

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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



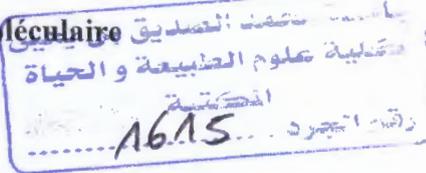
Université de Jijel

جامعة جيجل

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

كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة

Département de Biologie Moléculaire
et Cellulaire



قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

*Mémoire De Fin D'études Pour L'obtention Du Diplôme
Des Etudes Supérieures en Biologie*

Option : Microbiologie

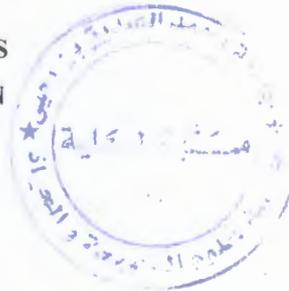
Intitulé

**Evaluation des méthodes de détection des *Klebsiella*
responsables d'infections nosocomiales**

Membres de Jury :

Examineur : M^{elle} LAGGOUNE. S

Encadreur : M^{elle} ADJEROUD. N



Présenté par :

BOUAKAZ Wissam

BOUCHEMLA Imane

BOUKADOUM Rym

Année Universitaire : 2009- 2010

Remerciements

Grâce a dieu le tout puissant, ce travail a pu être terminé.

Nous avons le plaisir d'adresser nos vifs remerciements

à :

*M^{elle} N. ADJEROUD promoteur de ce projet, pour ces
conseils et l'aide précieuse qu'elle n'a pas hésité à nous
offrir Tout au long de notre travail.*

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

*Que l'examinatrice M^{elle} S. Laggoune soit tous
spécialement*

*Remerciee pour avoir accepté de nous consacrer une
partie de son temps, afin d'examiner et de juger notre
travail.*

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I. Infections nosocomiales	
I-1- Définition des infections nosocomiales.....	2
I-2- Mode de transmission.....	4
I-2-1- Exogène.....	4
I-2-2- Endogène.....	5
I-3- Facteurs de risques.....	8
Chapitre II. Les <i>Klebsiella</i>	
II-1- Définition et classification.....	9
II-2- Habitat.....	9
II-3- Morphologie.....	10
II-4- Caractère culturaux.....	10
II-5- Caractère biochimiques.....	10
II-6- Structure antigéniques.....	11
II-7- Pouvoir pathogène.....	11
II-8- Facteur de pathogénicités.....	12
II-8-1- La capsule.....	12
II-8-2- les pilis ou fimbriaes.....	12
II-8-3- Les sidérophores	13
II-8-4- Les lipopolysaccharides et résistance au sérum.....	14
II-9- Profils de la résistance de <i>Klebsiella</i> aux antibiotiques.....	15
II-10- Epidémiologie.....	17
II-10-1- Fréquence de la propagation de <i>Klebsiella</i>	18
Chapitre III. Méthode d'identification et de détection de <i>Klebsiella</i>	
III-1- La biotypie.....	21
III-2- Méthodes culturales.....	22
III-3- L'antibiogramme.....	23
III-4- Sérotypage.....	24
III-5- Méthodes d'immunofluorescence Indirecte.....	24
III-6- Test d'ELISA.....	25
III-7- Détection de <i>Kelebsiella</i> par la méthode d'immunoélectrophorèse (CIE).....	26
III-8- Détection de <i>Kelebsiella</i> par chromatographie gaz liquide pyrolyse (PGLC).....	26
III-9- Le typage de <i>Klebsiella</i> par bactériocine (klébochine).....	27
III-10- Détection de <i>Klebsiella</i> par SDS-PAG.....	29

III-11- Détection de <i>Klebsiella</i> par bactériophage.....	29
III-12- Méthodes moléculaires.....	30
III-12-1- Identification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	31
III-12-2- Détection de <i>Klebsiella</i> par électrophorèse sur gel en champ pulsé (PFGE).....	32
Chapitre IV. Méthodes préventives	
IV-1-1- Les efforts de vaccinations.....	34
IV-1-1- Lipopolysaccharides (LPS).....	34
IV-1-2- Les polysaccharides capsulaires (CPS).....	35
IV-2- Traitement et médicaments pour les infections à <i>Klebsiella</i>	35
IV-3- Consignes de prévention.....	37
Conclusion	38
Références bibliographiques	39

Liste des tableaux et figures

Liste des tableaux :

Tableau 1: Les caractères biochimiques différentiels de quelques espèces de <i>Klebsiella</i> ...	11
Tableau 2 : Tests biochimiques pour l'identification d'une bactérie <i>Klebsiella</i> provenant d'un échantillon clinique	22

Liste des figures :

Figure 1: Fréquence relative d'infections nosocomiales dans les différents endroits du corps, données provenant de la branche « surveillance nationale des infections nosocomiales » des Centres de prévention et de contrôle des maladies	4
Figure 2: Transmission exogène.....	6
Figure 3: Transmission endogène.....	7
Figure 4: Facteurs de risque	8
Figure 5: Morphologie de l'espèce <i>K. pneumoniae</i>	9
Figure 6: Facteurs de pathogénicités de <i>Klebsiella</i>	15
Figure 7: Pourcentage de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Hôpital Kirchbeg REA)	17
Figure 8: <i>K. pneumoniae</i> sur gélose MacConky	23

Liste des abréviations

- ACCS:** Association Canadienne des Centres de Sciences.
- ADH:** Arginine Dihydrolase.
- BLSE:** Béta Lactamase à Spectre Elargi.
- CCLIN:** Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiale.
- CDS:** Centre for Disease Control.
- CHU:** Centre Hospitalier Universitaire.
- CIE:** contre Immuno-électrophorèse.
- CPS:** Capsular Polysaccharides.
- DDASS:** Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociale.
- EARSS:** European Antimicrobial Resistance Surveillance Systeme.
- ELISA:** Enzyme Linked Immunosorbent Assay.
- GN:** Gélose Nutritive
- LPS:** Lipopolysaccharides.
- ODC:** Ornithine Décarboxylase.
- PCR:** Polymerase Chaîne Réaction.
- PGLC:** Pyrolyse Gaz-Liquide Chromatography.
- RFLP:** Restriction fragment length polymorphism.
- RMPA:** Rocky Mountain Paralegal Association.
- SARM:** *Staphylococcus aureus* Résistant à la méticilline.
- SDS-PAGE:** Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis.
- USI:** Unité de soins Intensifs.

Introduction

Introduction:

L'hôpital est un lieu où l'on traite mais c'est également un lieu où l'on peut contracter des maladies infectieuses; ce sont les infections nosocomiales, rançon du progrès en matière de techniques diagnostiques et thérapeutiques [1].

En effet, la multiplication et la sophistication des techniques de soin devenues de plus en plus invasives, mais aussi l'état d'immunodépression profonde de certains patients, représentent des terrains propices à ces infections; par ailleurs l'émergence de souches multi-résistantes posant des problèmes d'impasse thérapeutiques, a compliqué la prise en charge de bon nombre de ces infections acquises à l'hôpital.

Les infections nosocomiales constituent donc un sérieux problème de santé publique pour lequel l'impact en matière de morbidité et de surcoût est aussi important, sinon plus que celui en matière de mortalité [1].

Les microorganismes en cause sont le plus souvent des bactéries de l'environnement telles que *Klebsiella* en particulier l'espèce *K. pneumoniae* qui durant les dernières décennies est devenue une importante cause d'infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter; des épidémies sont causées par des souches résistantes à une large variété d'antibiotiques surtout celles productrices des β -lactamase (BLSE) et sont fréquentes en médecine interne, soins intensifs et en néonatalogie [2].

La mise en évidence du caractère épidémique de l'infection est importante pour la mise en œuvre rapide de mesures préventives, donc l'identification exacte des microorganismes est d'une importance capitale dans la définition de la propagation chez les patients [3]. Dans cet optique nous nous sommes intéressés à faire une évaluation des différentes méthodes d'identifications des *Klebsiella* et à estimer leur responsabilités dans ces infections.

Pour cela notre étude contiendra quatre chapitres:

- Le premier chapitre présente des généralités sur les infections nosocomiales.
- Le second chapitre sera réservé sur une étude sur le genre *Klebsiella* comme exemple de bactérie responsable d'infections nosocomiales.
- Le troisième chapitre porte sur la présentation et l'évaluation de quelques méthodes d'identification et de détection de *Klebsiella*.
- Le dernier chapitre est consacré à la lutte et aux moyens de prévention contre ces infections.

Chapitre I

Infections nosocomiales

I- les Infections nosocomiales:

I-1- Définition:

Le terme « nosocomiale » provient du mot grec *nosos*; « maladie » et *komein*; « soigner ». Les infections nosocomiales sont acquises au cours d'hospitalisations et qui par conséquent, ni lors de l'admission ni au cours de l'incubation; il s'agit donc de maladies infectieuses (bactérienne, virales, parasitaires, fongiques, à prions.....) cliniquement ou microbiologiquement identifiables, contractées dans une structure de soin pouvant concerner soit le malade, soit le personnel soignant du fait de son activité [1].

Le caractère nosocomial est basé essentiellement sur le délai écoulé entre l'admission et le début de l'infection, ce délai doit être supérieur à la durée d'incubation de l'infection.

Les infections nosocomiales surviennent donc:

- Après les 48 premières heures d'hospitalisation: le délai de 48 h correspond à la durée d'incubation minimum d'une infection aigüe liée à une bactérie à croissance rapide.
- Dans les 30 jours après intervention chirurgicale.
- Dans l'année qui suit la mise en place de matériels chirurgicales (implant ou prothèse)
L'infection peut se déclarer pendant le séjour ou après la sortie de l'hôpital [1].

Elles sont inévitables dans bien de cas et relativement fréquentes; de l'ordre de 5 à 7% des patients hospitalisés.

Ces infections présentent divers degrés de gravité et constituent un important enjeu de santé publique, qui concerne aussi bien les patients et leurs entourages que l'ensemble des professionnels de la santé [4].

Toutes les infections n'ont pas la même gravité ni la même fréquence. Quatre types représentent 80% des infections nosocomiales: les infections urinaires en représentent 50%, suivies des infections pulmonaires, des infections du site opératoires (c'est-à-dire survenant après chirurgie) et des septicémies. Les plus graves sont les septicémies et les infections pulmonaires.

Les microorganismes isolés dans les infections nosocomiales concernent avant tous les bactéries (dans 2/3 des cas). Les bactéries les plus souvent en cause sont par ordre décroissant: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* [site 1].

Plus de 75% des étiologies des pneumopathies communautaires sévères sont représentées par *Streptococcus pneumoniae* (33%), les bacilles à Gram négatif (17%), *Staphylococcus sp* (10%) [5].

Certaines de ces bactéries posent avant tout le problème des multirésistances aux antibiotiques, en particulier le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et les *Klebsiella* résistantes aux β -lactamines à large spectre (BLSE) qui représentent un véritable problème d'actualité [4].

Non seulement les infections nosocomiales sont fréquentes, mais elles sont dues à des germes de plus en plus résistants aux antibiotiques, au point de rendre le traitement problématique.

La France a été le premier pays à connaître la diffusion épidémique des souches de *Klebsiella* productrices de nouvelles enzymes plasmidiques conférant une résistance aux antibiotiques β -lactamines à large spectre [site 1].

Les microbiologistes connaissent bien le problème de l'augmentation de la résistance aux antibiotiques utilisés en médecine, la distribution des infections nosocomiales s'est modifiée depuis l'avènement des antibiotiques. Au début, il s'agissait surtout d'infections à Staphylocoques qui répondaient à la pénicilline. Par après, les Staphylocoques résistants à la méticilline apparurent. En ce qui concerne les bâtonnets à Gram négatifs qui deviennent résistants aux β -lactamines, des bactéries comme *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, d'autres *Klebsiella sp* et autres bactéries sont résistants aux céphalosporines de première génération et à certaines céphalosporines de troisième génération [6]. La figure 1 illustre la fréquence relative d'infections nosocomiales dans les différents endroits du corps, données provenant de la branche « surveillance nationale des infections nosocomiales » des « Centres de prévention et de contrôle des maladies ».

- **Sources inanimées:** la source inanimée concerne les germes de l'environnement, quelques exemples de foyers exogènes inanimés sont la nourriture, les équipements de thérapie intraveineuse et respiratoire, ainsi que le matériel, l'air, l'eau, le sol, les animaux (chats et insectes...etc.) et les végétaux qui comportent une flore microbienne souvent riche [8] (figure2).

I-2-2-Endogène:

Le patient s'est contaminé avec ses propres germes, la flore commensale se trouve sur toutes les parties du corps en contact avec l'extérieur (la sphère oropharyngée, le tube digestif, la peau et le vagin), elle joue un rôle important dans la protection [8].

Les pathogènes endogènes sont soit amenés par le patient dans l'hôpital, soit acquise lorsque le patient est colonisé après son admission [8].

Cette flore est souvent modifiée par rapport à celles des sujets sains du fait de la maladie, de ses conséquences et d'éventuels traitements antibiotiques antérieurs avec en particulier une augmentation de la fréquence des bactéries à Gram négatif et résistantes aux antibiotiques par sélection naturelle dans la flore de souches résistantes, notamment sous l'effet des antibiotiques reçues [9] (figure3).

