Le réseau rapporte aussi que 46,2 % des souches de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital sont des BLSE. Les souches

résistantes aux β -lactamines sont souvent résistantes aux autres familles d'antibiotiques laissant le champ thérapeutique très réduit. Le service de microbiologie du CHU Benbadis enregistre en moyenne 400 souches de *K. pneumoniae* par an, faisant de cette espèce la deuxième entérobactérie isolée par ordre de fréquence après *E. coli*.

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

- L'enrichissement des connaissances bactériologiques et génétiques concernant *K. pneumoniae*, on réalisant une recherche bibliographique approfondie.
- L'étude de la résistance aux antibiotiques des souches de *K. pneumoniae* et déterminer leurs phénotypes de résistance.

Le présent mémoire est structuré en :

- Une introduction
- Une revue bibliographique
- Une conclusion.

Revue bibliographique

Chapitre 1

Historique de la bactérie

Historique :

Klebsiella pneumoniae, également appelé bacille de Friedländer, a été décrit pour la première fois en 1882 par le microbiologiste et pathologiste allemand Carl Friedländer. *K. pneumoniae* est surtout connu comme un pathogène du système respiratoire humain qui cause la pneumonie. La maladie n'est généralement observée que chez les patients présentant des problèmes médicaux sous-jacents tels que l'alcoolisme ou une maladie pulmonaire chronique et survient souvent sous la forme d'une infection nosocomiale (infection survenant en association avec un traitement invasif ou des soins de longue durée dans les hôpitaux ou d'autres établissements de santé communautaires).

Traditionnellement, les bactéries *K. ozaenae* et *K. rhinoscleromatis* étaient reconnues comme des espèces distinctes, mais les études sur l'ADN indiquent qu'elles devraient être classées comme sous-espèces de *K. pneumoniae*; à des fins médicales, les distinctions d'espèces sont cependant toujours observées. D'autres espèces de *Klebsiella* comprennent *K. oxytoca* et *K. planticola*, qui, avec *K. pneumoniae*, peuvent provoquer des infections des voies urinaires et des plaies chez l'homme. *K. planticola* et certaines souches de *K. pneumoniae* ont été isolées des racines de plantes comme le blé, le riz et le maïs (maïs), où elles agissent comme des bactéries fixatrices d'azote. *K. variicola*, qui a été découvert en 2004, se rencontre également sur diverses plantes, notamment le riz, la banane et la canne à sucre. Cette espèce de bactérie a également été isolée des milieux hospitaliers, où elle peut agir comme un pathogène opportuniste, semblable à d'autres organismes *Klebsiella*.



Figure 1 : Vue microscope électronique *K.pneumoniae* (Thiolet JM ,2006)

Bien que certaines infections à *Klebsiella* puissent être traitées efficacement avec une thérapie à agent unique impliquant de la pénicilline ou un antibiotique similaire, l'émergence d'organismes résistants à ces médicaments a nécessité le développement de nouvelles approches thérapeutiques. Par exemple, *K. pneumoniae* est résistant aux antibiotiques bêta-lactamines, un groupe qui comprend les carbapénèmes, les pénicillines et les céphalosporines. La résistance résulte de la capacité de l'organisme à synthétiser une enzyme connue sous le nom de carbapénémase, qui hydrolyse le cycle bêta-lactame qui sous-tend l'activité antimicrobienne de ces médicaments. En conséquence, les infections à *K. pneumoniae* résistantes aux médicaments nécessitent généralement une thérapie combinée avec des agents structurellement divers, tels qu'un antibiotique bêta-lactame et un aminoglycoside.

Chapitre 2
Anatomie de la poule
Nom Sc. Gallus gallus

Morphologie et Anatomie de la poule :

La première caractéristique de l'oiseau étant sa capacité de voler, tout dans sa nature le prédispose au vol. Sa température corporelle est plus élevée (40-42°C) que celle des autres animaux en général, afin de lui donner de la légèreté. Tous ses systèmes ont été conçus en fonction du vol même pour la poule qui est terrestre.

Voici un aperçu de l'anatomie de la poule.

1/ Anatomie interne générale :

1. Trachée
2. Œsophage
3. Thymus
4. Nerf Vague
5. Jabot
6. Poumon
7. Cœur
8. la Rate
9. Pro ventricule
10. le Foie
11. la Vésicule Biliaire
12. l'iléon et le Jéjunum
13. le Gésier
14. le Rein
15. le Pancréas
16. le Duodénum
17. la Bourse de Fabricius
18. Cloaque
19. le Gros Intestin
20. les Amygdales caecales
21. Cæcum



Figure 2 : Vue œil nue autopsie de la poule (avicompus 2008)

2/Appareil respiratoire

L'appareil respiratoire d'un oiseau est différent de celui d'un mammifère : tout d'abord, il est proportionnellement beaucoup plus petit, ce qui peut sembler étrange pour des animaux dépensant beaucoup d'énergie pour voler.

Les oiseaux ensuite ne possèdent pas d'alvéoles pulmonaires, qui servent à l'échange gazeux gaz carbonique- oxygène, mais des sacs aériens (abdominal, thoraciques) : ils jouent un rôle très important dans la circulation de l'air, celui-ci pénétrant dans ces derniers.

Sacs aériens :

- 1 Humérus
- 2 Sac aérien inter claviculaire
- 3 Trachées
- 4 Sac aérien thoracique
- 5 Sac aérien abdominal
- 6 Poumons

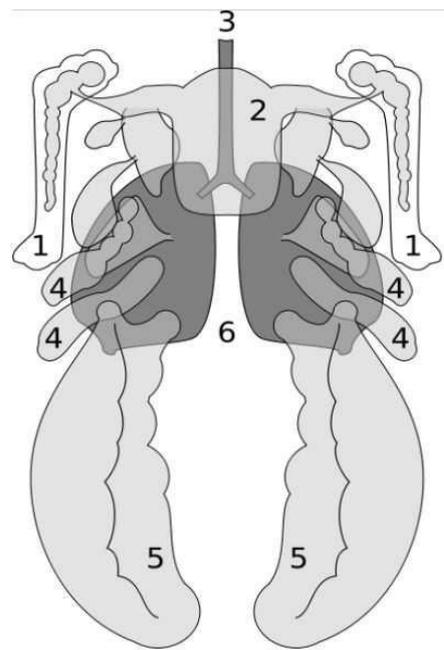


Figure 3 : Schéma de l'appareil respiratoire de la poule (laurent sacco , 2009)

La respiration chez l'oiseau n'est pas aussi simple que la nôtre. Elle se passe en 4 étapes. Une première inspiration amène l'air dans les sacs aériens caudaux (et non directement dans les poumons comme chez l'humain). Ensuite, une première expiration amène l'air dans les poumons (à ce moment les échanges d'air se font). Par la suite, l'air est inspiré de nouveau dans des sacs aériens (les crâniens cette fois-ci) et pour finir la dernière expiration expulse l'air en dehors du corps. Tous ces échanges gazeux ont pour fonctions la respiration et l'oxygénation, mais aussi celle de rendre l'oiseau plus léger pour le vol.

