

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N° Ref :.....



Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila

Institut des Sciences et de la Technologie Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie appliquée

Thème :

**Résistance aux antibiotiques de *Klebsiella*
pneumoniae: variabilité phénotypique et génotypique**

Présenté par :

- BOULMAIZE Safa.
- DJEBLI Nihad.
- FENNOUR Wissal.

Devant le jury composé de :

- | | | |
|----------------------------|------------|-----------|
| - Mme. BOUCHEKRIT Moufida | M.C.A | Président |
| - Mme. BENSERRADJ Ouafa | M.C.A | Examineur |
| - Mr. BOUBENDIR Abdelhafid | Professeur | Promoteur |

Année Universitaire: 2022/2023

Remerciements

Au terme de ce travail du mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements du fond du cœur à « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la force pour survivre, qui nous a honorés par ce savoir, en nous portant aide pour achever ce modeste travail.

Nous tenons à remercier infiniment notre encadreur Pr. Boubendir, vous nous avez guidés tout au long de notre travail en nous apportant vos précieux et pertinents conseils. Nous vous remercions pour votre gentillesse, votre modestie et votre soutien lors de la réalisation de ce travail.

Nous tenons également à remercier les membres jury qui ont accepté d'évaluer ce travail :

Mme. BOUCHEKRIT Moufida pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider notre jury de soutenance.

Mme. AYAD Wissam qui ont consenti d'examiner et évaluer notre travail et qui nous font l'honneur de participer à notre soutenance.

Mme. Bouamrane, merci infiniment pour votre aide et conseils.

Nous remercions aussi le groupe du laboratoire d'analyses médicales MIROUH-Ferdjioua, et le groupe du laboratoire de l'hôpital les frères MEGHLAOUI-Mila pour leurs aides.

Enfin, nos remerciements s'adressent vivement à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A **Dieu** le Tout Puissant de m'avoir donné le courage, la santé, et m'a accordé son soutien durant les périodes les plus difficiles.*

♥ *Aux Personnes chères à mon cœur Mes parents «**Ahcene**» et «**Fadila**»* ♥

Les premières personnes qui m'ont encouragée et soutenue le long de mon chemin. Merci pour vos sacrifices, dévouement et surtout de m'avoir fait autant de confiance, de n'avoir jamais douté de mes capacités et de m'avoir inculqué les valeurs justes de la vie, avec autant de sagesse.

♥ *A mes très chers frères «**Adel**» et «**wassim**»* ♥

♥ *A mes très agréables sœurs «**Amel**» et «**Safia**»* ♥

Pour votre tendresse votre aide et votre affection

♥ *A mon petit prince «**Ouais**»* ♥

*A toute ma famille «**DJEBLI**» et «**BOUKHENNOUFA**»*

*Sans oublier la précieuse aide de mes deux collègues «**Safa**» et «**Wissal**»*

Et tous les personnes qui m'ont aidé durant toute ma vie estudiantine, et à ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

♥ *Que Dieu vous protège tous «**Nihad**»* ♥

Dédicace

♥ *A ma très chère mère* ♥

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

♥ *A mon très cher père* ♥

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le respect, la reconnaissance... Je te rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour. Que Dieu tout puissant te garde et te procure santé, bonheur et longue vie.

♥ *A mes chers frères* ♥

♥ *A ma chère sœur "Rayan"* ♥

Vous m'avez toujours manifesté une grande affection et un grand respect, à mon tour de vous exprimer mon grand estime à travers ce travail.