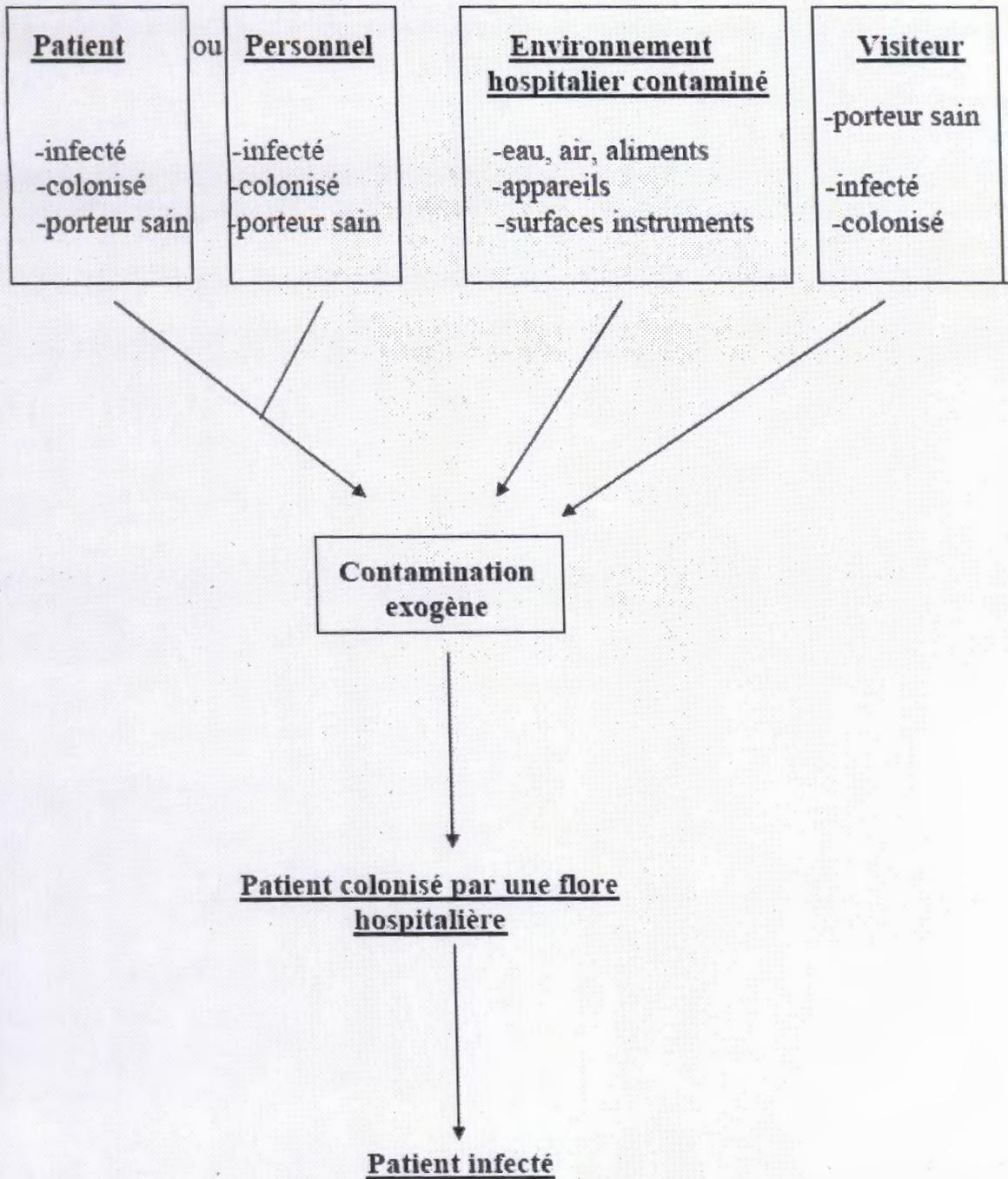


Figure 2: Transmission exogène [10].

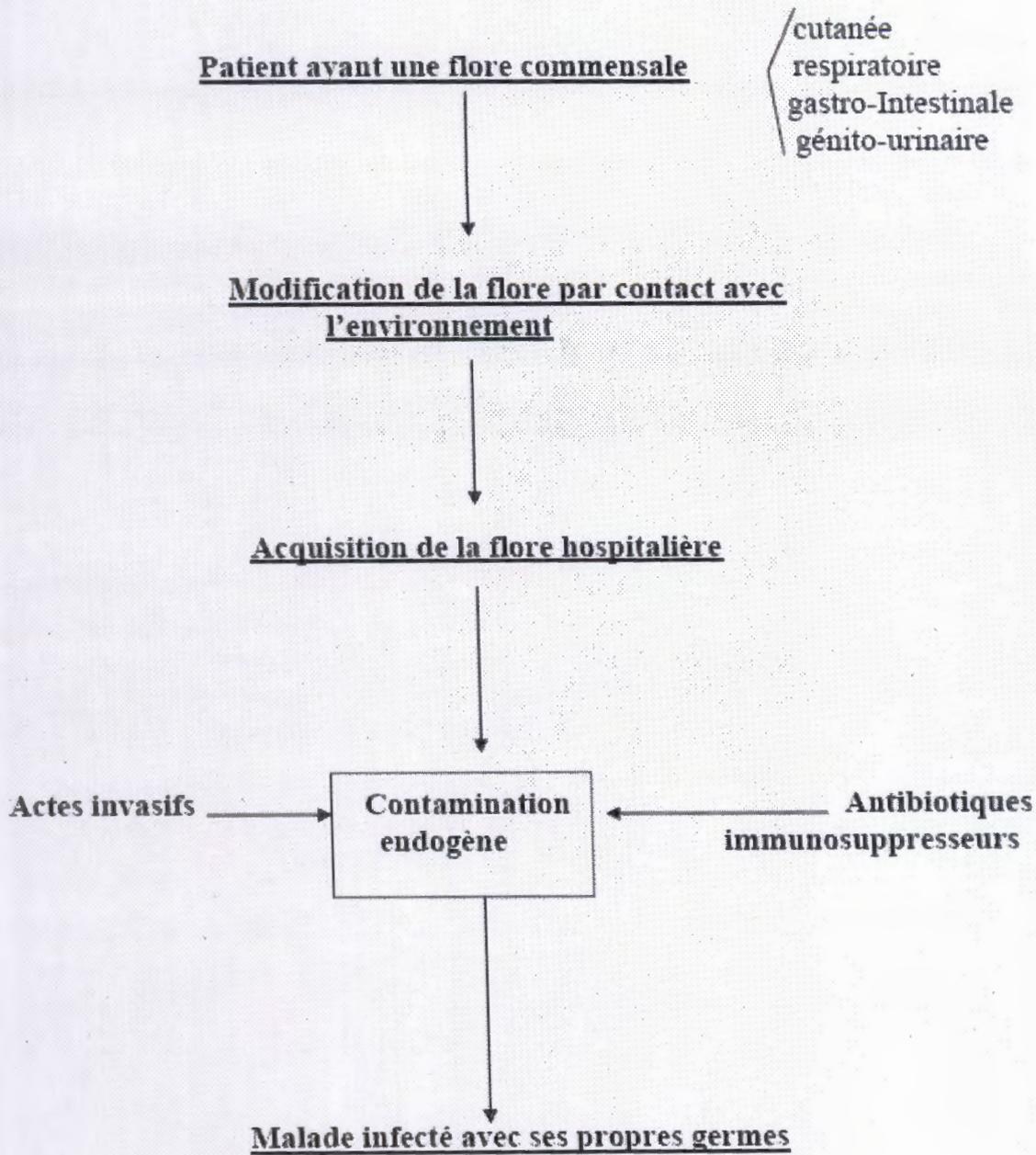


Figure 3: Transmission endogène [10].

I-3- Les facteurs de risques:

Les infections nosocomiales sont liées à plusieurs facteurs, on peut citer entre autre:

- Concentration importante des germes en milieu hospitalier
- Gravité des pathologies motivants l'hospitalisation (en réanimation: pathologies diverses, défaillances multi viscérales, poly-traumatismes, plaies opératoires).
- Importance des procédures invasives diagnostiques ou thérapeutiques, on considère que 45% des infections nosocomiales surviennent chez les patients porteurs de dispositifs invasifs où subissent un acte invasif.
- Augmentation du nombre de patients immunodéprimés plus sensible à l'infection.
- Augmentation du nombre de personnes âgées (le risque d'infection nosocomiale augmente avec l'âge).
- Augmentation du nombre de personnels qui gravitent autour des malades (transmission croisées).
- Défaut d'application des règles d'hygiène et d'asepsie (manque de formation, problème de matériel, conception architecturale des services; la construction des laboratoires doit être conforme aux normes internationales) [site 1]. La figure 4 représente les proportions de différents facteurs de risques.

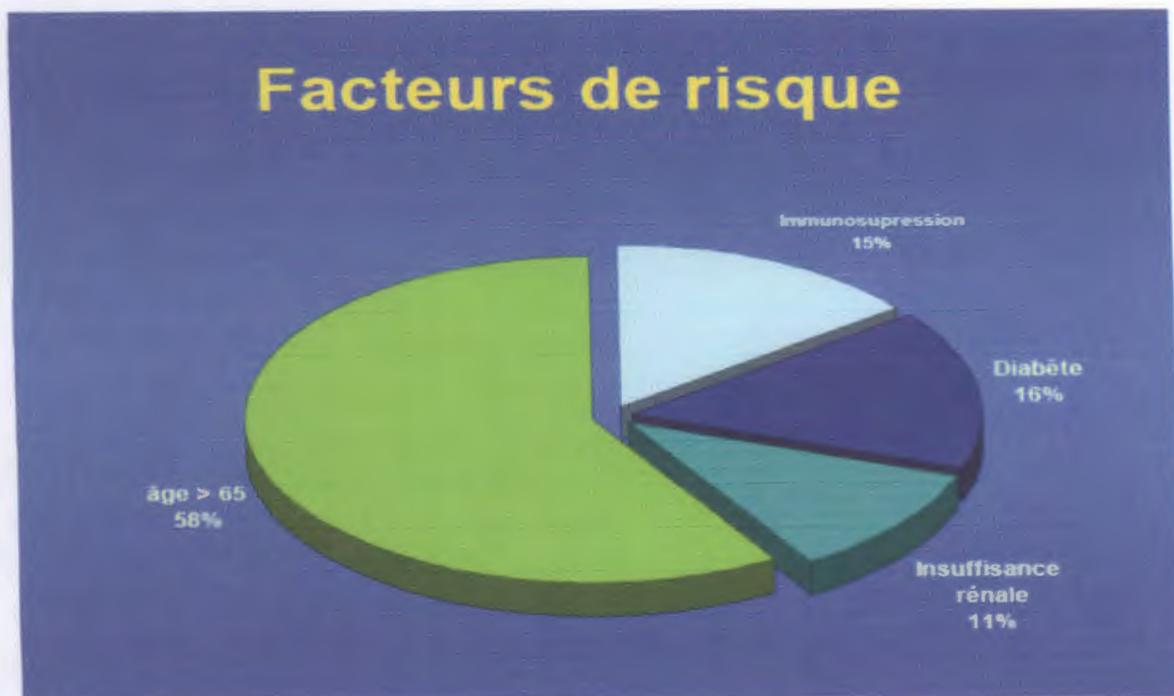


Figure 4: Facteurs de risques d'infections nosocomiales [11].

Chapitre II
Les Klebsiella

II-1- Définition et classification:

Klebsiella est une *enterobacteriaceae* découverte au début des années 80 dans le crachat d'un malade atteint de pneumonie [site 2].

Cette bactérie a été nommée par un microbiologiste allemand du 19^{ème} siècle appelé Edwin Klebs [12].

La classification des différentes espèces de *Klebsiella* est discutée:

Dans le début des années 80, *Klebsiella* isolé de l'environnement avait précédemment été classé comme « organismes *Klebsiella* like » et a été de plus en plus classé en taxons provisoires [2].

Néanmoins 7 espèces sont usuellement reconnues: *Klebsiella pneumoniae* (figure5), *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella panticola*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella rhinoscleromatis* et *Klebsiella ornithinolytica*.

K. pneumoniae, *K. oxytoca* également *K. rhinoscleromatis* et *K. ozaenae* sont les espèces les plus souvent rencontrées en bactériologie médicale [12]. Ces espèces sont pathogènes pour l'homme, *K. terrigena* et *K. panticola* sont retrouvés dans l'environnement, alors que *K. ornithinolytica* est pathogène pour les oiseaux.



Figure 5: Morphologie de l'espèce *K. pneumoniae* [13].

II-2- Habitat:

Les *Klebsiella*, sont ubiquitaires dans la nature. Elles ont probablement deux habitats communs, l'un étant l'environnement, où elles se trouvent dans les eaux de surfaces, les eaux usées, les sols et les plantes, et l'autre étant la surface muqueuses des mammifères comme l'homme, les chevaux et les porcs, ou elles colonisent le tube digestif, l'appareil respiratoire de

l'homme et des animaux, elles sont fréquentes dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale [2].

A cet égard, le genre *Shigella* et *Escherichia coli* sont présents seulement chez l'homme et pas dans l'environnement, ce qui est différent pour *Klebsiella* qui peut se trouver chez l'homme et dans l'environnement [2]. *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont les espèces les plus souvent rencontrées surtout en milieu hospitalier [14].

II-3- Morphologie:

Les *Klebsiella* sont des bactéries bacilles, à Gram négatif, immobiles. Généralement bipolaires de 0,3 à 1,0 μm de longueur, la majorité des souches sont capsulées et en forme de tige, se présentant de manière isolée; ou groupées par deux ou en courtes chaînes [site 2].

II-4- Caractères cultureux:

Les *Klebsiella* sont des aérobie anaérobies facultatifs, lactose (+), se cultivant facilement sur milieu ordinaire (comme milieu GN) donnant après une incubation de 24h à 37C° des colonies généralement rondes, bombées, muqueuses. Cet aspect muqueux est en relation avec la présence habituelle d'une capsule plus au moins volumineuse. Sur milieu Hektoen, elles sont de couleur jaune [14].

II-5- Caractères biochimiques:

Les *Klebsiella* sont des bacilles aérobie anaérobies facultatifs, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif (fermente le glucose), oxydase négative, catalase positive, ODC négative, ADH négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négative, la β -lactamase-glucuronidase négative, ne produisant pas le sulfure d'hydrogène et fermentant de nombreux sucres dont l'inositol [site 2]. Mais il existe des caractères différentiels entre les espèces de *Klebsiella* (tableau 1).

Tableau 1: Caractères biochimiques de quelques espèces de *Klebsiella* [15] :

	<i>K. oxytoca</i>	<i>K. ozaenae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. rhinoscléromatis</i>
Lactose	+	d	+	-
Gaz en glucose	+	d	+	-
ONPG	+	(+)	+	-
Urée	+	-	+	-
Indole	+	-	-	-
VP	+	-	+	-
Citrate de Simmons	+	d	+	-
Saccharose	+	(-)	+	(+)

(): Exception, d: Caractère variable, +: présence, -: absence.

VP: Voges-Proskauer, ONPG: Ortho-nitrophénol B-galactoside.

II-6- Structure antigénique:

Les *Klebsiella* possèdent deux types d'antigène:

- Antigène O: est un lipopolysaccharide et il existe environ 8 antigènes O [16] mais une étude plus récente cite un nombre égale à 9 antigènes [12].
- Antigène K: est un polysaccharide capsulaire au nombre de 77 antigènes.

Ces deux antigènes peuvent contribuer à la pathogenicité de *Klebsiella* et leur variabilité structurale est utilisée pour la classification des différents sérotypes, les virulences de tous les sérotypes semblent similaires [12].

II-7- Pouvoir pathogène:

Les bactéries appartenant au genre *Klebsiella* sont souvent à l'origine d'infections nosocomiales chez l'homme; la grande majorité des infections à *Klebsiella* sont associées à l'hospitalisation et sont considérées comme des agents pathogènes opportunistes [2].