L'air entre par les narines, traverse les fosses nasales, le larynx et entre dans la trachée. De là, l'air passe dans l'une des 2 bronches. A la jonction de la trachée et des bronches se situe le *syrix*, un organe qui permet d'émettre des sons. Des bronches, l'air passe dans les poumons, qui sont petits, et dans l'un des 9 *sacs aériens*:

- 1 sac claviculaire
- 2 sacs cervicaux
- 4 sacs thoraciques
- 2 sacs abdominaux

L'anatomie des poules est organisée autour de la faculté qu'ont ces oiseaux de voler: les os sont légers et l'appareil digestif court.

Le pouls de la poule est nettement plus élevé que celui des mammifères: de 240 à 340 battements par minute. La chaleur corporelle également: 41,6 °C chez le poulet.

3/Le squelette

Le squelette comporte 2 types d'os:

- longs, plats et spongieux
- creux et remplis d'air

L'os du sternum, très développé, présente une bosse appelée *bréchet*.

Le bassin et la colonne vertébrale sont soudés pour plus de rigidité.

Le nombre de vertèbres cervicales constitue également une particularité: la poule en possède 14. Celles-ci permettent aux animaux de tourner la tête dans tous les sens, ce qui compense la position latérale des yeux.

4/Les organes des sens

L'*œil* est l'organe sensoriel dominant: la poule voit jusqu'à 50 m. Son acuité visuelle est tellement remarquable qu'elle peut voir un ver à 2cm de son bec et, en même temps, un avion en altitude.

La volaille, comme les oiseaux, ne possède pas d'oreille externe. Un peu en arrière des yeux se trouve un conduit auditif protégé par de petites plumes. La poule peut entendre des cris jusqu'à 50 m de distance. Son *ouïe* est aussi très développée.

Son sens *gustatif* lui permet de se soigner de manière instinctive et de ne pas consommer des aliments contaminés par certaines toxines.

Son sens *olfactif* est peu développé.

5/L'appareil uro-génital

Les oiseaux ne produisent pas d'urine liquide. Les déchets provenant des reins forment une matière blanche épaisse qui est mélangée à la fiente avant d'être excrétée par le cloaque.

La poule

Les organes génitaux de la poule ne sont développés que du côté gauche. Ils se composent de:

- *l'ovaire*: constitué d'un grand nombre d'ovules.
- *l'oviducte* (d'environ 60 cm de long) constitué de:
 - *l'infundibulum* ou pavillon où a lieu la fécondation et où s'achève la membrane vitelline. Durée: 15 à 20 minutes
 - *le magnum* où sont secrétées les protéines du blanc. Durée: 3h
 - *l'isthme* où sont secrétées les membranes coquillières. Durée: 1h15
- *l'utérus* ou glande coquillière où le blanc s'hydrate et la coquille est secrétée. Durée: 21h
- *le vagin* qui joue un rôle primordial dans la progression et la conservation des spermatozoïdes. Le vagin débouche dans la partie gauche du cloaque. Durée: quelques minutes
- *le cloaque*

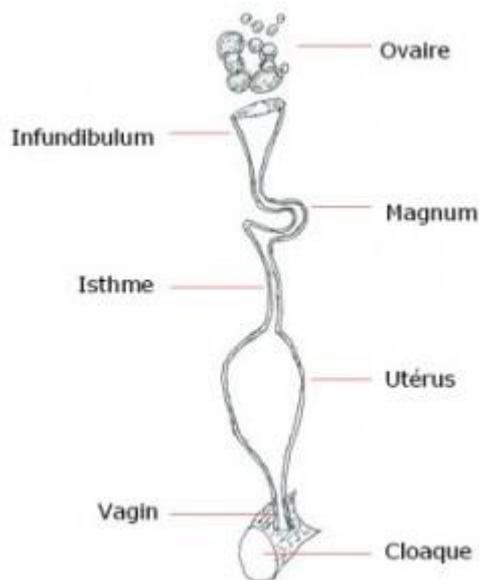


Figure 4 : Schéma de l'appareil génital de la poule (Nauciel C. 2000)

Le coq

L'appareil uro-génital du mâle comprend:

- 2 testicules
- 2 canaux déférents, qui relient les testicules au cloaque
- 2 urètres, qui conduisent l'urine des reins au cloaque

6/L'appareil digestif

On commencera par noter des absences: les lèvres, les dents, le voile du palais, le pharynx.

Après la *bouche* se trouve l'*œsophage* avec une partie dilatée appelée *jabot* où les aliments trempent dans du mucus. En palpant le jabot, on peut savoir si un animal a mangé ou non.

Plus loin, les sucs gastriques sont sécrétés dans le *pro-ventricule*, aussi appelé ventricule succenturié.

Puis le bol alimentaire arrive dans le *gésier*. Il s'agit d'un organe musculaire arrondi ayant une paroi épaisse. En absence de dents, le gésier contient souvent de petits cailloux qui aident au broyage des aliments. Ces cailloux restent dans le gésier et ne sont donc pas évacués avec la bouillie alimentaire.

Dans l'**intestin grêle**, les aliments sont encore davantage décomposés, grâce aux sécrétions du foie et du pancréas. Les substances nutritives sont absorbées et passent dans le sang.

Là où l'intestin grêle et le gros intestin se rejoignent, on retrouve 2 culs-de-sac, les *caecums*. Là certains aliments, comme la cellulose, fermentent.

La cellulose est décomposée dans le *gros intestin*.

Déjections de l'intestin et urines sont ensuite évacuées via le *cloaque*.