♥ *A mes chères copines* ♥

Amira, Nihad et Safa

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé

♥ *A mes anges Anis et Younes* ♥

♥ *Wissal* ♥

Dédicace

*Je dédie le fruit de ce travail à ceux qui m'ont donné la vie, l'espoir et
l'encouragement durant toute mon existence:*

♥*A mon cher père*♥

*Tes conseils m'ont suivi et m'ont permis d'atteindre le bout du chemin.
Sois fier de moi et vois à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude
profonde. Que DIEU ALLAH te garde pour moi.....*

♥*A ma chère mère*♥

*Ma douce et tendre mère. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as
fait pour moi.*

*Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Que Dieu ALLAH te donne longue
vie et te protège pour moi.....*

♥*A mes chères sœurs*♥

Oumayma et marwa

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

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

♥*A Mon seul frère*♥

Abd essamad

*En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour
toi. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.*

♥*Safa*♥

Table des Matières

Liste des Abréviations.....	I
Liste des Tableaux.....	IV
Liste des Figures.....	VI
Introduction.....	1

Partie I: Recherche Bibliographique

Chapitre 1. Support génétique de la résistance.....	3
1. Les plasmides.....	3
1.1. Les types des plasmides et leurs significations biologiques ..	3
1.1.1. Les plasmides de fertilité.....	4
1.1.2. Les plasmides de résistance Plasmide R.....	5
1.1.3. Les plasmides codants pour les bactériocines.....	6
1.1.4. Les plasmides de virulence.....	7
1.1.5. Les plasmides Ti inducteur de tumeur.....	8
1.1.6. Les plasmides métaboliques.....	9
1.2. L'incompatibilité plasmidique.....	11
2. Les transposons.....	13
2.1. Les types de transposons.....	13
2.1.1. La séquence d'insertion.....	13
2.1.2. Les transposons composites.....	14
2.1.3. Les transposons non composites.....	15
2.1.4. Les transposons conjugatifs.....	16
2.2. Les mécanismes de transposition.....	16
2.2.1. La transposition conservative.....	16
2.2.2. La transposition répllicative.....	17
3. Les intégrons	18
3.1. Les types d'intégrons.....	18
3.1.1. Les intégrons de multi-résistance.....	18
3.1.2. Les super-intégrons.....	18
3.2. La structure des intégrons.....	19
3.3. Les cassettes.....	20
3.3.1. La structure des cassettes.....	20

3.4. Les mécanismes d'intégration.....	21
--	----

Chapitre 2. Le transfert génétique horizontal..... 23

1. La transformation bactérienne..... 23

1.1. La découverte du phénomène.....	23
--------------------------------------	----

1.2. Définition.....	24
----------------------	----

1.3. La compétence de transformation.....	24
---	----

1.4. La cinétique de la transformation.....	25
---	----

2. La conjugaison..... 26

2.1. La découverte du phénomène.....	26
--------------------------------------	----

2.2. Définition.....	27
----------------------	----

2.3. La conjugaison chez les bactéries Gram- et Gram+.....	27
--	----

2.4. La conjugaison Hfr.....	28
------------------------------	----

2.5. La conjugaison F+× F-.....	29
---------------------------------	----

2.6. La conjugaison F+× F'.....	29
---------------------------------	----

3. La transduction..... 30

3.1. La découverte du phénomène.....	30
--------------------------------------	----

3.2. Définition.....	31
----------------------	----

3.3. La morphologie du phage.....	31
-----------------------------------	----

3.4. Biologie du phage et cycles phagiques.....	33
---	----

3.4.1. Les phages lytiques et cycle lytique.....	33
--	----

3.4.2. Les phages tempérés et cycle lysogénique.....	33
--	----

3.5. Les types de transduction.....	34
-------------------------------------	----

3.5.1. La transduction généralisée.....	34
---	----

3.5.2. La transduction spécialisée.....	35
---	----

Chapitre 3. Résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques..... 36

1. Les antibiotiques..... 36

1.1. Définition.....	36
----------------------	----

1.2. Les critères de classification des antibiotiques.....	36
--	----

1.2.1. L'origine.....	36
-----------------------	----

1.2.2. Les cibles des antibiotiques et leurs modes d'action.....	37
--	----

1.2.3. Le spectre d'activité antibactérienne.....	37
---	----

1.3. La classification des antibiotiques.....	37
2. La résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> dans le monde.....	47
2.1. Afrique.....	48
2.1.1. Maroc.....	48
2.1.2. Egypte.....	49
2.1.3. Cameroun.....	51
2.1.4. Madagascar.....	52
2.2. Asie.....	54
2.2.1. Iran.....	54
2.2.2. Arabie Saoudite.....	55
2.3. Europe.....	57
2.4. Amérique.....	58
2.4.1. Canada.....	58
2.4.2. Venezuela.....	59