Klebsiella spp attaque principalement les personnes immunodéprimées qui sont hospitalisées et souffrants de maladies graves comme le diabète sucré ou l'obstruction chronique pulmonaire [2]; elles causent aussi la pneumonie communautaire survenant notamment chez les alcooliques chroniques qui montre des anomalies radiographiques caractéristiques dues à une infection pyogénique sévère ayant un taux de fatalité élevé si elle n'est pas traitée [17].

Chez l'homme, *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae* sont responsables d'infection diverses (infections suppuratives, infections urinaires, infections respiratoires,

infections biliaires, infections hépatiques, infections intraabdominales, bactériémies, septicémies...). Elles sont responsables d'environ 5 à 10% d'infections nosocomiales [2].

Des travaux réalisés en Inde rapportent également l'isolement des souches de *K. pneumoniae* comme dans le cas de diarrhées chez le jeune enfant. En raison du terrain débilité sur lequel elles se développent, les septicémies à *Klebsiella* ont un pronostic très sévère [site 2].

K. ozaenae n'est pratiquement isolée que d'infections respiratoires chroniques, elle est rarement isolée d'urines ou d'hémocultures, il en est de même pour *K. rhinoscleromatis* qui est plus fréquente en Afrique [14].

II-8- Facteur de pathogénéité:

Les termes « facteur pathogène » et « facteur de virulence » sont utilisés indifféremment pour certains auteurs. Tandis que, d'autres mettent l'accent sur une distinction claire entre eux dans cet avis, le terme « pouvoir pathogène » définit la capacité d'une bactérie à provoquer une maladie alors que la virulence est la mesure ou le degré de pathogénicité d'une espèce bactérienne [18]. Parmi les facteurs de pathogénicité:

II-8-1- La capsule:

Elle a été le premier facteur de virulence décrit, elle protège les bactéries de la phagocytose et du pouvoir bactéricide du sérum. In vitro, la présence d'une capsule diminue l'attachement aux cellules intestinales HCT-8 et aux cellules T-24, toutefois, in vitro, 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 et que les types capsulaires K₁, K₂, K₄ et K₅ sont les plus pathogènes outre leurs fonctions antiphagocytaires [site 2]. La capsule polysaccharidique de *Klebsiella* inhibe la différenciation et la capacité fonctionnelle des macrophages. L'infection par fortes doses de ces capsules polysaccharidiques peut même provoquer une paralysie immunitaire [2].

II-8-2- Les pilis ou fimbriaes:

Les propriétés adhésives des *Klebsiella* sont aussi caractérisées par une projection filamenteuse à la surface bactérienne. Ces structures ont un diamètre de 1 à 11 nm avec une longueur de 10 microns [19]. Elles sont constituées de sous unités de polymères protéiques globulaires ayant une masse moléculaire de 15 à 26 Kd [20]. Les pilis ont une capacité à s'agglutiner aux érythrocytes de différentes espèces animales. En se basant sur l'inhibition par le

D-mannose, ces adhésines sont désignées hémagglutinines sensibles ou résistantes au mannose [2].

Parmi les types de pili de *Klebsiella sp*, il existe 2 types prédominants:

- Type 1: sont les plus étudiés des adhésines bactériennes et sont aussi impliquées dans l'attachement aux cellules ciliées de l'appareil respiratoire et aux cellules vésicales [site2]. Ces pilis sont sensibles au D-mannose et s'agglutinent aux érythrocytes. La protéine d'adhésion de ce type de pili est localisée sur l'axe du pili et est capable de s'attacher aux trisaccharides contenant le mannose des glycoprotéines de l'hôte [2].
- Type3: contrairement à d'autre pilis, ce type s'agglutine seulement à des érythrocytes traités par le Tannin. Malgré son nom « hémagglutinine de *Klebsiella* résistant au mannose » qui implique qu'il est synthétisé seulement par *Klebsiella*, d'autres études ont montré que le pili type3 est retrouvé chez plusieurs autres genres entériques [2].

II-8-3- Les sidérophores:

La croissance des bactéries dans les tissus de l'hôte est limitée non seulement par les mécanismes de défense de l'hôte, mais aussi par son supplément en fer disponible. Le fer joue un rôle essentiel dans la croissance et la multiplication bactérienne et la majorité des bactéries pathogènes ont développé des systèmes de captation du fer; les souches de *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont aptes à synthétiser trois sidérophores [site 2]. Ces sidérophores sont des chélateurs de fer spécifiques de faible poids moléculaire secrétés pour assurer un supplément en fer dans l'environnement de l'hôte par liaison compétitive au fer attaché aux protéines de l'hôte [2]. Le niveau de fer libre disponible (10^{-8} M) est trop faible pour une croissance bactérienne normale [site 2].

L'effet marqué de l'approvisionnement en fer chez l'organisme hôte dans la pathogénicité des infections a été démontré pour *Klebsiella*, après l'administration de fer dans un modèle de cochon d'Inde, la susceptibilité aux infections à *K. pneumoniae* a augmenté de façon spectaculaire. La grande majorité des souches synthétisent de l'entérobactine; son rôle dans la virulence est encore mal connu; dans le sérum ce sidérophore est inactivé par l'albumine et des antigènes A, cependant l'entérobactine semble être un facteur de virulence important dans les infections urinaires. La ferrioxamine et l'aérobactine sont les plus importants sidérophores, contrairement aux entérobactines, la contribution de l'aérobactine à la virulence bactérienne a été clairement démontrée. L'aérobactine dont l'introduction des plasmides codant pour ce sidérophore dans une souche qui en est dépourvue permet d'augmenter la virulence [site 2].

II-8-4- Les lipopolysaccharides et résistance au sérum:

La première ligne de défense de l'hôte contre les microorganismes envahisseurs comprend en plus de la phagocytose l'effet bactéricide du sérum qui est effectué principalement par les protéines du complément. En réponse à cette défense de l'hôte, les microorganismes pathogènes ont développé des stratégies pour lutter contre l'effet bactéricides du sérum. La plupart des bactéries commensales Gram négatif sont sensibles à l'effet bactéricide du sérum humain, alors que les souches pathogènes présentent souvent des propriétés de résistance du sérum, la fonction de la résistance au sérum a été associée à l'apparition de l'infection et la sévérité des symptômes [2].

Le mécanisme exact qui explique la résistance de *Klebsiella* au sérum bactérien est inconnu, les CPS (polysaccharides capsulaires) et les antigènes O des LPS (lipopolysaccharides) sont impliqués. Néanmoins, deux hypothèses ont été émises [21].

Premièrement, les polysaccharides de la capsule peuvent couvrir et masquer les LPS et présentent une structure de surface qui ne peut pas contribuer à l'activation du complément, d'autre part, les chaînes latérales O du LPS peuvent traverser la capsule et peuvent être exposés au milieu extérieur dans certains types capsulaire de *Klebsiella* [22].

Puisque les LPS sont généralement capable d'activer le complément, le C₃b se lie automatiquement aux LPS. Cependant comme il se fixe préférentiellement à la plus longue des chaînes latérales O-polysaccharidique, le C₃b est loin de la membrane bactérienne ainsi, la formation du complexe d'attaque membranaire lytique [C₃b- C₉] est empêchée et la mort cellulaire n'aura pas lieu. Toutefois, toutes les études antérieures dans ce domaine ont été réalisées avec des souches exprimants le sérotype O₁ même si cet antigène est le plus commun trouvé parmi les isolats cliniques de *Klebsiella*, un certain nombre de différents sérotypes O, beaucoup d'entre eux des polysaccharides neutres, sont connus [2].

A ce jour, il est difficile de savoir si la résistance au sérum est médiée par le seul antigène O₁ ou si sa fonctionnalité est également conférée par les LPS des *Klebsiella*. Néanmoins, même au sein d'un sérotype O donné, la résistance au sérum ne semble pas être une caractéristique stable; les facteurs environnementaux et les conditions d'osmolarité influent sur la composition ainsi que l'effet du LPS; les même cellules bactériennes sont résistantes au sérum lorsqu'elles se trouvent dans un milieu d'osmolarité élevée chez l'hôte tels que les voies urinaires, et sont sensibles au sérum dans un milieu à faible osmolarité comme les voies respiratoires [2] (figure 6).

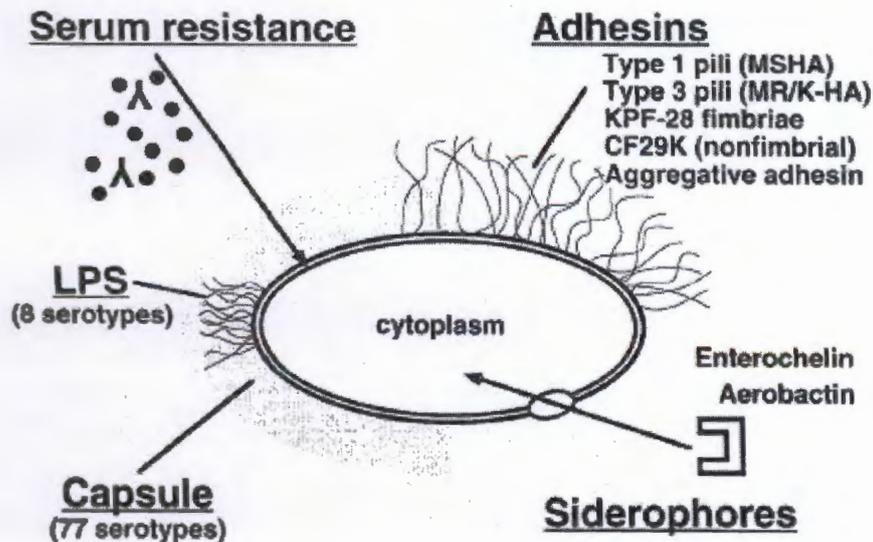


Figure 6: Facteurs de pathogénicité de *Klebsiella* [2].

II-9- Profil de la résistance de *Klebsiella* aux antibiotiques:

Les pathogènes à Gram négatif en milieu hospitalier appartiennent à différentes familles bactériennes représentées majoritairement par les entérobactéries (*Escherichia coli*, *K. pneumoniae* et *Pseudomonas*), différentes par leur virulences, ils représentent en commun la propriété d'avoir naturellement (résistance naturelle), ou de développer (résistance acquise) des résistances aux antibiotiques; facteur essentiel de leur sélection en milieu hospitalier. La dissémination des résistances résulte soit de la dissémination d'une souche résistante dans l'environnement soit de la dissémination de gènes de résistance au sein d'espèces bactériennes différentes, pratiquement, trois types de problèmes thérapeutiques (prescrire un antibiotique efficace et éviter la sélection de mutants résistants); un problème microbiologique car certaines résistances sont difficiles à détecter au laboratoire et nécessitent la mise en œuvre de méthodes spécifiques (par exemple β -lactamase à spectre élargi; un problème épidémiologique pour les équipes de contrôle de l'infection qui doivent limiter la dissémination des souches résistantes. En face de la complexité et de l'efficacité des stratégies bactériennes à résister aux antibiotiques, l'association des compétences des cliniciens, des microbiologistes et des équipes de contrôle de l'infection s'impose [23].

La β -lactamine appartient à une famille d'antibiotiques qui se caractérise par un anneau β -lactame. Les pénicillines, les céphalosporines, les céphamycines et carbapénèmes sont membres de cette famille. L'intégrité de l'anneau du β -lactamine est nécessaire pour l'activité qui entraîne l'inactivation d'un ensemble de transpeptidase qui catalyse les réactions de

réticulation finales de la synthèse du peptidoglycane. La résistance aux β -lactamines dans les isolats cliniques est principalement due à l'hydrolyse de l'antibiotique par une β -lactamase produite principalement par *Escherichia coli* et *K. pneumoniae*, inactivant toutes les β -lactamines, y compris les céphalosporines de troisième et quatrième génération; qui sont habituellement actives contre les bacilles à gram négatif; à l'exception des carbapénèmes et les céphamycines [24]. Aujourd'hui de nombreuses épidémies hospitalières (Services de soins intensifs; services de néo-natologie) [25] dues à des entérobactéries productrices de BLSE, appartenant souvent, à l'espèce *K. pneumoniae* ont été rapportées (figure 7). Ces souches posent un problème microbiologique lié à la difficulté de leur détection, donc les méthodes spécifiques de détection de BLSE doivent être appliquées au laboratoire [26].

A ce jour, deux tests de diagnostic ont été les plus couramment utilisés pour la détection de ces isolats. Dans le test de synergie double disque, un disque d'acide clavulanique et un disque de céphalosporine à spectre étendu, comme la ceftazidime, sont placés sur une surface d'agar inoculé avec l'organisme d'essai. La progression de la zone d'inhibition autour du disque de céphalosporine vers le disque contenant le clavulanate indique la présence d'une souche productrice de BLSE. Un produit disponible dans le commerce est le test de dépistage BLSE (AB Biodisk, Solna, Suède). Cette méthode est basée sur l'évaluation de la différence entre l'activité antimicrobienne de la ceftazidime seule comparée à celle de la ceftazidime avec l'acide clavulanique [2].