Comme pour tous les oiseaux, il est important que l'alimentation et la digestion n'alourdissent pas exagérément l'animal; ce qui pourrait entraver le vol. La longueur de l'intestin par rapport à la longueur du corps est donc faible (1:8) en comparaison avec un bœuf par exemple (1:30) ou un porc (1:25). (Wikipédia)

Chapitre 3

Généralités et différents caractères sur la K.pneumoniae

I- Généralité sur *Klebsiella pneumoniae*

I-1- Dénomination

Le nom *Klebsiella* provient du nom du bactériologiste Klebs (1877) et l'espèce type dénommée «pneumobacille» par Friedlander qui l'a décrit comme agent de pneumonies mortelles pendant la période 1882- 1884 (Duca et Furtunescu, 1979).

I-2- Classification

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gamma Proteobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : *Klebsiella*

Espèce : *Klebsiella pneumoniae*

Subsp. *Ozenae*.

Subsp. *Pneumoniae*.

Subsp. *Rhinoscleromatis*

Klebsiella oxytoca

Klebsiella planticola

Klebsiella terrigena

Klebsiella ornithinolytica. (George et al, 2004).

I-3- Habitat

Les espèces du genre *Klebsiella* sont présentes dans le monde entier, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales. Elles sont ubiquistes, c'est-à-dire qu'on les rencontre partout, notamment dans les milieux forestiers, le sol, eaux de surface, eaux usées, effluents industriels (papeteries, minoteries, scieries, usines textiles...), le bois, les végétaux divers, les aliments et les muqueuses des espèces hôtes (Janda et Abbott, 2006). *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* sont répandues dans la nature. On peut les isoler de l'eau, de végétaux, d'aliments divers. Ces deux espèces sont rencontrées dans la flore fécale de 30 à 40 % des

animaux sauvages ou domestiques et de l'homme. On peut les rencontrer aussi à l'état commensal sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires supérieures.

I-4- Caractères bactériologiques

I-4-1- Caractères morphologiques

Les *Klebsiella* sont des bacilles à Gram négatif (coloration bipolaire fréquente), toujours immobiles, de dimensions comparables à celles d'*Escherichia coli* (0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 0,6 à 6,0 µm de longueur), très souvent encapsulées. Cette capsule de nature polysaccharidique contient des acides hexuroniques (acides glycuronique et galacturonique) et de 2 à 4 sucres (galactose, glucose, mannose, fucose, rhamnose). La taille des capsules va en croissant de *Klebsiella pneumoniae* (5 % environ de souches non capsulées)

La culture sur milieu sucré, tel que le milieu hypersaccharosé de Worfel-Ferguson favorise la formation de capsules. Au contraire, l'évolution vers des formes non capsulées peut être obtenue par croissance en bouillon bilié à 50 % (**Richard et Grimont, 1992**). Les *Klebsiella* ont un poids moléculaire d'environ 3,36.10⁹ daltons (**Leclerc, 1983**).

I-4-2- Caractères cultureux

Sur les milieux classiques d'isolement pour les entérobactéries (Drigalski, EMB, Hektoen, MacConkey), les colonies de *Klebsiella pneumoniae* sont lactoses positives, bombées, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine (**Le Minor et Véron, 1989 ; Freney et Bollet, 2000**), d'un diamètre de 3 à 4 mm en 18 à 24 heures à 37°C.

Des milieux sélectifs ont été proposés pour l'isolement des *Klebsiella* lors d'épidémies hospitalières ou pour la numération de leurs colonies en bactériologie alimentaire :
Milieu « MacConkey- inositol- carbénicilline » (croissance possible des *Serratia*), milieu synthétique de Bruce et coll (au citrate- L- ornithine- raffinose- rouge de phénol, pH 5,6), milieu synthétique de Wong et coll (au lactose-KNO₃- rouge neutre- cristal violet), milieu synthétique de Van Kregten et coll (au citrate-inositol).

En milieu liquide (bouillon nutritif, eau peptonée), la culture est rapide (quelques heures) à 30°C et 37°C pour *Klebsiella pneumoniae* avec parfois dépôt muqueux et collerette visqueuse en surface. A 10°C,

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

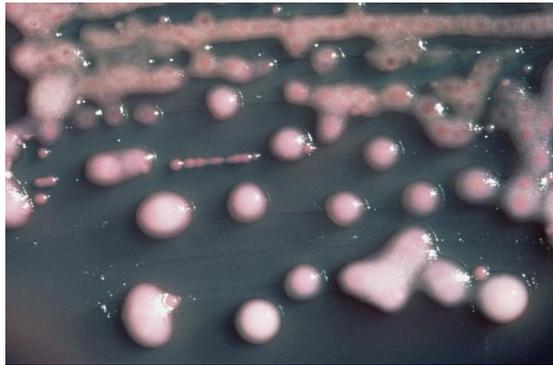


Figure 5 : Aspect des colonies de *K. pneumoniae* sur milieu gélosé (Gueye, 2007).

I-4-3- Caractères biochimiques

Les *klebsiella* sont des bactéries immobiles, non sporulées, aéro-anaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive, ODC négative, ADH négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives, bêta-glucuronidase négative. N'hydrolysant ni l'ADN ni le Tween 80, ne produisant pas d'hydrogène sulfuré et fermentant de nombreux sucres dont l'inositol. Réaction de Voges-Proskauer positive (VP+) et uréase + (**Jarlier et Nordman, 2000 ; Nauciel, 2000**).

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

Glucose	Indole	ONPG	Gaz	Mobilité	VP	RM	TDA	H2S	ODC	ADH	LDC	Citrate
+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+

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

	<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>Klebsiella oxytoca</i>
	Subsp. <i>pneumoniae</i>	Subsp. <i>ozaenae</i>	Subsp. <i>rhinosleromatis</i>	
Indole	-	-	-	+
ODC	-	-	-	-
LDC	+	V	-	+
VP	+	-	-	+

Tableau 2 : Caractères biochimiques d'identification des espèces du genre *Klebsiella* (Freney et Riegel, 2007). V : variable.

Certaines souches de *Klebsiella pneumoniae* et de *Klebsiella oxytoca* peuvent paraître « uréase - » après 24 heures à 37°C si on utilise des cultures sur gélose nutritive et un milieu réactif à l'urée du type Ferguson (par exemple, milieu « urée-indole »). Chez plus de la moitié de ces souches, l'uréase peut être mise en évidence en quelques heures, lorsqu'elles ont été cultivées sur des milieux contenant des sucres fermentescibles (milieu de Hajna ou milieu hypersaccharosé de Worfel-Ferguson) : la fermentation des glucides, en acidifiant les milieux de culture, favorise la synthèse de l'uréase par les *Klebsiella*. L'autre moitié de ces souches, effectivement dépourvues d'uréase, acidifie pour une raison inconnue le milieu «urée-indole », dont l'indicateur vire au jaune citrin (Courvalin et Phillippon, 1989).