Partie II : Recherche Expérimentale

1. Matériel et Méthodes	63
1.1. Lieu et durée de l'étude.....	63
1.2. Présentation du lieu d'étude.....	63
1.2.1. Laboratoire de l'hôpital des Frères Maghlaoui, Mila.....	65
1.2.2. Laboratoire Mirouh d'analyses médicales –Ferdjioua.....	66
1.3. Matériel et produits.....	67
1.3.1. Types de prélèvement.....	68
1.3.2. Isolats bactériens.....	68
1.3.3. Liste des antibiotiques à testés.....	70
1.4. Méthodologie.....	70
1.4.1. Isolement et repiquage des souches.....	70
1.4.2. Techniques utilisées pour l'identification des bactéries.....	72
1.4.2.1. Tests préliminaires.....	72
1.4.2.1.1. Examen macroscopique.....	72
1.4.2.1.2. Examen microscopique.....	72
1.4.2.2. Tests biochimiques.....	74
1.4.3. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques.....	75

1.4.3.1. Méthode de la diffusion sur gélose Muller-Hinton.....	75
1.4.3.2. Méthode automatisées.....	79
2. Résultats et Discussion.....	83
2.1. Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon le sexe à Ferdjioua.....	105
2.2. Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon l'âge à Ferdjioua.....	107
2.3. Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon la nature du spécimen à Ferdjioua.....	108
2.4. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> de 2020 à 2023 à Ferdjioua.....	111
2.4.1. La résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux β -lactamines.....	112
2.4.1.1. La résistance aux pénicillines.....	113
2.4.1.2. La résistance aux céphalosporines.....	114
2.4.1.3. La résistance aux carbapénèmes.....	116
2.4.2. La résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux aminosides.....	118
2.4.3. La résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux quinolones.....	120
2.4.4. La résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux phénicolés.....	121
2.4.5. La résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux sulfamides.....	121
2.4.6. La résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux nitrofuranes.....	122
2.4.7. La résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux polypeptides.....	123
2.4.8. La résistance de <i>K. pneumoniae</i> aux fosfomycine.....	124
2.5. La résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> selon la nature du spécimen.....	125
2.5.1. Résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> dans l'urine.....	126
2.5.2. La résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> dans le pus.....	127
2.5.3. La résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> dans le vagin.....	128
Conclusion.....	129
Références.....	131
Annexes	

Liste des abréviations

ADN-T: Acide désoxyribonucléique de transfert

AMC: Amoxicilline/Acide clavulanique

AMP: Ampicilline

AmpC: Adénosine-monophosphate cyclique

AN: Amikacine

Asa: Arséniate

Bio: Biotine

BlaNDM: New-Delhi metallo β -lactamase

BLSE: Bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi

C: Chloramphénicol

CAZ: Ceftazidime

CBEU: Examen cyto bactériologique des urines

C1G: Céphalosporine de 1^{ère} Génération

C2G: Céphalosporine de 2^{ème} Génération

C3G: Céphalosporine de 3^{ème} Génération

CIP: Ciprofloxacine

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CMV: Infection à cytomégalovirus

Col: Colicine

CR-Kp: Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*.