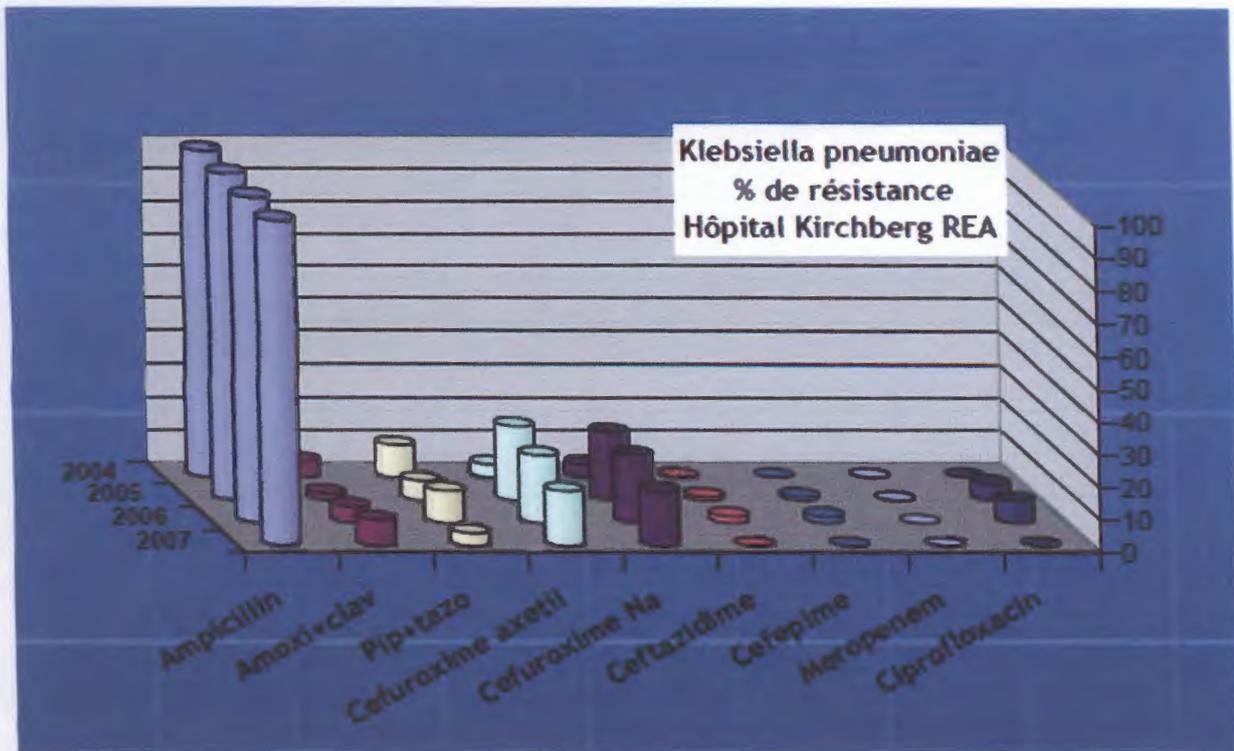


Figure 7: Pourcentage de résistance de l'espèce *Klebsiella pneumoniae* (hôpital Kirchberg REA) [27].

II-10- Epidémiologie :

Ces germes sont très répandus dans la nature, on peut les isoler à partir du sol, de l'eau, des végétaux et de divers aliments, chez l'homme ils peuvent coloniser la peau [29], le pharynx et le tractus intestinal. La bactérie *Klebsiella* peut être considérée comme la flore normale dans de nombreuses parties du côlon et de tube digestif et des voies biliaires. Le transport oropharyngé a été associé à l'intubation endotrachéale [12]. Les *Klebsiella* sont retrouvées dans la flore fécale de 30 à 40% des individus sains; seules les souches de l'espèce *K. pneumoniae* et son biotype *K. oxytoca* semblent responsables d'infections spontanées en dehors du milieu hospitalier. Ces infections spontanées ne présentent que 25% des infections à *Klebsiella*, les autres étant des infections nosocomiales acquises en milieu hospitalier, sont transmises par aérosols (humidificateur). Dans le cas de pneumopathies, la transmission se fait par manipulation du matériel souillé (cathéter, antiseptique cutané...) [28].

Les principaux réservoirs pathogènes de ces infections sont le tractus gastro-intestinal des patients et les mains du personnel hospitalier; les micro-organismes peuvent se propager rapidement ce qui conduit souvent à des épidémies nosocomiales [12].

K. pneumoniae cause des changements distinctifs au niveau des poumons: la nécrose, l'inflammation, la maladie affecte généralement les hommes d'âge moyen et les plus âgés

souffrant de maladies débilitantes tels que le diabète ou les maladies chroniques broncho-pulmonaires. *K. oxytoca* a été impliqué dans une bactériémie néonatale, en particulier chez les prématurés et dans les unités néonatales de soins intensifs. *K. rhinoscléromatis* est responsable d'un processus inflammatoire chronique des voies respiratoires (cette infection est fréquente en Afrique du nord, dans l'Afrique centrale...); alors que *K. ozaenae* est responsable d'une rhinite atrophique chronique [12].

L'utilisation intensive des antibiotiques chez les patients hospitalisés conduit à la propagation des *Klebsiella* et le développement des souches multi résistantes qui produisent à large spectre la β -lactamase (BLSE). Ces souches sont très virulente montrant le type capsulaire K₅₅ et ont une capacité extraordinaire à se propager; la plupart des épidémies sont dues à un seul clone ou a un gène unique, l'intestin est le site majeur de la colonisation à l'infection des voies urinaires, des voies respiratoires; la bactériémie et les taux élevés de mortalités résultent des ces infections. L'acquisition de ces espèces est devenue un problème majeur dans la plupart des hôpitaux en raison de la résistance à plusieurs antibiotiques et du transfert potentiel de plasmides à d'autres microorganismes [12].

II-10-1-Fréquence de la propagation de *Klebsiella*:

La capacité que possède *Klebsiella* à se propager rapidement conduit souvent à des éclosions d'infections nosocomiales. Parmi les infections nosocomiales 145 épidémies sont rapportées dans la littérature publiée en anglais entre 1983 et 1991, dont 13 ont été causées par *Klebsiella*.

Selon les statistiques du «Centre de contrôle et de prévention des maladies» (CDC) d'Atlanta en USA *Klebsiella spp* compte pour 8% des infections nosocomiales endémiques et 3% d'infections épidémiques. D'après les estimations *Klebsiella* cause 8% de toutes les infections nosocomiales bactériennes en USA et en Europe sans grande variation géographique; aux états unies on compte 3 à 7 % les plaçant parmi les huit plus importants agents pathogènes infectieux dans leurs hôpitaux. Les données recueillies à partir du royaume unie et d'Allemagne sont remarquablement similaire à ceux fournis par le CDC [2]. En 2001 en France, *K. pneumoniae* représentait 3% des microorganismes isolés d'infections nosocomiales [site 3].

La fréquence de la résistance aux antibiotiques est profondément différente d'un pays européens à l'autre. L'étude présentée en 1992 aux grands congrès américains d'antibiothérapie publiée quelques années plus tard avait montré des différences considérables de taux de résistance, les taux de résistance de bacille à Gram négatif sont également élevés dans certains Pays européens, prenant parfois l'aspect de véritable bouffée épidémique pour *K. pneumoniae*. Plus tard, en 2005 la résistance aux antimicrobiens de *K. pneumoniae* à été enregistré dans la

base de données EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) globalement, 24 pays ont fourni des données sur les 4942 souches. Quatre familles de molécules sont surveillées: les céphalosporines de 3^{ème} génération, les carbapénèmes, les aminosides et les fluoroquinolones.

La France figure parmi les pays européens présentant une proportion de résistances de *K. pneumoniae* aux céphalosporines de 3^{ème} génération avec 5%. Toutefois, cette proportion a augmenté considérablement à travers l'Europe; par exemple, huit pays de l'Est et l'Europe du sud compte plus de 25% soit supérieur qu'en France [site 4].

Le 4 juin 2004, l'INVS (Institut National de Veille Sanitaire) est informé de la survenue de cas groupés d'infections ou colonisation à *K. pneumoniae* multi résistantes aux antibiotiques dans un service hospitalier de la région parisienne (France), la souche identifiée est résistante à toutes les β -lactamines, y compris à l'imipramine. La colistine est le seul antibiotique actif qui reste utilisable par voie générale; ses indications réduites limitent fortement les possibilités thérapeutiques chez les patients infectés [site 4].

Du 2 décembre 2003 au 3 mai 2004, cette souche a été isolée chez six patients du même service de chirurgie. Le cas index avait été transféré d'un hôpital en Grèce et était porteur de la souche (colonisation digestive) à son admission le 2 décembre 2003.

Entre le 15 février et le 30 mai 2004, cinq infections ont été diagnostiquées parmi les patients du service; 3 patients sont décédés dont un de septicémie. Un 7^{ème} cas était diagnostiqué le 17 juin lors d'une consultation de suivi chez un patient du même service rentré le 24 mai à domicile: il s'agit d'une colonisation digestive et le patient n'est pas infecté. Cet épisode a fait l'objet d'un signalement (décret du 26 juillet 2001) par l'établissement le 25 mai 2004, un des 6 patients transféré dans un centre de rééducation, a aussi fait l'objet d'un signalement par l'établissement receveur; des mesures de contrôle ont été mises en place dans les deux établissements concernés en liaison avec le CCLIN (Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales) et DDASS (Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociale) concernés. Aucun autre cas secondaire n'a été signalé en dehors du service hospitalier d'origine au 22 Juin [site 3].

Dans la majorité des pays européens, à l'exception de l'Allemagne (2%, n=110) ainsi que la Grèce (28%, n=773) la résistance des souches de *K. pneumoniae* au carbapénèmes est inférieure à 1% qu'en France [site 4].

Récemment une analyse statistique en Algérie a été effectuée au sein de l'hôpital universitaire de Constantine entre septembre 2002 et juin 2004 sur 170 souches de *K. pneumoniae* dont les résultats obtenus ont fait l'objet d'une comparaison à ceux du programme national, justement ils ont remarqué qu'il y a une évolution progressive vers la

résistance, particulièrement pour les β -lactamines puisque le taux de BLSE passe de 44,3% en (2001-2002) à 60% en 2004. La variabilité est significative (pourcentage inférieur à 0,005). Ces valeurs comparées à la Tunisie à 75% restent relativement basses et élevées par rapport à d'autres pays tel que la Corée du sud avec 30% et la France avec seulement 11,4%. Cette prévalence est inquiétante pour le clinicien et le biologiste, puisque ces souches résistantes causent des infections nosocomiales qui apparaissent dans des épidémies et sont associées à l'échec de traitement, prolongation de séjour à l'hôpital avec augmentation du taux de mortalité; l'émergence de ces souches BLSE est due principalement à l'évolution de la β -lactamase, en conjonction avec l'altération des porines [3].

Dans une autre enquête à Dakar selon l'étude faite en service de néonatalogie au CHU (Centre hospitalier Universitaire) de Dakar en 2001, des souches isolées d'hémoculture étaient à 100% des productrices de BLSE en majorité *K. pneumoniae* avec 79,2%. Ce taux très élevé attire l'attention sur la fréquence des multiresistances bactériennes dans les pays en développement.

Les infections nosocomiales restent un problème de santé avéré en Afrique intertropicale, s'intégrant dans le cadre globale et complexe du développement. Une sonnette d'alarme doit être tirée sur le respect des règles d'utilisation des antibiotiques et sur la nécessité de mettre en place une surveillance épidémiologique [29].

Chapitre III
Méthodes d'identification et
de détection des Klebsiella



D'un point de vue épidémiologique, il est souvent nécessaire d'identifier les souches bactériennes. Ceci est particulièrement important dans le déclenchement d'infections nosocomiales endémiques ou épidémiques causées par les *Klebsiella* pour améliorer la gestion de tels déclenchements. Une variété de méthodes a été utilisée avec différents degrés de réussite dans le typage des *Klebsiella* [2].

Celles-ci peuvent être classées en méthodes conventionnelles, en méthodes immunologiques, en analyses biochimiques et en méthodes génétiques.

III-1- La biotypie:

Les microorganismes ont été identifiés sur la base de leurs croissances ou des caractères biochimiques mais il faut isoler et faire croître les bactéries avant de pouvoir utiliser les tests diagnostiques qui confirmeront l'identification de l'agent pathogène. Après examen des caractéristiques microscopiques et de croissance d'une bactérie, des tests biochimiques spécifiques « biotypie » peuvent être effectués [6].

La biotypie est basé sur un panel étendu de tests biochimiques et culturels; elle est certainement la méthode d'identification la plus pratiquée au sein des petits laboratoires qui ne sont pas épistémologiquement équipé de manière optimale [2].

Elle peut être effectuée de façon traditionnelle en utilisant des macrotubes seulement ou en combinant un système disponible dans le commerce miniaturisé tel que le système API20 avec des tests supplémentaires de macrotubes, toutefois en raison du grand nombre de réaction à tester et à la culture qui prennent souvent du temps (jusqu'à 90 jours pour la démonstration de la gélatinase). La biotypie des *Klebsiella* n'est pas vraiment utilisée comme un outil épidémiologique [2]. Ces tests sont très importants pour l'identification de microorganismes comme *Klebsiella* mais ils prennent beaucoup de temps [2]. C'est pour cette raison qu'ils ont été remplacés par d'autres méthodes plus rapides et plus précises.

Le tableau ci-dessous représente quelques tests biochimiques pour la discrimination de *Klebsiella*:

Tableau 2: Tests biochimiques pour l'identification d'une bactérie provenant d'un échantillon clinique [6].

Test biochimique	Description	Résultat
Catalase	Détection de la présence de la catalase qui convertit l'eau oxygénée en eau et O ₂	Différenciation de <i>Klebsiella</i> (+)
IMVIC (indole, rouge de méthyle ; voges proskauer, citrate)	<p>La recherche d'indole détecte la production d'indole à partir de tryptophane.</p> <p>Le rouge de méthyle est un indicateur de pH déterminant si une bactérie a produit des acides.</p> <p>La réaction de voges proskaur (VP) détecte la production d'acétoïne.</p> <p>Le test au citrate détermine si la bactérie peut utiliser ou pas le citrate de sodium comme seule source de carbone.</p>	Séparation d' <i>Escherichia</i> (RM+, VP-, indole-) et <i>K. pneumoniae</i> (RM-, VP+, indole (-))
Uréase	Détecte l'enzyme qui scinde l'urée en NH ₃ et CO ₂	Distinction de <i>K. pneumoniae</i> (+) des autres bactéries comme <i>Salmonella</i> (-), <i>Shigella</i> (-) et <i>Escherichia</i> (-)

III-2- Méthodes culturales:

Les milieux de cultures sélectifs pour *K. pneumoniae* jouent un rôle important dans les études des infections nosocomiales [30].

Sur un milieu gélosé, qui comprends l'ornithine, le raffinose et le citrate de Koser, les souches de *K. pneumoniae* se développent sous forme de colonies jaunes mucoïdes en 24h avec une certaine augmentation de la taille des colonies en 48h [30].

D'autres membres des *enterobacteriaceae* ont été inhibés ou produits en petites colonies roses sur ce même milieu, des espèces de *Pseudomonas*, *Providencia*, *Acinetobacter* et *Proteus* n'ont pas pu se développer ou bien ils ont connu une croissance très faible. La croissance et l'apparition de ces bactéries ne sont pas influencées par des changements de pH sur une gamme de pH de 5,2 à 6,4. Parmi 368 échantillons de différents sites du corps cultivés sur gélose MacConkey et sur le milieu d'essai testé, 121 isolats de *K. pneumoniae* sont apparus sur gélose MacConkey et le même nombre est apparu sur le milieu d'essai. Il n'y avait pas de différences entre les deux milieux de cultures, cependant après ensemencement direct des selles, plus de colonies de *K. pneumoniae* ont été isolées sur le milieu d'essai que sur la gélose MacConkey. Les colonies sur le milieu d'essai étaient plus facilement sélectionnées et identifiées que les colonies sur gélose MacConkey. Il n'y avait pas également d'inhibition de la croissance de *K. pneumoniae* sur le milieu d'essai en comparaison avec la gélose au sang. Ce milieu peut être donc très utile pour l'isolement sélectif de *K. pneumoniae* [30] (figure8).