Chapitre 4

Pathogénicité de *Klebsiella pneumoniae*

II- Pathogénicité de *Klebsiella pneumoniae*

II-1- Transmission

Klebsiella pneumoniae est responsable d'infections spontanées 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 moins souvent par la contamination de l'environnement. La transmission de *K. pneumoniae* est très facile et rapide mais ne se propage pas dans l'air. Elle est pathogène chez l'immunodéprimé, souvent traité par les antibiotiques, chez lequel elle est parfois inoculée lors de manoeuvres dans un but diagnostique ou thérapeutique. Les paramètres de santé sont les plus vulnérables aux infections à *Klebsiella* en raison de la nature des procédures qui permettent un accès facile des bactéries dans le corps et causer cette infection mortelle (**Boston Medical Research Occupational Health Program, 2012**).

II-2- Pouvoir pathogène

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

K. pneumoniae subsp. *ozaenae* est responsable d'une rhinite chronique atrophique décrite sous le nom d'ozène. Cette infection se manifeste par une ulcération chronique de la muqueuse nasale pouvant aboutir à une perforation du cartilage nasal, accompagnée de décharges nasales purulentes (**Podschun et Ullmann, 1998**). Elle a été également isolée à partir de surinfections de bronchite chronique, de bactériémies, de méningites, d'abcès cérébraux d'otites, de mastoïdites, d'infections urinaires, de surinfections de plaies et d'ulcères de la cornée.

K. pneumoniae subsp. *rhinoscleromatis* est responsable du rhinosclérome, infection granulomateuse chronique des voies aériennes supérieures,

II-3- Facteurs de pathogénicité

Les facteurs de pathogénicité de *K. pneumoniae* sont représentés dans la figure 6.

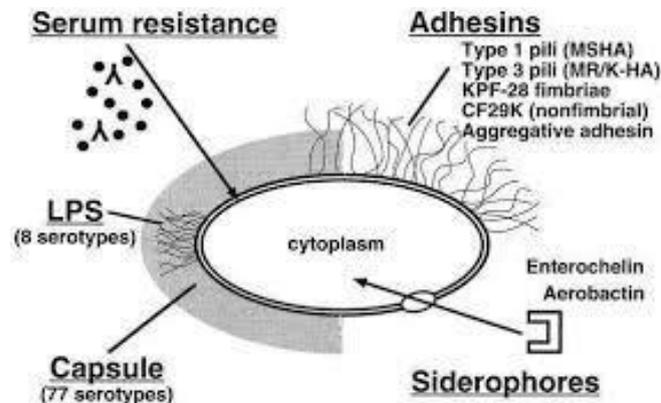


Figure 6 : Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de *K. pneumoniae* (Podschun et Ullmann, 1998).

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

II-3-1- Antigènes de surface

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

II-3-2- Le lipopolysaccharide (LPS)

Le LPS est formé de plusieurs composés : le lipide A de structure oligosaccharidique et l'antigène "O". L'antigène "O", composé le plus externe du LPS, est formé d'unités répétées de polymères d'oligosaccharides. Le lipide A correspond à l'endotoxine des bactéries à Gram négatif et participe au pouvoir pathogène. Sa libération massive dans la circulation au cours des

bactériémies conduit au choc endotoxinique. Le rôle principal du LPS in vivo est de protéger *K. pneumoniae* du pouvoir bactéricide du sérum **(Dabernat et Schlemmer, 1997)**.

II-3-3- La capsule

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

II-3-4- Adhésines

Les adhésines sont des facteurs d'adhésion produits par la majorité des souches dont deux types ont été mis en évidence chez des souches pathogènes pour l'homme : les pili de type 1 et de type 3 qui permettent l'adhérence de la bactérie à la face baso-latérale des cellules trachéales et bronchiques et une adhésine non filamenteuse (adhésine CF 29 K) qui permet l'adhérence de la bactérie aux cellules intestinales et uro-épithéliales **(Joly et Reynaud, 2002 ; Hennequin et al., 2007)**. *K. pneumoniae* peut produire des fimbriae de type 1 qui semblent être impliquées dans l'attachement aux cellules ciliées de l'appareil respiratoire et aux cellules vésicales **(Hennequin et al, 2007)**.

Elle peut également produire des fimbriae de type 3 **(Stahlhut, 2012 ; Aartsen, 2012)** dont l'importance in vivo est mal connue, mais qui pourraient permettre un attachement sur des surfaces inertes comme du matériel médical **(Lai et al., 2000 ; Di-Martino et al., 2003; Riegel 2003)**, dans une étude au Danemark, montrent que le genre fimbriae type 1 est un facteur significatif dans les infections du tractus urinaire.

Chapitre 5
Clinique et Méthode de diagnostic

1- Clinique

1-1- Respiratoire :

K. pneumoniae – est une cause importante de pneumonie et d'abcès pulmonaires d'origine communautaire ou nosocomiale. L'infection du lobe supérieur est plus fréquente. Les principaux symptômes sont la fièvre, les frissons, la leucocytose et les crachats de type « gelée de groseille » Les complications rares sont notamment l'infection pulmonaire évoluant en nécrose et en désagrégation touchant l'ensemble du lobe.

1-2 - Infections du système nerveux central :

K. pneumoniae – sont une cause de méningite et d'abcès cérébral d'origine communautaire. Les symptômes cliniques incluent les suivants : céphalées, fièvre, altération de l'état de conscience, crises convulsives et choc septique

1-3- Hépatique :

K. pneumoniae – est un agent étiologique important des abcès pyogènes du foie, dont les symptômes incluent de la fièvre, des douleurs au niveau du quadrant supérieur droit, des nausées, des vomissements, de la diarrhée ou des douleurs abdominales, et une leucocytose. Les abcès surviennent surtout dans le lobe droit et sont solitaires.