CS: Colistine

CTX: Céfotaxime

Cys: Cystéine

CZ: Céfazoline

DHA: Déhydroépiandrostérone

DHPS: Dihydroptéroate synthétase

ECBU: Examens cyto bactériologique des urines

Em: Erythromycine

ERC: Essai randomisé contrôlé

ETEC: Les *Escherichia coli* entérotoxigéniques

ETP: Ertapénème

Facteur F: Fertilité

FOS: Fosfomycine
FOX: Céfoxitine
GEN: Gentamicine
GIM-1: German imipenemase
Hfr: Haut fréquence de recombinaison
Hg: Mercure
HGT: Horizontal gène transfert
I: Intermédiaire
IPM: Imipénème
IS: Séquence d'insertion
IU: Infection urinaires
IUN: Infection urinaire du nourrisson.
KHM-1: Kyorin Health Sciences metallo-b-lactamase
Km: Kanamycine
KP: *Klebsiella pneumoniae*
KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase
MBL: Les métallo-b-lactamases
MDR: Multi drug résistance
MLS: Macrolides Lincosamides Streptogramines
MOX: Mélange d'oxydes
MRI : Intégrons de multi-résistance
NA: Acide nalidixique
NDM: New Delhi metallo-b lactamase
Nm: Néomycine
NIT: Nitrofurantoïne
LSPQ: Laboratoire de *santé* publique du Québec
ORF5: Open Reading Frame5
OXA-48: Les oxacillinases de classe D
pb: Paire de base
Phe: Phénylalanine
Plasmides R: Plasmide de résistance
PLP: Protéines de liaison à la pénicilline
Pn: Pénicilline
R: Résistance

R: Rough
S: Sensible
S: Smooth
SHV: Variable sulfhydryle
Sm: Streptomycine
Su: Sulfamides
SXT: Triméthoprim/Sulfaméthoxazole
Tc: Tétracycline
Ti: Indicateur de tumeur
Tn7: Transposon 7
TnC: Transposons conjugatifs
Tp: Triméthoprim
TZP: Pipéracilline/Tazobactam
VIM: Verona integron-encoded metallo-b-lactamase
XDR: Extrêmement résistants aux médicaments.

Liste des Tableaux

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 1	Les gènes de virulences portés par les plasmides et les bactériophages (Jeremy et Simon, 2010).	8
Tableau 2	Principaux types de plasmides (Meyer et al., 2008).	10
Tableau 3	Les propriétés de séquences d'insertions (Prescott et al., 2007 ; Prescott et al., 2010).	14
Tableau 4	Les propriétés de transposons composites (Prescott et al., 2010).	15
Tableau 5	Quelque exemple des bactériophages (Singleton, 2005).	32
Tableau 6	Les classes des antibiotiques qui inhibent la synthèse du peptidoglycane.	38
Tableau 7	Les classes des antibiotiques qui inhibent la synthèse des protéines.	41
Tableau 8	Les classes des antibiotiques qui inhibent la synthèse des acides nucléiques.	43
Tableau 9	Les classes des antibiotiques qui ciblent les mécanismes complexes de la bactérie.	44
Tableau 10	Les classes des antibiotiques qui inhibent la synthèse des folates (acide folique).	45
Tableau 11	Liste des antibiotiques d'institut pasteur utilisés en Algérie et leurs abréviations (Rahal et al., 2009).	46
Tableau 12	Infection urinaire du nourrisson (IUN) au Maroc : fréquence étiologique sur 192 souches isolées (Arsalane et al., 2012).	49
Tableau 13	Prévalence de la résistance aux antibiotiques (%) chez quatre espèces d'entérobactéries dans les urines (Arsalane et al., 2012).	49
Tableau 14	Répartition des <i>K. pneumoniae</i> isolés dans différents échantillons en Egypte (Al-Baz et al., 2022).	50
Tableau 15	Caractéristiques de la <i>Klebsiella</i> (Teghonong et al., 2020).	51
Tableau 16	Facteurs associés à <i>K. pneumoniae</i> IU (Rakotovao-Ravahatra et al., 2022).	53
Tableau 17	Pourcentage de sensibilité aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> entre 2014 et 2018 à l'hôpital de Roi Fahad–Médine (Al-Zalabani et al., 2020).	56
Tableau 18	Proportions de <i>K. pneumoniae</i> résistant aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération, aux carbapénèmes et aux quinolones dans divers pays européens en 2014 à 2015 (Bellini et Troilet, 2016).	57
Tableau 19	Profils de sensibilité aux antibiotiques des souches KPC (n = 70) au Québec (Lefebvre, 2013).	59