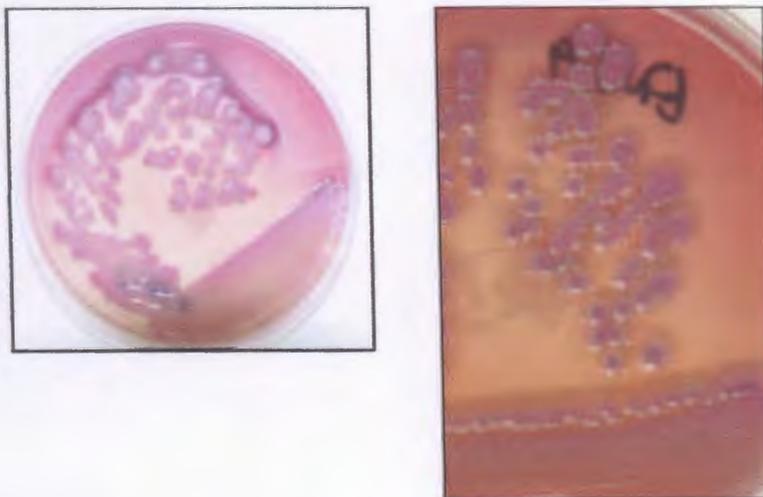


Figure 8: *K. pneumoniae* sur gélose MacConkey [31].

III-3- L'antibiogramme:

L'antibiogramme ou la détermination de la sensibilité aux agents antibactériens est l'étude de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentrations réalisé dans un milieu de culture. Ainsi, cette méthode conventionnelle sert à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne qui orientera ultérieurement l'antibiothérapie probabiliste, à la comparaison des phénotypes de résistance de souches présumées responsables d'infections

nosocomiales et à l'identification bactérienne par la mise en évidence des résistances naturelles [15].

III-4- Sérotypage:

La technique est basée sur la mise en évidence d'une réaction spécifique entre un anticorps présent dans un sérum test et un antigène porté par le microorganisme étudié. Cette réaction est visualisée par une agglutination qui est le résultat macroscopique de la réaction antigènes-anticorps [site 3].

Le sérotypage est actuellement la technique la plus largement utilisée pour le typage de *Klebsiella spp.* Elle est basée essentiellement sur une classification selon les antigènes de la capsule [2].

Parmi les 82 antigènes capsulaires décrits, 77 types constituent la base d'un système d'antigène capsulaire internationalement reconnu. Bien que 12 différents types d'antigène O de *Klebsiella* ait également été décrits, ils sont difficiles à classer, car leur détermination est entravée par des capsules stables à la chaleur. Le typage de la capsule en revanche montre une bonne reproductibilité et il est capable de différencier la plupart des isolats cliniques mais l'inconvénient de cette méthode est le grand nombre de réactions croisées sérologiques qui se produisent parmi les 77 types de la capsule. En outre, la procédure de typage est lente en raison du temps nécessaire pour l'effectuer. Le test est sensible à des interprétations subjectives, car ces réactions faibles ne sont pas toujours faciles à interpréter. Il faut noter aussi que l'antisérum anti-capsule n'est pas disponible dans le commerce, cette technique est donc pratiquée surtout dans des laboratoires spécialisés. Toutefois, contrairement au typage de la capsule, ni le typage biochimique, ni le typage par bactériocine, sont suffisamment discriminatifs et reproductibles à des fins épidémiologiques, sauf sous certaines conditions. L'utilisation combinée de biotypage et le typage de la capsule permettent la différenciation de différent biosérotypes [2].

III-5- Méthode d'immunofluorescence Indirecte (IFI):

Cette technique est utilisée pour détecter les anticorps présents dans le sérum à la suite de l'exposition d'un individu à des microorganismes comme *Klebsiella*. Dans cette technique, c'est l'antigène connu qui est fixé sur la lame et l'antisérum à tester est alors ajouté. Si l'anticorps spécifique est présent il réagit avec l'antigène et forme un complexe, si on ajoute une anti-immunoglobuline marquée à la fluorescence, elle réagit avec l'anticorps fixé. Après incubation et lavage, la lame est examinée au microscope à fluorescence. Le développement

d'une fluorescence montre la présence dans le sérum de l'anticorps dirigé contre l'antigène utilisé dans le test. L'immunofluorescence indirecte sert à identifier la présence d'anticorps contre *K. pneumoniae* [6].

La détection de *Klebsiella* par la technique des anticorps fluorescents est facile à effectuer et à interpréter; les résultats sont reproductibles et elle est moins coûteuse que les méthodes actuelles car elle est plus sensible et requiert un antisérum moins concentré. Cette méthode de typage devrait faciliter les études épidémiologiques détaillées du mode de transmission des espèces *Klebsiella* dans les hôpitaux et permettre ainsi des mesures plus efficaces contre les infections [32].

III-6- Test ELISA:

Le test ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) ou test immunoenzymatique est devenu l'un des tests sérologiques les plus utilisés pour la détection d'anticorps ou d'antigènes. Ce test implique la fixation de différentes enzymes marqueurs aux antigènes ou aux anticorps [6].

Dans les infections bactériennes, *Klebsiella* est classée au deuxième rang après *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, toutefois, contrairement à ces deux derniers agents pathogènes, dont les antigènes somatiques ont été étudiés en profondeur tant à l'égard de la pathogénicité et leur rôles en tant que cible pour l'immunothérapie, peu d'attention a été accordée à *Klebsiella spp*, plus récemment il a été reconnu que les LPS et l'antigène O produit par ces espèces peuvent jouer un rôle important dans la pathogénicité du sang alors que les dernières observations ont été faites pour les souches de sérotype O₁. Récemment il a été reconnu que les LPS (antigènes O) produits par les *Klebsiella* ont un rôle important dans la pathogénèse du sang et des infections pulmonaires. Cette observation a été faite pour les souches du sérotype O₁ qui sont les plus fréquentes sur le matériel clinique. Peu d'informations sont disponibles sur le potentiel pathogénique des souches avec d'autres antigènes O. Les souches de *Klebsiella spp* sont souvent inagglutinables par antisérum spécifique en raison de la capsule abondante produite par la plupart des isolats [33].

Une méthode ELISA basée sur l'observation que des *Klebsiella* contenant des antigènes O homologues inhibant spécifiquement la réaction d'antisérum spécifique avec des LPS purifiés par ELISA a été réalisée, pour examiner l'antigène O de 82 isolats de différentes espèces et sous espèces de *Klebsiella* [33].

Les antigènes O: O₁/2ab (19 isolats), O₂/ab (13 isolats), O₂/ac (11 isolats) et O₃ (16 isolats) comptent pour plus de 70% des types d'antigènes O. Dans l'ensemble 65 (79%) des

souches pourraient être assignées à un sérotype spécifique O. Cette méthode s'est avérée efficace pour l'examen du rôle des antigènes O individuels dans les infections systémiques de *Klebsiella* telles que la septicémie et la pneumonie nosocomiales [33].

III-7-Détection de *Klebsiella* par la méthode d'immunoélectrophorèse (CIE):

Le développement d'une méthode de sérotypage de *Klebsiella* par immunoélectrophorèse à contre courant (CIE) a été décrit [34]. Les antigènes sont séparés par électrophorèse avant d'être analysés par électro-immunodiffusion en utilisant l'immunosérum correspondant à l'ensemble de ces antigènes, ainsi avec cet immunosérum et en utilisant des dilutions d'un extrait du mélange pris comme référence, les antigènes identifiés par leurs mobilités électrophorétiques peuvent être dosés dans différents échantillons [35].

La technique est simple à réaliser, assez rapide et économique dans l'utilisation des antisérums. Les résultats peuvent être lus facilement, rapidement et l'intensité des réactions croisées comparée directement [36]. Cependant, la technique ne donne aucune information sur la comparaison quantitative entre les antigènes du mélange puisque les précipités formés correspondent à des immunocomplexes distincts ayant chacun leur propre zone d'équivalence [36].

L'identification rapide des agents pathogènes chez les patients atteints de pneumonie bactérienne est importante pour la thérapie antimicrobienne optimale. La coagglutination a été comparée à la CIE pour sa sensibilité et sa spécificité dans la détection de *Klebsiella pneumoniae* et des antigènes de *Pseudomonas aeruginosa* dans des échantillons de crachats de 101 patients atteints de pneumonie d'origine communautaire. La coagglutination a détecté l'antigène bactérien approprié dans 16 des 17 (94%) patients d'étiologie précise alors que la CIE a détecté 11 cas (64%) chez 17 patients d'étiologie probable [37].

L'agent pathogène a été identifié au hasard au sein de 19 patients contrôlés de culture négatif, indiquant un degré élevé de spécificité pour les deux tests. La coagglutination a été plus sensible que la CIE dans l'identification correcte de l'agent pathogène présumé dans les crachats. Ces résultats suggèrent fortement que la coagglutination est une technique de diagnostic utile pour établir un diagnostic étiologique rapide de la pneumonie d'origine communautaire [37].

III-8- Détection de *Klebsiella* par chromatographie gaz liquide pyrolyse (PGLC):

L'application de cette technique à l'identification de certaines maladies ou de problèmes nosocomiaux pourrait être d'une importance épidémiologique, surtout que les méthodes conventionnelles ne précisent pas la souche épidémique [38].

Au cours de la chromatographie, des substances entraînées par un liquide ou un gaz peuvent être séparées sur la base de propriétés telles que l'adsorption, l'échange d'ions et la partition entre différentes phases de solvants. La chromatographie gaz liquide (CGL) permet l'analyse et l'identification de métabolites bactériens d'acides gras, cellulaires et des produits de pyrolyse (modification chimique due à la chaleur) de cellules bactériennes entières. Ces substances sont facilement extraites de cultures bactériennes par des solvants organiques [6].

Depuis 1965, quand la première différenciation de bactéries pathogènes par la chromatographie de pyrolyse gaz liquide (PGLC) est apparue, la technique a été largement acceptée non seulement dans le domaine biomédical mais aussi dans d'autres domaines (géologie, industrie, science de l'environnement ...). Le concept de la technique (PGLC) est simple; elle consiste à réchauffer un échantillon non volatile dans une atmosphère inerte, dans des conditions soigneusement contrôlées et à séparer les produits de la dégradation par chromatographie liquide en phase gazeuse), une série de pics enregistrés sur une bande graduée est observée; la série de pics, ou pyrochromatogramme est analogue à un modèle chimique « chemical finger point » puisqu'elle reflète le caractère chimique individuel d'une lignée cellulaire; un certain nombre d'études pyrochromatographiques portant sur les entérobactéries ont été réalisées. Dans une étude 9 souches capsulaires ont été analysées avec la chromatographie gaz-liquide pyrolyse par spectrophotométrie, toutes les souches ont été clairement distinguées les unes des autres. L'addition de la spectrophotométrie a donné des informations sur la structure des souches. L'application de cette technique à l'identification d'infections nosocomiales pourrait être d'une importance épidémiologique, surtout quand les méthodes conventionnelles ne permettent pas l'identification de souches épidémiques. Les caractéristiques principales de cette technique sont la simplicité de préparation d'échantillons, la rapidité d'analyse et la précise différenciation de cellules différentes qui est associée aux déclenchements d'infections nosocomiales [38].

III-9- Le typage de *Klebsiella* par bactériocine (klébocine):

Bien que le typage de la capsule soit la méthode préférée pour l'identification des *Klebsiella*, il a été conseillé d'inclure une caractéristique supplémentaire indépendante de la capsule pour permettre une analyse plus précise. De nombreux auteurs recommandent le typage de *Klebsiella* via les bactériocines. Les bactériocines sont des substances bactéricides habituellement des protéines produites par les bactéries pour inhiber la croissance d'autres bactéries, généralement des membres de la même espèce [2].

Un isolat peut être caractérisé soit par sa capacité à inhiber les souches indicatrices spécifiques ou par sa sensibilité aux bactériocines synthétisées par un ensemble de souches

productrices puisque la synthèse de bactériocines n'est pas fréquente chez les *Klebsiella*, cette dernière technique est devenue la méthode de choix pour le typage d'organisme appartenant à ce genre. Toutefois, les deux précédentes méthodes principales; la méthode de croissance en bouillon et la méthode de stries croisées ont montrés des inconvénients considérables en raison de l'instabilité des préparations de bactériocine, la reproductibilité de la méthode de croissance en bouillon est faible, en outre la méthode classique de stries croisées a montré un faible typage des souches. Les limites de ces deux méthodes ont été surmontées par une modification de la méthode « scrape and point » qui évite l'utilisation de bactériocines potentiellement instables préproduites et conservées. Au contraire, les bactériocines sont produites sur un milieu gélosé immédiatement avant l'inoculation de la souche à identifier par un inoculateur multipoint [2].

Pour évaluer si les isolats cliniques de *Klebsiella* diffèrent des souches non cliniques vis-à-vis de profils de sensibilité aux bactériocines, un total de 452 souches de *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* isolées à partir de sources différentes ont été examinées. Dans une étude Le typage par bactériocine a été fait par une modification de la méthode de « scrape and point », en utilisant un ensemble de huit souches productrices, 96% des souches étaient identifiées et 41 profils de sensibilité aux bactériocines ont été observés. Même si deux tiers des souches de *K. oxytoca* appartenaient seulement à trois types différents de bactériocine, les souches de *K. pneumoniae* ont montré des profils plus hétérogènes mais aucune différence dans les profils de discrimination n'a été observée entre les isolats cliniques provenant de source clinique, fécale ou environnementale. Certaines bactériocines ont montré un très large spectre d'activité, par exemple 93% de tous les isolats étaient sensibles à la bactériocine de type 3. Les résultats de cette étude suggèrent que les souches non cliniques de *Klebsiella* ne montrent pas d'autres types de sensibilité aux bactériocines différents de ceux des souches cliniques [39]. Cette méthode s'est avérée efficace pour le typage par bactériocine des souches cliniques et environnementales de *Klebsiella*, ainsi que des déclenchements d'infections nosocomiales de *Klebsiella* [40].

Dans une autre étude le typage par klélocine et la résistance aux antibiotiques ont été étudiés pour 518 souches de *K. pneumoniae*, 106 à partir de l'unité de soins intensifs (USI), 182 de la flore personnel de l'USI, 192 de la flore des patients et 38 à partir des échantillons cliniques. Le typage général était de 71,62%. Parmi les souches testées au total 28,37% sont jugées non identifiables. Ces souches sont étiquetées comme « 444 ». Lorsque le typage par klélocine a été utilisé en association avec l'antibiogramme, 86,84% de cas d'infections cliniques pourraient être détectées. Ainsi, une combinaison des deux méthodes de typage contribue de manière significative aux études épidémiologiques [41].