2- Méthode de diagnostic

2-1- Définition

En médecine, le diagnostic est la démarche par laquelle le vétérinaire détermine l'affection dont souffre le patient, et qui permet de proposer un traitement. Il repose sur la recherche des causes (étiologie) et des effets (symptômes) de l'affection ; on parle aussi de « tableau clinique »

2-2- Diagnostic de *k.pneumoniae (Enterobacter)*

2-2-1- Direct

(recherche de la bactérie à partir d'un produit pathologique):

Urines, Sang, Selles, LCR, Expectorations

a - examen macroscopique

b - examen microscopique

c - isolement

d - identification biochimique, quelquefois antigénique

2-2-2 Indirect (Sérodiagnostic)

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES

1 - Grande résistance naturelle à certaines familles d'antibiotiques hydrophobes (BG-)

B-LACTAMINES	Pénicillines G/V Pénicilline G Pénicillines M Oxacilline
MACROLIDES	Erythromycine.....
LINCOSAMIDES	Lincomycine, clindamycine
SYNERGISTINES	Pristinamycine
GLYCOPEPTIDES	Téicoplanine, Vancomycine

2 - Nombreux antibiotiques actifs

β-LACTAMINES

β-LACTAMINES	
Pénicillines à large spectre	
Aminopénicillines	Ampicilline, Amoxicilline....génériques
Carboxypénicillines	Ticarcilline
Urédopénicillines	Pipéracilline
Inhibiteurs de β-lactamase	Augmentin®, Timentin®, Tazobactam®
Carbapénèmes	Imipénème.....
Céphalosporines	
1G	Céfalotine, céfazoline, C. orales
2G	Céfuroxime..... (Céfoxitine)
3G	Céfotaxime, Ceftriaxone.....
Monobactame	Aztréonam

AMINOGLYCOSIDES

Gentamicine, Tobramycine, Nétilmicine, Amikacine, Isépamicine

TETRACYCLINES

1 ère Génération : Tétracycline

2ème Génération : Doxycycline

3 ème Génération : Minocycline

PHENICOLES

Chloramphénicol, Thiamphénicol

QUINOLONES

Classiques : Acide nalixique (Negram®), Fluméquine

Fluoroquinolones : Norfloxacin, Ofloxacin, Ciprofloxacine

SULFAMIDES : Sulfaméthoxazole

AUTRES : Triméthoprime, Co-trimoxazole, Nitrofurane, Fosfomycine

POLYPEPTIDES CYCLIQUES : Colimycine, Polymyxine

3 - Grande diversité de sensibilité selon les groupes ou espèces (résistance naturelle)

Exemple des β -lactamines

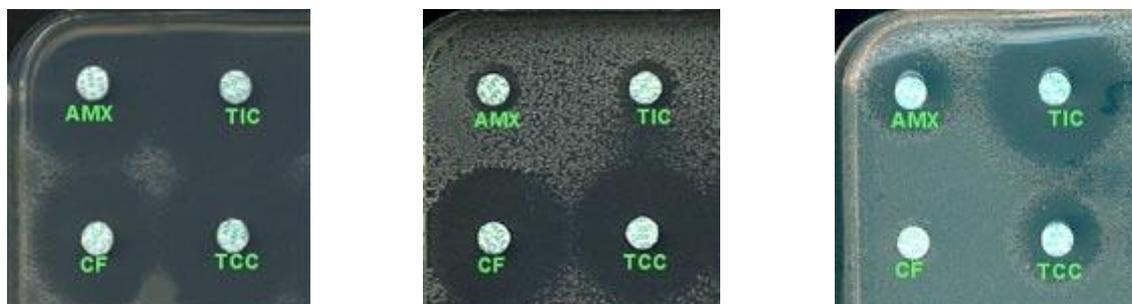
	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Aminopénicillines	S	R	R
Carboxypénicillines	S	R	S
Urédopénicillines	S	R	S
Céphalosporines			
1G	S	S	R
2G	S	S	V
3G	S	S	S

S, sensible; R, résistant; V, variable

Groupe 1 : *E. coli*, *P. mirabilis*, *Salmonella*, *Shigella*

Groupe 2 : *K. pneumoniae*

Groupe 3 : *E. cloacae*, *S. marcescens*, *C. freundii*



AMX=Aminopénicillines, TIC=Carboxypénicillines, CF=Céphalosporines 1ère génération

TCC=Carboxypénicillines+Inhibiteur de β -lactamas

Chapitre 6
L'Antibio-résistance de *klebsiella pneumoniae*

I- Resistance de *Klebsiella Pneumoniae* aux Antibiotiques

I-1- Les antibiotiques

I-1-1- Définition

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

I-1-2- critères de classifications

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

I-1-3- Mode d'action

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire sur une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie au niveau de :

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

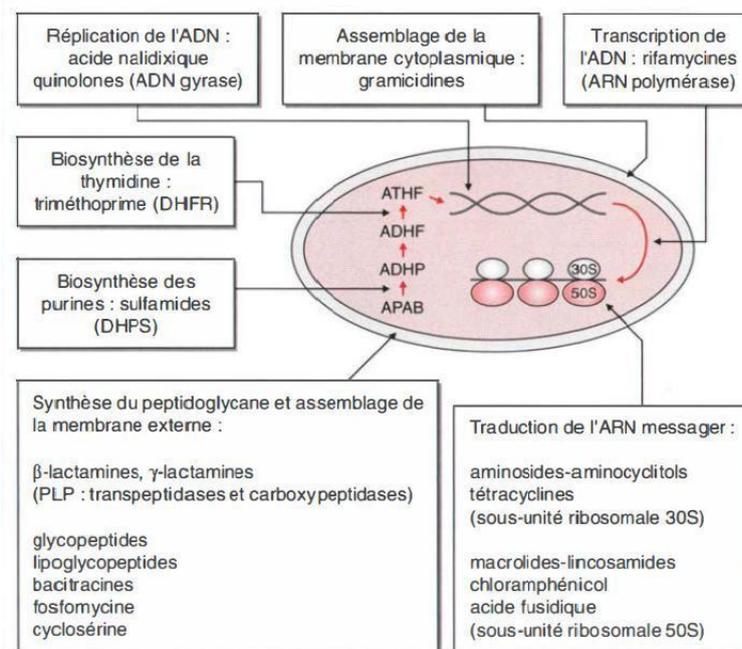


Figure 13 : Mécanisme d'action des antibiotiques (Paul H. Roy, 1997).