Tableau 20	Sensibilité aux antibiotiques chez les isolats de <i>K. pneumoniae</i> producteurs de KPC et caractéristiques cliniques des patients chez lesquels les isolats de <i>K. pneumoniae</i> résistant aux carbapénèmes étaient obtenus (Restrepo et al., 2017).	61
Tableau 21	Le pourcentage de la résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> dans le monde.	62
Tableau 22	L'organisation de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila.	64
Tableau 23	Liste des analyses et les appareils utilisés au laboratoire de les Frères Maghlaoui, Mila.	65
Tableau 24	Matériels et produits utilisés en culture, identification et antibiogramme.	67
Tableau 25	Réparation des types de prélèvement.	68
Tableau 26	Fréquence d'isolement de 563 souches de <i>K. pneumoniae</i> à Ferdjioua (Mars 2020/Mars 2023).	69
Tableau 27	Les antibiotiques testés contre les souches de <i>K. pneumoniae</i> à Ferdjioua de 2020 à 2023.	70
Tableau 28	Identification biochimique à l'aide de la galerie classique.	74
Tableau 29	Résultats de l'antibiogramme de 563 souches de <i>K. pneumoniae</i> isolées à Ferdjioua – Mila selon le sexe, l'âge et la nature du prélèvement (de Mars 2020 à Mars 2023).	83
Tableau 30	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon le sexe de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua	106
Tableau 31	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon l'âge de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua, Mila	108
Tableau 32	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon le type de spécimen de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua.	110
Tableau 33	Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua.	111
Tableau 34	Antibiorésistance de 563 souches de <i>K. pneumoniae</i> isolées à Ferdjioua de Mars 2020 à Mars 2023, selon la nature du spécimen.	125

Liste des Figures

Numéro	Intitulé	Page
Figure 1	Carte génétique du plasmide F (fertilité) d' <i>Escherchia coli</i> (Michael et John, 2007).	4
Figure 2	Plasmide de multi-résistance (plasmide R) (Brock et al., 2003).	5
Figure 3	Carte génétique de Plasmide Col de type ColEl d' <i>Escherchia coli</i> (Luciano et Jean, 2015).	6
Figure 4	Carte génétique du plasmide Ti (inducteur de tumeur) (Perry et al., 2004).	9
Figure 5	Structure des éléments transposables (Merlin et Toussaint, 1999).	15
Figure 6	La transposition conservative (Prescott et al., 2007).	16
Figure 7	La transposition répllicative (Prescott et al., 2007).	17
Figure 8	Représentation schématique d'un intégron de classe I (Deng et al., 2015).	19
Figure 9	La structure des cassettes (Ploy et al., 2005).	21
Figure 10	Intégration des cassettes dans un intégrons (Daniel et Elisabeth, 2003).	22
Figure 11	La découverte de la transformation bactérienne (Karp, 2010).	24
Figure 12	Mécanisme de la transformation (Tortora et al., 2016).	26
Figure 13	L'expérience de conjugaison de Lederberg et Tatum (Luciano et Jean, 2015).	27
Figure 14	Plasmide PCG86 d'un <i>E. coli</i> pathogène. Le produit ou la fonction codée par le gène est indiqué. Les antibiotiques de type Bêta-lactames incluent l'ampicilline (Perry et al., 2004).	28
Figure 15	Le transfert conjugatif (Luciano et Jean, 2015).	30
Figure 16	L'expérience de Zinder et Lederberg (Meyer et al., 2008).	31
Figure 17	Représentation d'un bactériophage de type T4 (Dublanchet et Patey, 2017).	32
Figure 18	Cycle de vie du bactériophage (Dublanchet, 2009).	34
Figure 19	Profil de résistance aux antibiotiques des isolats de <i>K. pneumoniae</i> par méthode de diffusion sur disque en Egypte (Al-Baz et al., 2022).	50
Figure 20	Profil de sensibilité aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> producteur de BLSE au Cameroun (Teghonong et al., 2020).	52