III-10- Détection de *Klebsiella* par SDS-PAGE:

Le SDS est un détergent anionique qui dénature les protéines et recouvre le polypeptide d'une charge négative. Lorsque la première électrophorèse est achevée, la bandelette avec le pH est trempée dans du tampon SDS, puis placée au bord d'un gel plat pour SDS-PAGE. On applique alors un voltage perpendiculaire à la bandelette, au bord du gel. Dans ces conditions, les polypeptides migrent à travers le gel de polyacrylamide, à une vitesse inversement proportionnelle à leur masse. C'est à dire que les polypeptides les plus petits migrent le plus loin pendant un temps donné. Cette technique est très efficace pour séparer les protéines et peut résoudre un mélange de milliers de protéines [6].

Dans une recherche, le groupe d'étude est obtenu à partir de nouveaux nés transférés à l'unité néonatale d'un hôpital, les cultures sanguines et autres échantillons cliniques ont été collectés selon les méthodes standards. Les isolats cliniques et environnementaux de *K. pneumoniae* ont été soumis au typage par klébobine et à l'analyse protéique par SDS-PAGE.

Il a été trouvé que les *K. pneumoniae* résistantes aux antibiotiques étaient les organismes les plus communs isolés à partir de 30 nouveaux nés, avec une incidence de *Klebsiella* aux infections nosocomiales de 14,7%. Le typage par klébobine a montré quatre modèles du type 312 étant le plus commun (43,4%) alors que l'analyse protéique par SDS-PAGE a révélé quatre types de profils de bandes. L'analyse de la méthode de typage a montré que l'identification et la reproductibilité des klébobines a été de 83,3% et 73,3% respectivement tandis que l'identification et la reproductibilité de SDS-PAGE ont été de 100% [42].

Sur la base de cette étude, il est conclu que la méthode de typage SDS-PAGE est meilleure que le typage par klébobine dans les infections nosocomiales néonatales. Il est également suggéré que le profil des protéines par SDS-PAGE peut être utilisé comme un outil pour le typage épidémiologique des souches de *K. pneumoniae* dans les laboratoires où les techniques génomiques basées sur le typage moléculaire ne sont pas disponibles [42].

III-11- Détection de *Klebsiella* par Bactériophage (Typage Bactériophage):

Le typage bactériophage aussi appelé lysotypie, consiste à étudier les profils de sensibilité ou de résistance d'une bactérie à l'égard d'un large spectre de lyse par des bactériophages sélectionnés, afin de déterminer un maximum de discrimination entre les souches d'une même espèce. Les bactériophages sont des virus capables de s'attacher à la membrane externe et provoquer la lyse cellulaire [43]. *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont les causes les plus importantes d'infections nosocomiales. Ces espèces sont caractérisées par une résistance multiple aux antibiotiques qui engendre une mortalité élevée difficile à maîtriser. Les études épidémiologiques ont été facilitées par le sérotypage des antigènes capsulaire de type K [44].

Il y a 77 sérotypes K qui peuvent être déterminés par une variété de méthodes, mais en raison de la difficulté de produire des antisérums faibles pour le nombre élevé d'antigènes, le sérotypage est généralement limité aux centres de références [44].

Un certain nombre de chercheurs ont reconnu les limites pratiques du typage capsulaire et ont développé des alternatives simples de typage. Il s'agit notamment de biotypie, le typage de bactériophages et de bactériocines. Le typage par bactériophages était développé pour la première fois dans les années 60. Malgré que la réaction au phage soit facilement détectée et la reproductibilité soit acceptable, cette méthode montre un taux relativement faible de 19 à 67% [44].

Cette procédure n'est pas une alternative au typage capsulaire, et est surtout utile comme une méthode secondaire en combinaison avec les tests sérologiques [2].

Un typage par bactériophage des souches d'hôpital de *Klebsiella sp* a été développé, le projet a été spécifiquement conçu comme une méthode de typage secondaire pour la discrimination entre les souches de sérotypes K₂, K₃ et K₂₁, mais s'est avéré être une méthode générale de typage efficace des souches de différents sérotypes [45].

L'objectif d'une autre étude était de développer un plan de typage par bactériophage aux *Klebsiella spp* pour être utilisé spécifiquement comme une seconde méthode de typage pour la subdivision de sérotypes K communs parmi les isolats cliniques. Une méthode basée sur l'action combinée de bactériocines et de phages a été développée pour la classification des souches appartenant au genre *Klebsiella*. 450 souches en provenance du milieu hospitalier ont été analysées au moyen de cette technique afin de trouver des souches productrices de klébocines et de phages. Parmi 61 souches produisant des klébocines et 107 souches produisant des phages, 24 ont été sélectionnées et utilisées en vue de leurs larges spectres d'action. Le typage des 450 isolats au moyen de cette méthode a permis de mettre en évidence 407 souches différentes. Cette grande hétérogénéité indique un caractère infectieux largement répandu chez *K. pneumoniae* et *K. oxytoca*.

De ce fait grâce à son haut pouvoir discriminatoire allié à une bonne reproductibilité, la méthode décrite convient au dépistage de chaînes infectieuses et des infections nosocomiales [45].

III-12- Méthodes moléculaires (Méthodes de génotypage):

Les méthodes moléculaires, appliquées aux genres *Klebsiella* sont toujours à l'état primaire. Les procédures varient d'un laboratoire à un autre et manquent de standardisation, ce qui les rend difficile à comparer [2].

Les méthodes de typage moléculaire ont suscité une attention accrue ces dernières années en tant qu'outils utiles dans l'analyse de l'épidémiologie moléculaire de différentes souches et dans le contrôle des infections. Ces méthodes se distinguent par un pouvoir discriminatoire suffisamment élevé pour examiner la vraie identité des isolats cliniques [43].

III-12-1-Identification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR):

La PCR (Polymérase Chain Reaction) est une méthode basée sur l'amplification génique [46]. C'est une réaction biochimique *in vitro* qui permet la synthèse de grandes quantités d'une séquence d'ADN cible. Chaque cycle d'amplification comprend une phase de « dénaturation » par la chaleur dans laquelle l'ADN double brin est transformé en brins simples, une phase de liaison des amorces à des séquences cibles simples brin et une autre phase « d'extension », dont le nombre de copies d'ADN est doublé [57].

L'objectif de la PCR qui est une méthode de biologie moléculaire est de déterminer les sérotypes capsulaires des isolats de *Klebsiella* sans l'utilisation du sérum [53].

Un des types des méthodes de typage par PCR est la RFLP-PCR « Polymorphisme de longueurs des fragments de restriction par PCR », qui utilise une combinaison d'enzymes de restrictions avec la PCR [47]. L'analyse par RFLP est utilisée pour l'identification et la classification au niveau de l'espèce et de la souche [48].

Une étude a montré que l'amplification par PCR du groupe des gènes d'antigènes capsulaires CPS a été suivie par digestion avec l'enzyme de restriction HincII [48].

L'analyse de CPS par PCR-RFLP a une puissance supérieure discriminatoire que le sérotypage classique et elle est plus facile à réaliser, cependant un des problèmes de l'analyse conventionnelle du RFLP réside dans la préparation d'une quantité insuffisante de la séquence à analyser [49].

Dans le but d'augmenter l'efficacité de typage par PCR, la PCR multiplexe a été introduite dont le principe est d'inclure plusieurs ensembles d'amorces en une seule réaction [47].

La PCR multiplexe a permis la détection des types capsulaires K₁, K₂, K₅, K₅₄ et K₅₇ qui sont les plus associés aux maladies invasives ou de pathogénicité. Le gène *WCAG* code pour la production du fucose capsulaire et est associé aux types capsulaires K₁ et K₅₄, il a été aussi retrouvé chez des souches des autres types capsulaires. 18 des 543 isolats analysés par PCR était positifs pour ce gène. Cette méthode est un moyen rapide de typage et de caractérisation d'isolats de *K. pneumoniae* qui sont des agents importants d'infections nosocomiales ou acquises en communauté [50].

La technologie de la PCR s'améliore continuellement par exemple aujourd'hui les appareils pour PCR sont complètement automatisés par microordinateur, ils peuvent traiter jusqu'à 96 échantillons [6].

En conclusion, la PCR en temps réel offre un outil rapide avec une sensibilité et une spécificité élevées pour l'identification de *K. pneumoniae*. Si dans l'avenir il devient possible de détecter plusieurs agents pathogènes par PCR en temps réel multiplex; cette méthode pourrait devenir une technologie appropriée pour la mise en œuvre dans les laboratoires de diagnostic de routine, elle est également adaptée pour les laboratoires épidémiologiques [51].

III-12-2- Détection de *Klebsiella* par électrophorèse sur gel en champ pulsé (PFGE):

La PFGE est une technique d'électrophorèse en champ pulsé, basée sur l'utilisation d'enzymes de restriction reconnaissant des sites de coupures sur l'ADN de grande taille. Cette méthode est reconnue comme la méthode de référence pour le typage de l'ADN de la plus part des bactéries nosocomiales [43]

L'identification des espèces de *Klebsiella* est basée sur les tests phénotypiques mais ces tests comprennent aussi des erreurs qui sont fréquentes en microbiologie clinique de routines, pour y remédier des méthodes spécifiques ont été développées comme l'électrophorèse en champ pulsée.

Les applications de l'électrophorèse en champ pulsé en bactériologie sont multiples telles les déterminations de la taille du génome bactérien, l'établissement d'une cartographie physique de certains gènes, taxonomie et épidémiologie. Dans ce dernier cas, la PFGE est de plus en plus fréquemment utilisée à la fois pour analyser des phénomènes épidémiques ou endémo épidémiques, en particulier dans le cadre des infections nosocomiales pour confirmer certaines voies de transmission ou de pénétration des bactéries et différencier une récurrence d'une rechute.

Dans une récente étude, la biotypie et l'antibiotypie n'ont pas permis de différencier les souches entre elles à l'inverse de l'analyse des profils de macroréstriction, ceci confirme le plus fort pouvoir discriminant de cette dernière technique [52]. La PFGE permet la séparation des molécules de plus de 10 millions de paire de base (Pb) de longueur. Elle emploie deux champs électriques appliqués alternativement. Selon des analyses différentes les migrations nettes d'une molécule donnée dépend de la vitesse avec laquelle celle-ci peut changer de directions [49].

Les profils générés par électrophorèse en champ pulsé présentent un nombre restreint de bandes de 5 à 20 fragments de taille variant de 10 à 800 Kb du fait de l'utilisation d'enzymes de macroréstriction, choisies en fonction du contenu en (G+C) de l'ADN bactérien ainsi que du nombre de sites de reconnaissance de l'enzyme au sein de l'ADN [52].

En générale, les chercheurs utilisent leur propre protocole personnalisé développé, mais un protocole standardisé PFGE permettrait la comparaison des résultats de typage entre les laboratoires et la traçabilité des couches à travers les pays. Dernièrement, un protocole a été optimisé pour le typage PFGE d'*Escherichia coli* et *Klebsiella spp* qui sont souvent isolées d'infections dans de nombreux hôpitaux, la reproductibilité de cette procédure de PFGE a été étudiée à trois reprises de deux à trois semaines d'intervalle. La procédure PFGE optimisée a été évaluée sur un total de 174 isolats cliniques dont 62 *Acinetobacter baumannii*, 50 *Escherichia coli* et 62 *Klebsiella spp*, la reproductibilité inter laboratoire de ce protocole optimisé a été testé dans quatre laboratoires et la procédure terminée est optimisée en 48 h après culture. Elle est susceptible d'être rentable, en raison de la réduction du temps, le volume de réactif et de la concentration d'enzymes nécessaires. La procédure a montrée une forte concordance avec les données épidémiologiques; il n y avait pas d'isolats non identifiées parmi les bactéries testées; donc elle est reproductible et polyvalente. Ce protocole peut être utilisé pour identifier les foyers et surveiller le taux de propagation d'infections nosocomiales causées par des bactéries. En outre, en raison de sa grande variabilité intra et inter laboratoire, le protocole a le potentiel d'être utile pour comparer des profils PFGE des isolats de *Klebsiella* provenant de différents milieux [53].

On peut conclure que les méthodes de biologies moléculaire dont fait partie l'électrophorèse en champ pulsé ont révolutionnées le typage épidémiologique en apportant un pouvoir discriminant jusqu'alors inconnu [52]. Cette technique peut être utilisé pour identifier les foyers et surveiller le taux de propagation des infections nosocomiales causées par les bactéries testées [53].

Chapitre IV
Méthodes préventives

IV-1- Efforts de vaccinations:

La plupart des infections à *Klebsiella* sont acquises au cours d'hospitalisation, et représentent 5 à 7.5% de toutes les infections nosocomiales. La morbidité et la mortalité de grave infection systémique comme les bactériémies et des pneumonies demeurent élevés malgré l'utilisation d'antibiothérapie appropriée. Des taux de mortalité de 20 à 50% dont les bactéries à *Klebsiella* et de plus de 50% de pneumonies à *Klebsiella* ont été rapportés. En outre les infections à *Klebsiella* dans le service de pédiatrie sont devenues une préoccupation majeure. Dans les unités néonatales de soins intensifs. *Klebsiella* est l'un des trois ou quatre agents pathogènes les plus communs [54]. C'est apparemment lié à l'observation que les nouveau-nés prématurés sont plus susceptibles que les autres nouveaux-nés de développer une flore intestinale dans laquelle *Klebsiella ssp* sont très répandues. Ces résultats, avec l'émergence des souches multi résistantes productrices de BLSE (β -Lactamase à Spectre Elargi), indiquent la nécessité d'un moyen de contrôle immunoprophylactique (vaccination active des patients qui sont à risque), l'immunothérapie ainsi que l'immunisation passive [2].

Parmi les différents constituants cellulaires, deux éléments de surface font principalement l'objet de discussion en tant que candidats pour un vaccin *anti-Klebsiella*: les LPS (lipopolysaccharides) et les CPS (polysaccharides capsulaires) [2].