I-2- Notion de la résistance bactérienne

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

I-3- Types de résistance aux antibiotiques

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

I-3-1- Résistance naturelle

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

Les mécanismes de la résistance naturelle peuvent être l'imperméabilité de la paroi bactérienne ou la synthèse d'enzymes naturelle chromosomiques. *K. pneumoniae* est naturellement résistante aux aminopénicillines (amoxicilline, ticarcilline) par production d'une β -lactamase de classe A d'espèce (chromosomique) du groupe fonctionnel 2a, inhibée par l'acide clavulanique (exemple : *Klebsiella pneumoniae* 1189) (**Haeggman, 1997 ; Chaves, 1995**).

I-3-2- Résistance acquise

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

De nombreuses souches de *K. pneumoniae* résistent aux inhibiteurs des beta-lactamases (des beta-lactamases de classe A de type IRT insensibles à l'acide clavulanique (mutants d'enzymes TEM) ont été décrites) (**Lemozy, 1995 ; Bermudes, 1997**).

I-4- Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux β -lactamines

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

I-4- Mécanismes de résistance

La résistance naturelle ou acquise aux β -lactamines est caractérisée par au moins deux mécanismes qui peuvent par ailleurs être combinés : Enzymatique et non enzymatique.

a- Enzymatique

- Pénicillinase

- **Phénotype pénicillinase à bas niveau**

Klebsiella pneumoniae est naturellement résistante aux pénicillines des groupes G et A et à la carbénicilline sous l'effet d'une pénicillinase chromosomique appelée SHV1. Elle est sensible aux autres antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif (Joly et Reynaud, 2002).

☐☐Phénotype pénicillinase à haut niveau

Chez *Klebsiella pneumoniae* le phénotype pénicillinase à haut niveau se caractérise par la résistance à très haut niveau aux amino et carboxypénicillines, et par une réduction de l'activité des uréedopénicillines et des céphalosporines de première et de deuxième génération ainsi par une réduction de l'activité des pénicillines (ampicilline, ticarcilline, pipéracilline et amoxicilline) associées aux inhibiteurs de β -lactamases (Jarlier et Nordmann, 2000).

- Céphalosporinase de haut niveau

Ce sont des β -lactamases plasmidique de classe C d'Ambler qui présentent une résistance à l'ensemble des β -lactamines excepté les carbapénèmes et notamment aux C3G par acquisition

d'un gène plasmidique (AmpC) qui a migré des espèces naturellement productrices d'Amp C (groupe III des enterobactéries) sur des plasmides. Cette résistance a été décrite en 1990 pour la première fois avec MIR-1 chez *Klebsiella pneumoniae* (**Gueudet et al, 2009**).

Klebsiella pneumoniae, ont connu un grand nombre de β -lactamase plasmidiques de classe C qui dérivent des céphalosporinases chromosomiques. On peut citer FOX-1 et MOX-1 (homologues à AmpC de *P. aeruginosa*), et LAT-1 et CMY-2 (homologues à AmpC de *Citrobacter freundii*) (**Sougakoff et Trystram 2003**). Les premières souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* ayant acquis un plasmide codant pour une β -lactamase de classe C sont décrites en 1988 (**Cavallo et al, 2004**).

- Carbapénèmases

Les carbapénèmases de classe A, les plus fréquentes, sont les carbapénèmases de type KPC (KPC-2 à KPC-8). La première souche exprimant KPC-2 (*Klebsiella pneumoniae* carbapénèmase) fut identifiée dans une souche de *K. pneumoniae* en 1996, aux États-Unis. KPC-2 hydrolyse toutes les β -lactamines sauf les céfamycines et la ceftazidime (**Nordmann et al, 2010**). Son activité est partiellement inhibée par l'acide clavulanique ou le tazobactam. Parmi les céphalosporines de troisième génération, les KPC hydrolysent le plus efficacement le céfotaxime. (**Grall et al, 2011**). Les souches qui produisent KPC expriment également d'autres β -lactamases dont de nombreux types de BLSE (TEM, SHV, CTX-M). Les souches KPC apparaissent donc le plus souvent multirésistantes aux β -lactamines, l'ertapénème étant la carbapénème dont le niveau de résistance est le plus élevé (**Nordmann et al, 2010**).

Les enzymes de type GES sont initialement des BLSE dont seuls quelques variants touchent les carbapénèmes. Ces carbapénèmases de type GES (GES-2, 4, 5 et 6) ont été identifiées dans le monde entier de façon sporadique ou lors de petites épidémies chez *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli* et *E. cloacae* (**Grall et al, 2011**).

Les carbapénèmases de classe B : les enzymes de type VIM (Verona Integron encoded Metallo- β -lactamase) et IMP (Imipénémase) qui représentent la majorité des carbapénèmases de classe B ont été rejointes en 2008 par une nouvelle enzyme appelée NDM-1 (New Delhi metallo- β -lactamase 1). Le cas décrit était celui d'un patient d'origine indienne ayant auparavant été hospitalisé à New Delhi. Ce type d'enzyme a été principalement isolé chez *K. pneumoniae* (**Boutet-Dubois et al, 2012**).

La carbapénamase de classe D, OXA-48, décrite chez *K. pneumoniae*, hydrolyse fortement les carbapénèmes et n'hydrolyse pas les céphalosporines de 3ème génération. Son activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique (**Nordmann et al, 2010**). La première souche de *K. pneumoniae* productrice d'OXA-48 a été isolée en Turquie en 2003 (**Boutet-Dubois et al, 2012**).

β-lactamase à spectre élargi (BLSE)

Depuis le milieu des années 1980, notamment chez *Klebsiella pneumoniae*, et presque exclusivement en milieu hospitalier, des phénotypes de résistance acquise caractérisés par une forte diminution de l'activité des pénicillines, des céphalosporines de première, deuxième et troisième générations et de l'aztréonam. Ces phénotypes se caractérisent de plus par une très forte synergie entre les β-lactamines inactivées et les inhibiteurs de β-lactamases de type acide clavulanique (disque d'augmentin ou de claventin) (exemple, *K. pneumoniae* 1249). On peut noter que certaines BLSE sont caractérisées par une activité faible vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération. Dans ce cas, le niveau de résistance est bas et les images de synergies sont plus discrètes (exemple, *K. pneumoniae* 1112). Ces phénotypes sont la conséquence de la production de β-lactamases plasmidiques appelées «à spectre élargi » en raison du nombre plus élevé de substrats qu'elles sont capables d'inactiver par référence aux β-lactamases «à spectre élargi» classiques de type TEM-1 ou 2 ou SHV-1, dont elles dérivent par mutations ponctuelles (**Jarlier et Nordmann, 2000**). En 2009 plus de 160 variants de TEM et 100 variants de SHV sont connus (**Carrer et Nordmann, 2009**) dont la diversité des β-lactamases à spectre étendus décrites dans *Klebsiella pneumoniae* est très grande, des BLSE tels que TEM-3, TEM-10, TEM-12, TEM-24, TEM-26 ont été décrites. De nombreux variants de types SHV sont également connus (SHV-4, SHV-5, SHV-6 ou SHV-8) (**Sougakoff et Trystram, 2003**). Plus récemment, la BLSE TEM-52 a été caractérisée : elle présente une activité inhabituelle vis-à-vis du moxalactame, ainsi qu'une synergie entre cet antibiotique et le clavulanate.