Figure 21	Résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> responsable d'infection urinaire au Madagascar (Rakotovao-Ravahatra et al., 2022).	53
Figure 22	Résultats de l'antibiogramme pour <i>K. pneumoniae</i> isolés à l'hôpital de la province de Zanzan en Iran (Sheikhabagheri et al 2022).	55
Figure 23	Prévalence de la résistance croisée aux antimicrobiens des isolats de <i>K. pneumoniae</i> résistants à l'imipénem chez le roi Fahad Hôpital, Médine (Al-Zalabani et al., 2020).	56
Figure 24	Distribution de 70 souches de <i>K.pneumoniae</i> carbapénémase (KPC) d'octobre 2011 à décembre 2012 au Québec (Lefebvre, 2013).	58
Figure 25	Localisation de l'hôpital Frères Maghlaoui, Mila.	63
Figure 26	La localisation du laboratoire d'analyses médicales Mirouh	66
Figure 27	(1). Aperçu de la paillasse avant la manipulation ; (2). Prélèvement de l'échantillon ; (3). Stérilisation avant ensemencement ;(4). Méthode d'ensemencement de <i>K. pneumoniae</i> par stries sur le milieu Hektoen; (5). Incubation de <i>K. pneumoniae</i> à l'étuve à 37°C/24h. (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila).	71
Figure 28	Colonie de <i>K. pneumoniae</i> sur le milieu Hektoen. (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila).	72
Figure 29	(1 et 2). Méthode d'ensemencement de <i>K. pneumoniae</i> par stries sur Mueller-Hinton. (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila).	77
Figure 30	(1). Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i> . (2, 3 et 4). Application des disques d'antibiotiques. (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila).	78
Figure 31	Vue photographique d'un Automate VITEK ®2 Compact. (Photo réalisée dans le laboratoire d'analyse médical Mirouh à Ferdjious).	79
Figure 32	La colonie de <i>K. pneumoniae</i> sur le milieu chromagar. (Photo réalisée dans le laboratoire d'analyse médical Mirouh à Ferdjious).	80
Figure 33	(1). Aperçu de la paillasse avant la manipulation ; (2). Mesure de la concentration bactérienne ; (3) et (4). Préparer la solution pour antibiogramme ; (5). La cassette préparée. (Photo réalisée dans le laboratoire d'analyse médical Mirouh à Ferdjious).	81

Figure 34	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon le sexe de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua.	106
Figure 35	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon l'âge de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua, Mila	108
Figure 36	Incidence de <i>K. pneumoniae</i> selon le type de spécimen de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua.	110
Figure 37	Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> de 2020 à 2023 à Ferdjioua.	112

Introduction

Introduction

L'introduction généralisée des antibiotiques après la seconde guerre mondiale a été l'un des progrès thérapeutiques les plus importants du XXe siècle. Les traitements antibiotiques ont fait progresser l'espérance de vie de plus de dix ans soit plus qu'aucun autre traitement médical **(Bryskier, 1999)**.

La bactérie développe plusieurs stratégies pour résister à l'action des antibiotiques à travers leur adaptations génomiques et protéiques par la modification de la cible, l'imperméabilité et l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, cette dernière se fait par la sécrétion d'enzymes telle que les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sécrétés par un grand nombre de bactéries et qui inhibent presque totalité des β -lactamines qui constituent la plus vaste famille d'antibiotiques les plus utilisés, où il est devenue une préoccupation majeure des médecins et une impasse thérapeutique **(Lemaoui et al., 2017)**.

K. pneumoniae appartient à la famille des entérobactéries, elle est décrite comme une bactérie à Gram négatif, encapsulée et non mobile. La virulence de la bactérie est fournie par un large éventail de facteurs qui peuvent entraîner une infection et une résistance aux antibiotiques **(Ashurst et Dawson, 2021)**. Elle est un composant relativement courant du microbiote normal, ayant la capacité de coloniser divers tissus et structures anatomiques (l'urètre distal, les voies respiratoires supérieures ou le tractus gastro-intestinal). Cette bactérie est considéré comme un agent pathogène opportuniste, étant incriminée dans l'étiologie des infections sévères chez les patients hospitalisés, en particulier chez les immunodéprimés ou qui présentent des comorbidités sévères **(Rakotovao-Ravahatra et al., 2022)**.