IV-1-1- Lipopolysaccharides (LPS) :

Grâce à leurs propriétés endotoxiniques, les LPS sont considérés comme importants dans la pathologie de la septicémie. Les antigènes O des LPS de *Klebsiella* sont considérés comme étant masqués par les polysaccharides de la capsule et donc ne peuvent pas être exposés à la surface, ce qui les rend inappropriés comme candidats de vaccination. Une récente étude cependant a montré l'exposition des antigènes O à la surface en particulier chez des souches exprimant des sérotypes capsulaires particuliers [55]. Le petit nombre de différents types d'antigènes K est un avantage pour leur utilisation dans la vaccination. Contrairement aux antigènes K seulement huit types d'antigènes O sont connus, l'antigène O₁ de *Klebsiella* est le type le plus couramment retrouvé dans les isolats cliniques. Un vaccin polyvalent d'LPS composé de ces huit antigènes O ou au moins l'inclusion de l'antigène O₁ commun dans un vaccin polysaccharidique capsulaire à spectre étendue, pourrait être une approche prometteuse. Récemment, l'administration d'anticorps monoclonaux à l'antigène O₁ de *Klebsiella* a été signalée comme étant protectrice dans une endotoxémie létale chez un modèle de souris [56].

Un grand inconvénient de l'immunisation active par les vaccins contenant les LPS, est la réaction toxique adverse, qui est prévue en raison de la teneur élevée en endotoxines. Ainsi, chaque vaccin composé d'antigènes O de *Klebsiella* doit être rendu sain par détoxification suffisante des LPS [2].

IV-1-2- Les polysaccharides capsulaires (CPS) :

Les CPS ont été les candidats évidents de vaccination pour plusieurs raisons. Les capsules sont produites par la quasi-totalité des souches de *Klebsiella*; ils représentent la couche supérieure des structures de surface en contact avec le milieu de l'hôte, et ils se sont avérés être hautement immunogènes et non toxiques [2]. Un grave inconvénient du vaccin CPS de *Klebsiella* est le grand nombre d'antigènes K (77 antigènes différents). Toutefois, dans une étude de l'incidence de type capsulaire entre les isolats de *Klebsiella* bactériémique Cryz et al ont pu observer que seulement 25 serotypes représentaient 70% de toutes les souches bactériémiques. Ils ont formulé 24 vaccins de CPS à *Klebsiella* qui par la suite ont été prouvés être sûrs et immunogènes. A ce jour, ce vaccin semble être l'approche la plus prometteuse pour prévenir une septicémie provoquée par *Klebsiella* et a déjà dépassé l'essai humain de phase I. l'étude la plus récente des 24 vaccins de CPS à *Klebsiella* a montré une excellente réponse d'anticorps après immunisation active chez les patients avec de grave traumatisme [57].

IV-2-Traitement et médicaments pour les infections à *Klebsiella*:

L'utilisation d'agent spécifique dans le traitement antimicrobien des infections à *Klebsiella* est actuellement discutée. Le traitement dépend de l'organe impliqué. En générale, la thérapie initiale des patients avec bactériémie est empirique, le choix d'un agent antimicrobien spécifique dépend de modèles de susceptibilité locale. Toutefois, la bactériémie, les aminoacides, les quinolones, et d'autres antibiotiques sont utiles pour le traitement de ces infections. Les céphalosporines ont été largement utilisées en monothérapie et en combinaison avec les aminosides. Les céphalosporines doivent être évitées si des souches BLSE sont présentes.

Dans de tels cas, les carbapénèmes en particulier l'imipramine, sont efficaces, l'aztréonam et les quinolones sont utiles chez les patients allergiques à la pénicilline et à la rifampicine qui est utilisée dans le traitement de rhinoschrôme. Les co-trinoxazoles ne sont pas utilisés dans le traitement. Ils peuvent être utilisés comme traitement initial dans les complications urinaires et l'ozéna [58].

Le traitement doit couvrir tous les agents pathogènes susceptibles dans le cadre de ce contexte clinique. La sélection d'antibiotique doit être guidée par la culture et la sensibilité des résultats chaque fois que possible [58].

Un autre point intéressant dans les moyens de préventions contre les infections à *Klebsiella* est la possible éradication de ces bactéries chez des patients durant leurs hospitalisations. L'une des nouvelles approches est l'utilisation de jus de canneberge; ces fruits s indigènes au Canada, ont connu une popularité grandissante en partie à cause de leur présumé effets thérapeutiques, dans sa forme pure le jus de canneberge est acide avec un pH de 2,5 ou moins et cette acidité est diminuée dans le cocktail de canneberge qui est un mélange de jus de canneberge, de sucre, d'eau et de vitamine C [59]. Ce jus montre un effet prononcé anti-adhésif sur les entérobactéries et donc pourrait prévenir la colonisation des patients hospitalisés ou même éliminer ces bactéries chez les personnes colonisées. Le jus de canneberge pourrait être bénéfique à la fois en raison de sa forte teneur en fructose comme étant un inhibiteur des pilis de type 1 et en raison de la présence d'un composant de haut poids moléculaire qui bloque l'adhérence résistante au Mannose [60]. Il a été suggéré que le jus agit sur les organismes du système gastro-intestinal pour éliminer la source d'infection, plutôt que sur la vessie, car les infections urinaires récurrentes mais non aiguës ont été éliminées [59].

L'utilisation de cocktail de jus de canneberge dans le milieu hospitalier pourrait être un paradigme d'intervention préventive simple et pas chère sans l'utilisation d'antibiotiques ou de vaccins [2].

Une étude Canadienne parue en 2002 a comparé de façon randomisée et prospective trois traitements (le jus de canneberge, les comprimés de canneberge et les traitements placebo), dans cette étude d'une durée d'un an le jus et les comprimés de canneberges ont réduit le nombre d'infections urinaires en comparaison avec le groupe placebo d'environ 15% par année [64].

Des investigations futures pourraient également montrer si des protéines tensioactives seraient utiles dans de nouvelles démarches thérapeutiques pour apporter un complément significatif aux mécanisme de défense de l'hôte, montrant que la protéine SP-A des poumons augmente la phagocytose des *Klebsiella* en agissant comme une opsonine et en activant les macrophages.

Une autre protéine tensioactive SP-D interagit avec les LPS bactériens, il a été suggéré que cette protéine joue un rôle important dans le système de défense pulmonaire contre les bactéries à Gram négatif [2].

IV-3- Consignes de prévention:

Il existe des consignes pour la prévention des infections à *Klebsiella*, il faudrait en premier, suivre les protocoles hospitaliers pour limiter la propagation de l'infection et les organismes résistants et restreindre l'utilisation de certains antibiotiques pour des durées et des indications spécifiques ce qui peut prévenir la propagation d'origines résistantes. Un lavage adéquat des mains est également essentiel pour prévenir la transmission entre patients par le biais du personnel médicale. L'isolement de contact devraient être utilisées pour les patients colonisés ou infectés par des souches de *Klebsiella* hautement résistantes aux antibiotiques, tels que les organismes productrices de BLSE, le dispositif à usage unique peut réduire la transmission du matériel contaminé comme les nébuliseurs qui sont une source importante d'infections nosocomiales; cette source a été éliminée par l'utilisation de dispositifs à usage unique. Aussi, d'autres mesures sont proposées pour prévenir les infections nosocomiales comme la suppression de dispositifs médicaux (cathéter, tube) lorsqu'ils ne sont plus nécessaires, l'utilisation d'agents cytoprotecteurs gastriques non alcalinisant, et la possibilité d'envisager la réduction de la durée et l'intensité de l'immunosuppression chez les patients qui sont immunodéprimés [58].

Conclusion

Conclusion:

Les *Klebsiella* sont des bactéries pathogènes opportunistes qui constituent d'importantes causes d'infections nosocomiales en général et d'infection nosocomiale pulmonaire en particulier. *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* ont été longtemps considérées comme étant les plus espèces pathogènes, cependant, *K. terrigena* et *K. planticola* considérées comme souches environnementales.

L'identification de ces espèces est essentielle pour le diagnostic de certitude dont la réalisation est importante pour la mise en place de mesures préventives et d'études épidémiologiques.

Les différentes méthodes de typages et de détection sont de sensibilité et d'efficacité diversifiées.

Les méthodes conventionnelles telles le biotypage ou les méthodes culturales sont assez primitives en comparaison avec les méthodes sérologiques ou l'analyse biochimique par chromatographie et électrophorèse. Toutefois, la combinaison de certaines méthodes présentées contribue clairement à de meilleurs résultats.

L'amélioration du diagnostic est réalisée grâce à l'introduction des nouvelles techniques de la PCR et de leur développement récent. Celles-ci sont considérées comme alternatives attrayantes pour leurs spécificités élevées et comme meilleurs moyens de détection rapides des *Klebsiella*. Néanmoins, ce sont des méthodes coûteuses destinées à un nombre limité de laboratoires spécialisés.

Le problème de la résistance des *Klebsiella* aux antibiotiques persiste et fait l'objet de questions non encore résolues, en effet les infections nosocomiales à *Klebsiella* continue à être un problème de santé publique réel qui génère un coût économique et humain considérable.

Le traitement de ces infections repose sur l'antibiothérapie, il est possible de réduire les risques liés aux *Klebsiella* en utilisant les carbapénèmes en particulier l'imipramine qui est plus efficace que les céphalosporines. Le jus de canneberge est une approche intéressante pour l'éradication des *Klebsiella*, mais l'emploi judicieux des antibiotiques et une attention particulière aux principes de prévention des infections sont nos meilleures armes dans le combat contre les infections nosocomiales.

Glossaire

Amplification: Production de plusieurs copies d'une région limitée de l'ADN.

Bactériémie: Passage transitoire de bactéries dans le sang circulant à partir d'un foyer microbien, enrayé rapidement par les moyens naturels de défense de l'organisme et ne s'accompagnant pas de signes généraux.

Biliaire: Relatif à la bile; liquide sécrété par le foie.

Cathéter: Instrument qui peut être une sonde, un tuyau de plastique, un stylet que l'on introduit pour instiller un liquide, pour réaliser une perfusion veineuse continue...

Chélateur: Ce dit d'une substance capable de former avec un ion chargé positivement un complexe.

Chronique: Qui dure longtemps. La *maladies chronique* n'a pas de début précis, évolue insensiblement, est parfois émaillée de poussées subaiguës.

Endémie: Maladies sévissant en permanence dans une région donnée, favorisée par certaines conditions épidémiologiques et entretenue par des conditions défectueuses d'hygiène.

Epidémie: Maladie qui frappe brutalement un grand nombre d'individus, prend rapidement un caractère extensif et se termine soit en disparaissant complètement, soit en persistant à l'état d'endémie.

Diabète sucré: Dans le Diabète sucré, on constate la présence de glucose dans l'urine et l'élévation du taux de ce même sucre dans le sang.

Erythrocytes : Les globules rouges encore appelé hématie

Hépatique: Qui concerne le foie.

Implant: Substance que l'on introduit dans l'organisme de façon qu'elle s'y maintienne, en vue d'une action thérapeutique.

Immunodéprimé: Diminution de l'état d'immunité de l'organisme. Elle peut être congénitale ou acquise, consécutive à un traitement, ou provoquée par une infection.

Immunisation passive: Ou *sérothérapie*, consiste à introduire directement les anticorps choisis dans l'organisme

Infecter: Pénétration dans un organisme d'un microorganisme.

Infection du site opératoire: Infection en chirurgie (soit infection postopératoire, soit, infection chirurgicale pour traiter un processus infectieux.

Insuffisance rénale: Elle est due soit à une destruction progressive du parenchyme, soit à une chute du débit sanguin rénal et on trouve une accumulation dans l'organisme de certains métabolites comme l'urée (normalement éliminé par le rein).

Néonatalogie: Ou pédiatrie spécialité médicale qui a pour objet l'étude du nouveau n

Obstruction: Engorgement ou obstacle qui se forme dans les conduits naturels ou les vaisseaux, entraînant une gêne ou même l'arrêt de la circulation des matières liquides ou solides dans ces conduits.

Pharynx: Conduit musculo-membraneux qui s'étend de la base du crâne au bord inférieur de la sixième vertèbre cervicale, où il se continue avec l'œsophage.

Polytraumatisé: Blessé présentant simultanément plusieurs lésions traumatiques graves.

Porteur sain: Individu qui héberge des germes tous en demeurant cliniquement sain.

Pouvoir discriminant: Est la capacité à différencier différentes souches non apparentées. Idéalement, une méthode de typage identifiera chaque souche comme unique. Pratiquement, la méthode peut être considérée comme utile lorsque la probabilité que deux souches non apparentées appartiennent au même type soit inférieure à 5 %. Plus le pouvoir discriminant augmente, plus la méthode est capable, par définition, de détecter des variations minimales ou moins fréquentes.

Prophylaxie: Elle comporte le traitement des malades.

Prion: Particule protéique infectieuse qui cause des maladies dégénératives du système nerveux centrale.

Prothèse: Ensembles des techniques ayant pour objet le remplacement partiel ou total d'un membre ou d'un organe.

Reproductibilité: est la capacité de la méthode à donner le même résultat lorsque la même souche est testée plusieurs fois; ce critère peut être affecté par des variations des résultats d'un jour à l'autre ou par des variations dans la stabilité des caractéristiques bactériennes étudiées.

Septicémie: Etat pathologique dû à la présence et à la multiplication de microbes dans le sang. Cette présence est durable, par opposition à la bactériémie, qui correspond à un passage très bref des microbes dans le courant sanguin.

Suppuratives: Du terme *suppuration* qui signifie formation de pus. Lorsque le pus se forme au sein des tissus, il aboutit à la surface de la peau ou des muqueuses des cavités de l'organisme, il donne lieu à un écoulement purulent plus ou moins abondant.

Typabilité: est la capacité à obtenir un résultat positif, non ambigu pour chaque souche; les souches non typables sont celles dont le typage ne donne pas de résultat ou un résultat ininterprétable.

Viscérale: *Viscère:* organe contenu dans les cavités du corps et assurant une fonction précise, tel que le cœur, les poumon et la vessie.