Il existe un autre type de β-lactamases à spectre étendu il s'agit de CTX-M, enzymes hydrolysant le cefotaxime, la ceftriaxone plus efficacement que ceftazidime (**Gniadkowski, 2001 ; Villegas et al., 2004**). C'est une grande famille phylogénétiquement différentes de TEM

et SHV, qui comprend plus de 19 enzymes (**Arafa, 2011**). En juin 2009 la dissémination de ces enzymes concerne maintenant l'ensemble des entérobactéries notamment *Klebsiella pneumoniae*. Les enzymes de type CTX-M sont divisées en 5 sous-groupes phylogénétiquement différents (**Carrer et Nordmann, 2009**).

La résistance au cefepime et au cefpirome a été récemment décrite chez *Klebsiella pneumoniae* et semble liée à la combinaison de deux mécanismes : la production à haut niveau d'une BLSE SHV-5 et une diminution de la perméabilité de la membrane externe (**Sougakoff et Trystram, 2003**). La production de β -lactamase à spectre élargi confère à *Klebsiella pneumoniae* une large résistance aux β -lactamines. Parmi ces dernières et selon la variété de l'enzyme, seuls l'imipénème et encore souvent les céphamycines demeurent stables vis-à-vis des β -lactamase à spectre élargi (**Boukadida et al, 2002**). La résistance à l'imipénème chez k.p peut être due à l'association d'une imperméabilité de la membrane externe (perte d'une porine de 42 Kda) à une production à haut niveau d'une beta-lactamase plasmidique de classe C (ACT- 1, homologue à AmpC de *E. cloacae* et MIR-1).

Non enzymatique

- Diminution de la perméabilité

Des mécanismes de résistance aux carbapénèmes, ont été décrits combinant une céphalosporinase plasmidique (DHA-1, cmY-2...) ou une BLSE (TEM, SHV, CTX-M...) à une imperméabilité dans des espèces d'entérobactéries qui n'expriment pas naturellement de céphalosporinases comme *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* et *Salmonella spp*. L'analyse des propriétés biochimiques de plusieurs céphalosporinases plasmidiques montre que certaines d'entre elles ont une très faible activité de carbapénémase qui pourrait entraîner un certain degré de résistance aux carbapénèmes en association avec une imperméabilité (**Nordmann et al, 2010**).

Les souches de *K. pneumoniae* possèdent un certain degré de résistance aux céfépime et au

cefpirome par imperméabilité ainsi que les souches qui produisent KPC **(Nordmann et al, 2010)**. Une résistance à l'ertapénème par perte de porine chez des souches de *K. pneumoniae* ou d'*E.coli* productrices de CTX-M et exposées à des concentrations croissantes d'ertapénème **(Grall et al, 2011)**.

III-5- Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux aminosides

Comme la plupart des entérobactéries, *Klebsiella* présente une résistance aux aminosides gentamicine et à la nétilmicine alors que leur résistance à l'amikacine, ciprofloxacine est faible **(Hmamouchi et al, 2005)**. La résistance acquise résulte d'une mauvaise pénétration de l'aminoside à l'intérieur de la cellule bactérienne ou de la modification enzymatique des antibiotiques par phosphorylation (APH aminoside phosphotransférase), nucléotidylation (ANT aminoside nucléotidyltransférase) ou acétylation (AAC aminoside acétyltransférase) **(Archambaud et Clave, 2008)**.

En 1990 14% en moyenne des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les CHU étaient productrices de BLSE mais l'écart aller de 2 a 47% selon les centres. Leurs profil de résistance a d'autres antibiotiques que les beta-lactamines indique une résistance aux aminosides de 74% pour l'Amikacine, de 95% pour la Tobramycine ; elle n'est que de 40 a 55% pour la Gentamycine, l'enzyme d'inactivation des aminosides produit par les *Klebsiella* étant une acétylase de type AAC6'IV qui n'active pas la Gentamycine ; celle-ci peut être inactivée par une autre acétylase de type (AAC(3)II) ou par une adénylase de type ANT (2'') produites par *klebsiella pneumoniae*, bactérie susceptible de présenter une multi-résistance aux aminosides (kanamycine, gentamycine, tobramycine, netilmecine-R) associé ou non a la production des BLSE **(Eyquem et al., 2000)**.

III-6- Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux quinolones :

La résistance des bactéries, notamment *Klebsiella pneumoniae*, aux fluoroquinolones est devenue préoccupante tant en milieu hospitalier qu'en médecine communautaire. Les quinolones sont des composés antibactériens de synthèse dont le chef de file, l'acide nalidixique, a été décrit en 1962 par Lesher et coll (**Lesher et Brundage, 1962**).

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

III-6-1- résistance par la modification de la cible

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

III-6-2- résistance par défaut d'accumulation

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

III-6-3- résistance plasmidiques aux quinolones

Le support de la résistance aux quinolones étaient supposé être uniquement chromosomique jusqu'en 1998 où Martinez-Martinez à découvert le premier déterminant de résistance plasmidique aux quinolones chez *K. pneumoniae* qui est un plasmide transférable (pMG252) qui héberge le gène qnr A. La protéine codée par le gène de résistance (qnr A) à été nommée QNR

A, de 218 acides aminés appartenant à la famille des protéines à motifs pentapeptidiques répétés qui protège le complexe ADN-gyrase de l'inhibition par les quinolones. Quatre autres déterminants plasmidiques également impliqués dans la résistance aux quinolones ont été rapportés (qnr B, qnr S, qnr C et qnr D), ainsi que différents variants des protéines Qnr A et Qnr B. **(Meradi et al, 2009)**. Il existe une fréquente association entre les déterminants génétiques de type Qnr et ceux des BLSE, ce qui souligne la possibilité d'une co-sélection de ces deux mécanismes de résistance plasmidique **(Ben Haj Khalifa et al, 2010)**.