Malgré l'abondance de phénotypes de résistance aux antibiotiques observés au sein des bactéries, seul un nombre limité de mécanismes par lesquels ces résistances sont acquises ont été décrits. Ainsi, les gènes codant pour les déterminants des résistances aux antibactériens sont localisés, soit sur le chromosome bactérien, soit sur des éléments génétiques mobiles tels que des plasmides ou des transposons, peuvent être transmis verticalement et horizontalement **(Harbottle et al., 2006)**.

La facilité avec laquelle les populations bactériennes s'adaptent à un environnement hostile, associée à leur grande capacité d'échange de matériel génétique, souligne le caractère inévitable du phénomène biologique des résistances aux antibiotiques,

auquel nous faisons face aujourd'hui et qui sera probablement un problème récurrent de santé publique pour les décennies à venir. C'est ce qui nous a intéressés à mener une étude épidémiologique statistique sur l'antibiorésistance de *K. pneumoniae* isolées dans la région de Mila. Les données ont été collectées rétrospectivement de Mars 2020 à Mars 2023 dans le laboratoire d'analyses médicales Mirouh de Ferdjioua-Mila, et l'hôpital des Frères Meghlaoui de Mila. Notre étude est confrontée à celle réalisée par nos collègues de Master 2020 et les données de la littérature sur le sujet.

Dans ce contexte général nous avons fixé dans le présent travail les objectifs principaux:

- Etude de l'incidence de la résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* selon le sexe et l'âge.
- Etude de l'incidence totale de la résistance aux antibiotiques de Mars 2020 à Mars 2023 dans la région de Mila.
- Etude de l'incidence de la résistance aux antibiotiques selon la nature du spécimen.

Partie I. Recherche Bibliographique

Chapitre 1. Support génétique de la résistance

Chapitre 1. Support génétique de la résistance

1. Les plasmides

Ce sont des molécules d'ADN circulaires super-enroulées situées dans le cytoplasme des bactéries. Ces génomes sont extrêmement fréquents dans le monde bactérien. Ils ne sont, dans les conditions naturelles, pas indispensables à la vie de la bactérie mais lui apportent des caractères permettant la survie dans des conditions défavorables ou étendant son écosystème **(Skurnik, 2009)**. Les plasmides sont des "véhicules" importants pour la communication de l'information génétique entre bactéries **(Shintani et al., 2015)**.

La plupart des plasmides sont petits, de plusieurs à 100 kb, mais parfois ils sont si grands qu'en utilisant les critères de taille leur distinction du chromosome est difficile **(Zielenkiewicz et Ceglowski, 2001)**. Les plasmides et les chromosomes peuvent être différenciés sur le fait que les plasmides portent seulement des gènes non essentiels (mais souvent très utiles) **(Michael et John, 2007)**.

1.1. Les types des plasmides et leurs significations biologiques

Tous les plasmides portent des gènes qui leur permettent de se répliquer de manière autonome. Certains plasmides portent aussi des gènes nécessaires pour la conjugaison, et ils peuvent parfois être détectés biologiquement, soit par le transfert des fonctions elles-mêmes ou par leurs sensibilités à certains virus. Bien que les plasmides ne portent pas de gènes essentiels pour l'hôte, ils peuvent porter des gènes qui ont une grande influence sur le phénotype cellulaire. Dans certains cas, les plasmides codent des propriétés considérées fondamentales pour la bactérie au niveau écologique. Par exemple, la capacité de *Rhizobium* d'interagir et de former des nodules de fixation de l'azote avec les plantes nécessite certaines fonctions plasmidiques. D'autres plasmides confèrent à la cellule des propriétés métaboliques spéciales, comme la dégradation des polluants toxiques. En effet, les plasmides semblent être un mécanisme majeur pour conférer des propriétés spéciales aux bactéries, et dans de nombreux cas pour exporter ces propriétés par un transfert horizontal de gènes. La seule limitation concernant les types de gènes présents sur un plasmide est qu'ils ne doivent pas interférer avec leur propre réplique ou sur la survie de l'hôte **(Michael et John, 2007)**.