Références bibliographiques

- [1]: **Benslimani.A.**, (2007-2008), Infections Nosocomiales, faculté de médecine d'Alger.
- [2]: **Podschun.K,ullmann.U.**,(1998), *Klebsiella spp* As Nosocomial pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing methods, and Pathogenicity factorsl, university of Kiel, Kiel, Germany.
- [3]: **Sekhri.A.N, Smati.F, Scheftel.J.M. Meunier.O.**, (2010), Marqueurs épidémiologiques de souches de *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* isolées au CHU de Canstantine, Canstantine (Algerie).
- [4]: **Meyer. A, Denia. J, Bernard. A**, cours de microbiologie général, Biosciences et Techniques, 2^{ème} édition, 13-(351-352).
- [5]: **Seguin.P., Y.Mallédant.**, (2000), Prise en charge d'une pneumopathie communautaire grave, Conférences d'actualisation, P (685-702).
- [6]: **Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A.**, (2003), Microbiologie, Bœck, Paris, 36-37-33-15(781-833-834-843-856-861) .
- [7]: **Berche .P., Gaillard.I et Simmon.M.**, (1998), Bactériologie : bactéries des infections humaines, édition Flammarion, Paris, P (290-295)
- [8]: **Eberlint .T.**, (1997), infection microbienne, édition Nathan, Paris, P (16-33)
- [9]: **Brun.C.B.**, (2005), Réanimation : risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation, France, 14-(463-471).
- [10]: **Donigolo.B.**, (2004), L'infection nosocomiale dans le service de chirurgie de L'hôpital du point G, Mali
- [11]: **Mallat.H, Monzer.H, Awad.J, Kintan.A, Nacha.A.**, (2008) : Etude microbiologique sur les infections nosocomiales, Liban
- [12]: **Umeh.O, Berkowitz.L.**, (2009), *Klebsiella* Infections, state university of New York at Brooklyn.
- [13]: **Eibringer.A.**, (2008), La division des sciences biomoléculaire, Londres.
- [14]: **Avril.J.L, Daernat.H,Denis.F, Monteil.H.**, (1992), Bactériologie clinique,édition Ellipses, Paris, P(185-186).
- [15]: **Oumou Khairy.N.A, Lyane Sow.M.A.**, (2005), Les *enterobacteries* secrétrices de β -lactamase à spectre élargi, university Cheikh Antadiop, Dakar.

- [16]: **Mizuta.K, Ohta.M, Mari.M, Hasegawa.T, Nakshi ne.I, and Kato. N.**, (1983), Virulence for mice of *Klebsiella* strazins belonging to the O₁ group; relationship to their capsule (K) types infect. Immun. 40-(56-61).
- [17]: **Carpenter.J.L.**, (1990), *Klebsiella* pulmonary infections: Occurrence at one medical center and review. Rev. Infect. Dis. 12-(672-682).
- [18]: **Schaechter. M, Medoff.G and Eisenstein B. I.**, (1993), Mechanisms of microbial disease. The Williams and Wilkins co., Baltimore.
- [19]: **Ofek. I, and Doyle R. J.**, (1994), Bacterial adhesion to cells and tissues, Chapman and Hall, Ltd, London, United Kingdom.
- [20]: **Jones.Gw, and Isaacson R.E.**, (1983), proteinaceous bacterial adhesions and their receptors, Crit. rev. Microbiol. 10-(229-260).
- [21]: **Merino.s.camprubi.S, Alberti.S, Benedi.V.J. and tomas.J.M.**, (1992), mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* resistance to complement, Mediated Killing. Infect .Immun. 60 (2529-2535).
- [22]: **Tomas.J.M, Camprubi.S.W.**, (1988), Surface exposure of the O-antigen in *Klebsiella pneumoniae* O₁: K serotype strains. Microb. Pathology. 5-(141-147).
- [23]: **Liassine.N.**, (2000), problème des pathogènes gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier, Genève, 130-(1930-6).
- [24]: **Fonzé.E, Charlier. P, Toth. Y, Vermeire. M, Roquet.x, Dubus. A, and Frere J. M.**, (1995), β -lactam resistanc.
- [25]: **Buissonc.B, Legrand.P, Philippon.A, Montravers.F, ausquer.M, duval.J.**, (1987), Transferable enzymatic resistance to third generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multirésistant *Klebsiella Pneumoniae*, Lancet, (302-6).
- [26]: **Hmmami.A, Arlet.G, Ben redjeb.S, Grimont.F, Ben hassen.A, Rekik.A** et al., (1991), Nosocomial outbreak of acute gastroenteritis in a neonatal intensive care unit intunisia caused by multiple drug resistant *Salmonella* wien producing SHV2-B-lactamase. Eur J Clin Microbiol Infections, 10-(641-6).
- [27]: **Bagley, S., R. J. Seidler, and D. J. Brenner.**, (1981), *Klebsiella planticola* sp. a new species of *Enterobacteriaceae* found primarily in non clinical environments. Curr. Microbiol. 6-(105-109).
- [28]: **Katsanis, G. P., J. Spargo, M. J. Ferraro, L. Sutton, and G. A. Jacoby.**, (1994), Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases. J. Clin. Microbiol, 32-(691-696).
- [29]: **Mandrianarivelo.A, Erafaravar.N, Alimana.C.RAF, Niand.T, Anthiana.R.**, (2009), Profil bactériologique des infections nosocomiale, Dakkar.

- [30]: **Bruce.S.K, Schick.D.G, Tanaka.L, Jimenez E.M, and Mmontgomerie J.Z.**, (1981), Slective medium for isolation of *Klebsiella pneumoniae*, American society for microbiology, J. Clin. Microbiol, 13(6)-(1114-1116)
- [31]: **Bruns. R, Terence.L, Marsh.**, (2009), M M G. 302 physiological.
- [32]: **Riser.E, Noone.P, Poulton T.A.**, (1976), A new serotyping method for *Klebsiella* species: development of the technique, 29(4)-(296-304).
- [33]:**Trantmann.M, Cross.A.S, Reich.G, Held.H, Podschun.R and Marre.R.**, (1996), Evaluation of a competitive ELISA method for the determination of *Klebsiella* O antigens, Great-Britain and Ireland.
- [34]:**Trautmann.M, Vogt.K, Hammack.Cross.A.S, Murine.A.**, (1995), Monoclonal antibody defines a unique epitope schared by *Klebsiella* Lipopolysaccharides. Infect Immun, 62-(1282-1288).
- [35]: **Arbant.P, Daussant.J.**, (2005), Méthodes d'analyses immunochimique pur le contrôle de qualité dans les IAA., TEC et DOC, Londre, Paris, New york, P (46).
- [36]: **Palfereman.J.M.**, (1978), *Klebsiella* serolytng by countr-current immunoelectrophoresis, London, 81(2)-(219-25).
- [37]: **Guzzetta.P.Toews.GB,Robertson.KJ,Pierce.AK.**,(1983),Rapid diagnosis of community-acquired bacterial pneumonia, NL, 128(3)-(461-4).
- [38]: **Thomas F. Moran, and Eugene J.Reiner.**, (1981), Differentiation and characterization of *Klebbsiella pneumoniae* strains by pyrolysis-Gas-liquid. Chromatography-mass spectrometry.Atlanta,Georgia,P.(313-319).
- [39]: **Podschum.R, Ullmann.U.**, (1996), Bacteriocin typing of *Klebsiella SP* isolated from different sources; universitat Kiel, 198(3)-(258-64).
- [40]: **Banernfeind.A, Rosenhal.E, Eberlein.E, Holley.M and Schweighart.S.**, (1993).Spread of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 β -lactmase among hospitalized patients. Infection 21-(18-22).
- [41]: **Pal.RB, Rebello.JS, Bomker. DD, Jain PK.**, (1997), klebocin typing of *Klebsiella* species isolated from nosocomial infection in intensive care unit; Mumbai, 43-4(98-101).
- [42]: **Malik.A,Hsani, S.E,Shalid-M,Khan HM,Ahmad.A-J.**, (2003), nosocomial klebsiella infection in a tertiary. care hospital: protein profile by SDS-page and klebocin typing as epidemiolojical markers,India Jornal Med Microbiol,21(2)-(82-6).
- [43]: **Hafine.A, Ravaoarinoro.M.**, (2008), Differentes methods de typage des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose. Médecine et maladies infectieuses, 38(238-247).

- [44]: **Michael.A.Gaston, Beverly A.Ayling-Smith, and Tyrone L.PITT.,** (1987), New Bacteriophage typing scheme for subdivision of the frequent capsular serotypes of *Klebsiella* SPP; England, (1228-1232).
- [45]: **Dill.M.Baumgartner.A;** Development of a typing method for epidemiological analysis of *Klebsiella* strains based on the combined use of klebocins and bacteriophages, Suisse.
- [46]: **Lytrynenko. Negrustska.V, Lar.O, Brisse.S et Kozyrovsska.N.,** (2003), Identification de *Klebsiella oxytoca* a l'aide d'un test de PCR spécifique ciblant les gènes *phex* polygalacturonase, Ukraine, P(587-592).
- [47]: **Aparajita.S, Richard.V.G, Shabbir. S, Steven.L.F, and Marcus J.Z.,** (2006), Application of molecular techniques to the study of hospital infection, USA, P (512-530).
- [48]: **Briss.S, Issenhuith. J.J.S, Grimont PA.,** (2004), Molecular serotyping of *Klebsiella* species isolates by restriction of the amplified capsular antigen gene cluster, Frans, 42-(8)(33-88-98).
- [49]: **Singleton.P.,** 2005, Bactériologie pour la medecine, la biologie et la biotechnologie, Paris, 6^{ème} édition DUNOD, P (223).
- [50]: **Turton.J.F, Perry.C, Elgohari.S and Hampton.C.V.,** (2010), PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type specific, Variable number tandem repeat and virulence gene targets, London, P(541-547).
- [51]: **Kurupati.P, Chowcarol, Kumarasinghe.G, Pohlaa.C.,** (2004), La détection rapide de *Klebsiella pneumoniae* à partir du sang de la culture bouteilles par PCR en temps réel, American society, USA , 42(3)-(1337-1340).
- [52]: **Siméon.D, Lozniewski.A, Canton.Ph, Weber.M.,** (1997), Typage moléculaire par électrophorèse en champ pulse des souches d'*Enterobacter cloacae* isolées d'infections ostéo-articulaires au CHU de Nancy de 1990 à 1994, Nancy (France).
- [53]: **Durmz.R, Otlu.B, Koksali.F, Hosoglu.S, Ozturk.R, Ersoy.Y, Aktas.E, Gursoy.Nc, Caliskam.A.,** (2009), The optimization of a rapid pulsed field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella spp* .Turkey, 62(5)-(372-7).
- [54]: **Hart C. A.,** (1993). *Klebsiella* and neonates. J. Hosp. Infect. 23-(83-86).
- [55]: **Toma's, J. M, S. Camprubi, and P. Williams. ,** (1988). Surface exposure of the O-antigen in *Klebsiella pneumoniae* O1:K1 serotype strains. Microb. Pathog, 5-(141-147).
- [56]: **Mandine. E., M. F. Salles, R. Zalisz, M. Guenounou, and P. Smets.,** (1990), Murine monoclonal antibodies to *Klebsiella pneumoniae* protect against lethal endotoxemia and experimental infection with capsulated *K. pneumoniae*. Infect. Immun. 58-(2828-2833).
- [57]: **Campbell W. N, E. Hendrix S. Cryz, and A. S. Cross.,** (1996), Immunogenicity of a 24-valent *Klebsiella* capsular polysaccharide vaccine and an eightvalent *Pseudomonas*

O-polysaccharide conjugate vaccine administered to victims of acute trauma. Clin. Infect. Dis. 23-(179-181).

[58]: **Obiamiwe.U.**, (2009), *Klebsiella* infection: traitement ant medication, New york at Broklyn lotof. J. BMD et M. MC.

[59]: **Latouf MD.J.B, Cormack MC. M**, les bienfaits des cannebergs dans la prevention des infctions nosocomiales, Montréal.

[60]: **Ofek.I., Goldhar. J, Zafri. D, Lis.H, Adar.R, and Sharon.N.**, (1991), Anti-*Escherichia coli* adhesin activity of cranberry and blueberry juices, N. Engl. J. Med . 324-(1599).

Sites Web

[Site1]: Infection nosocomiales (www.Infermier.com).

[Site2]: Euzéby.J.P., (2004), Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. (www.Euzébydictionnary.com)

[Site3]: Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (**RAISIN**) (www.RAISIN.com)

[Site4]: Européen Antibiotics résistance surveillance system (**EARSS**). Rapport 2005. (www.EARSS.com).

[Site5]: Sérotypage (www.Pédagogie.ac-montpellier.fr).

Evaluation des méthodes de détection des *Klebsiella* responsables d'infections nosocomiales

Résumé:

Les infections nosocomiales sont des infections acquises à l'hôpital, elles représentent un sujet d'actualité d'importance considérable en ce qui concerne le taux de mortalité et de morbidité ainsi que le surcoût qui augmente chaque année. *Klebsiella* est l'un des agents pathogènes les plus rencontrés dans ces infections, l'utilisation intensive des antibiotiques chez les patients hospitalisés conduit à la propagation des *Klebsiella* et le développement des souches multi résistantes, qui produisent la β -lactamase à large spectre. Donc la détection de ce germe est indispensable pour le diagnostic, ceci implique l'utilisation de différentes méthodes d'identification conventionnelle ou modernes plus efficaces. La prévention reste le moyen le plus efficace pour éviter ces infections.

Mots clés:

Infections nosocomiales, *Klebsiella*, antibiotiques, multi résistances, la β -lactamase, méthodes de détection, diagnostic, prévention.

Summary:

Nosocomial infections are infections acquired in hospital, they are a hot topic of considerable importance with regard to mortality and morbidity as well as the additional cost that increases each year. *Klebsiella* is one of the most pathogens encountered in these infections, intensive use of antibiotics in hospitalized patients led to the spread of *Klebsiella* and development of multi-resistant strains, which produce broad-spectrum β -lactamase. So the detection of this organism is essential for diagnosis, this implies the use of different identification methods conventional or modern that are more efficient. Prevention remains the most effective way to avoid these infections.

Keywords:

Nosocomial infections, *Klebsiella*, antibiotics, multi-resistance, la β -lactamase, detection methods, diagnosis, prevention.

المخلص:

العدوى المكتسبة في المستشفى هي حديث الساعة نظرا لأهميتها المعتبرة خاصة فيما يتعلق بنسبة الإصابة والوفيات فضلا عن التكاليف الإضافية للعلاج التي ترتفع كل عام.

تعتبر *Klebsiella* من بين العوامل الممرضة الأكثر انتشارا والمتسببة في العدوى، الاستعمال المكثف للمضادات الحيوية للمرضى في المستشفى يؤدي إلى انتشار هذه البكتيريا وتطوير سلالات متعددة المقاومة للمضادات الحيوية المنتجة لإنزيم β -lactamase.

إن فإن الكشف عن هذه البكتيريا ضروري للتشخيص الطبي وهذا ما يؤدي إلى استعمال مختلف الطرق والتقنيات الكلاسيكية والحديثة لجد فعالة. وتبقى الوقاية الوسيلة الفعالة لتجنب هذه العدوى.

الكلمات المفتاحية:

العدوى المكتسبة، *Klebsiella*، المضادات الحيوية، عديدة المقاومة، β -lactamase، طرق الكشف، التشخيص الطبي، الوقاية.

Université de Jijel

Promotion 2010