Chapitre 7
Prophylaxie de la pathologie

Définition :

La prophylaxie désigne le processus actif ou passif ayant pour but de prévenir l'apparition, la propagation ou l'aggravation d'une maladie¹, par opposition à la thérapie curative, qui vise à la guérir.

Le terme fait aussi bien référence à des procédés médicamenteux qu'à des campagnes de prévention ou à de « bonnes pratiques » adaptées. La prophylaxie peut être l'initiative d'une personne qui s'est exposée à un risque (par exemple lié aux infections sexuellement transmissibles (IST)). Une prophylaxie peut amener à suivre un traitement médical, mais il s'agit avant tout d'un processus liant la prise de conscience d'un risque constaté ou pressenti, à une réponse médicale ou sanitaire. (Wikipédia)

Pour éviter toutes les accidents et les erreurs il faut d'abord suivre le protocole de prophylaxie sanitaire nécessaire pour les bâtiments d'élevage de poule de chaire.

Conduite d'élevage :

En élevage avicole, la pratique de la bande unique (un seul âge et une seule souche par ferme) de façon à respecter le système << tout plein - tout vide >> constitue la règle d'or de l'élevage. En effet, la réussite de la conduite d'élevage nécessite la maîtrise par l'aviculteur de plusieurs composantes relatives à : l'hygiène, les normes d'élevage, les conditions d'ambiance, les éléments de comptabilité et de gestion.

A/Vide sanitaire

Le choix du site de la ferme et la conception des bâtiments visera à préserver au maximum l'élevage de toute source de contamination. La protection sera renforcée par la mise en place des barrières sanitaires. A l'intérieur du bâtiment, la protection sanitaire nécessite la pratique du vide sanitaire. En effet, entre le départ d'une bande et la mise en place d'une bande suivante, le bâtiment et les équipements doivent être lavés et désinfecter selon un protocole précis comprenant les opérations suivantes :

- 1- retirer l'aliment restant dans les mangeoires et / ou le silo et chaîne,
- 2- Retirer le matériel et la litière,
- 3- Laver le matériel, puis détremper le dans la solution pendant 24 H et le stocker dans un

endroit propre. Rincer à l'eau tiède sous pression de préférence,

4- Balayer, brosser, racler et gratter le sol, le mur et le plafond,

5- Nettoyer la totalité du bâtiment sans rien oublier : un très bon nettoyage élimine 80% des microbes,

6- Chauler ou blanchir les murs à l'aide de la chaux vive,

7- Désinfecter par thermo-nubélisation ou par fumigation au formaldéhyde tout en respectant les mesures suivantes :

7-1- Mettre à l'intérieur du bâtiment tout le matériel préalablement lavé, · Bien fermer toutes les fenêtres et autres ouvertures, ·

7-2- Dans un (ou plusieurs) récipients, ajouter du formol, de l'eau et du permanganate de potassium (KmnO4). Ne jamais ajouter le formol au permanganate. La dose recommandée est de 40 ml de formol, 20 ml de KmnO4 et 20 ml d'eau par m3 du bâtiment, pour le formol en poudre on utilise 4kg /1000m2 dans un diffuseur électrique, ·

7-3- Laisser le bâtiment bien fermé pendant 24 à 48 heures,

8- Décaper le bac à eau et les canalisations avec des produits adaptés : alcalins-chlorés pour l'élimination des matières organiques et acides pour éviter l'entartrage,

9- Mettre en place un raticide et un insecticide,

10- Laisser le bâtiment bien aéré et au repos pendant 10 à 15 j, toutefois la durée de repos peut être prolongée jusqu'à 30 à 40 j si l'exploitation connaît des problèmes sanitaires,

N.B. : La qualité du vide sanitaire doit être liée non à sa durée, mais à l'efficacité de la désinfection,

B/ jour de réceptions des poussins

1-Remplir les abreuvoirs avec de l'eau sucrée (20grammes de sucre dans un litre d'eau) pour que l'eau d'abreuvement prenne la température ambiante et donner de l'énergie facilement utilisable par les poussins,

2-Réception des poussins

3-Les opérations à effectuer le jour de l'arrivée des poussins sont :

4-Décharger les poussins rapidement et si possible dans la semi obscurité en prenant soin de déposer les boites à poussins sur la litière et non sur le sol,

5-Vérifier l'effectif reçu,

6-Vérifier la qualité du poussin qui s'apprécie par sa vivacité, un duvet soyeux et sec, un

pépiement modéré, l'absence de symptômes respiratoires un ombilic bien cicatrisé, le poids et l'homogénéité sont aussi des critères importants (pesée de 200 poussins pris au hasard), pas de mortalité et pas de débris de coquilles dans les boîtes,

7-Faire un triage si nécessaire afin tout en éliminant les sujets morts, malades, à faible poids, chétifs ou qui présentent des anomalies et des malformations (bec croisé, ombilic non cicatrisé, abdomen gonflé, pattes mal formées....),

8-Déposer soigneusement les poussins dans la garde sans chute brutale pour éviter des lésions articulaires car les poussins ne volent pas,

9-Remettre la lumière au maximum quand tous les poussins ont été déposés dans leur aire de vie,

10-Vérifier que tous les appareils de chauffage fonctionnent normalement et que leur hauteur est bien adaptée.

Conclusion

Conclusion

La pathogénicité de *K. pneumoniae* a été mise en évidence parmi les infections dangereuses pour la santé publique en particulier le domaine vétérinaire peut causer une diminution de production, retard de croissance et perte économique grave.

Selon l'épidémiologie de *K. pneumoniae* la multi-antibio-résistance favorise la difficulté pour traiter cette maladie par un fort taux de résistance des plusieurs familles des antibiotiques (les β -lactamines, les aminosides, et les quinolones) dans ce cas le diagnostic est très important.

Le mal usage des antibiotiques et le manque d'hygiène sont des facteurs pour aggraver la maladie, la prévention est importante pour éviter l'épidémie probable par des mesures d'hygiène strictes. L'utilisation des antibiotiques doit être raisonnée selon souches de *K. pneumoniae*.

En Algérie *K. pneumoniae* doit être limitée par des structures de soins plus rationnelles dans les différentes régions rurales pour éviter les différentes pertes dans le monde vétérinaire.