1.1.1. Les plasmides de fertilité

Le facteur F (fertilité) d'*Escherchia coli* K-12 (**Figure 1**) a été le premier plasmide à être décrit, il a été signalé que la survenue d'un héritage infectieux particulier médité par un agent appelé F qui contrôle le système de compatibilité sexuelle dans la souche *E coli* K-12 (**Banu et Prasad, 2017**). Ce plasmide codent pour un appareil complexe permettant l'auto-transfert à d'autres hôtes, processus appelé conjugaison, la capacité d'intégration réversible dans le chromosome associée à ce transfert classe ces molécules dans catégorie des épisomes. Le plasmide F est un ADN circulaire de 99 159 pb, organisé en plusieurs mode fonctionnels, dans desquels on peut détecter toutes les phases de l'évolution des plasmides. Un système de cartographie du plasmide a défini 100 unités, dites unités pour indiquer la localisation des gènes et éléments présents (**Luciano et Jean, 2015**).

Les cellules contenant le plasmide F sont des cellules donneuses et sont appelées cellule F^+ (F plus). Les cellules dépourvues de facteur F sont des cellules réceptrices et sont appelées cellule F^- (F moins). Le plasmide F est un plasmide à faible nombre de copies, avec 1 à 2 copies par cellule (**Daniel et Elisabeth, 2003**).

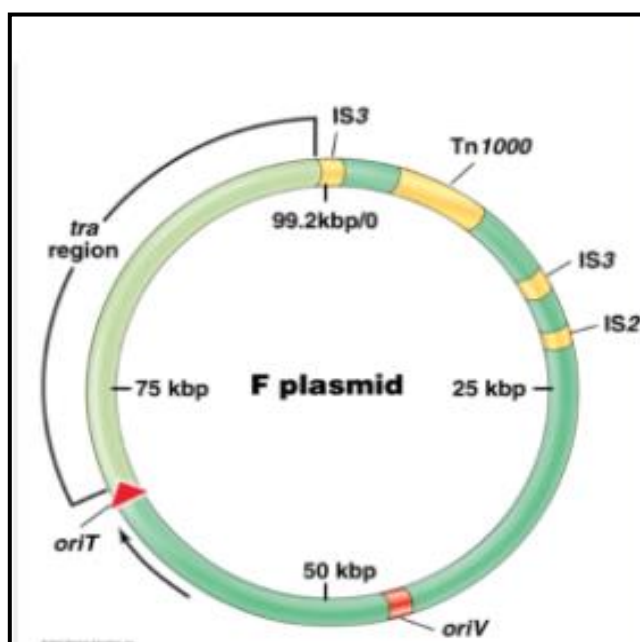


Figure 1. Carte génétique du plasmide F (fertilité) d'*Escherchia coli* (**Michael et John, 2007**).

Région *tra*: contient les gènes impliqués dans le transfert par conjugaison. Séquence *oriT*: est l'origine de transfert durant la conjugaison. Les régions en jaune: sont les éléments transposables nécessaires pour l'intégration de F au niveau d'éléments identiques dans le chromosome bactérien, conduisant à la formation de différentes souches *hfr*.

1.1.2. Les plasmides de résistance Plasmide R

Au cours des années 1980, la plupart des bactéries *Shigella flexneri* trouvées en Corée étaient résistantes à de nombreux médicaments et il très préoccupant pour la santé humaine (**Banu et Prasad, 2017**).

Certaines souches de *Shigella flexneri* ont montré une résistance multiple à six médicaments comme le chloramphénicol (Cm), la tétracycline (Tc), la streptomycine (Sm), la sulfisomidine (Su), l'ampicilline (Ap) et le triméthoprim (Tp). La propriété de résistance a été co-transférée à *E. coli* par conjugaison, ce qui indique que la résistance était méditée par le plasmide R (**Al Doghaither et Gull, 2019**).

La nature infectieuse des plasmides R conjuguatifs permet leur dispersion rapide dans les populations cellulaires. Plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques peuvent être portés par un plasmide R (**Figure 2**). En général, ces gènes codent des protéines qui soit inactivent l'antibiotique, soit empêchent son entrée dans la cellule (**Michael et John, 2007**).

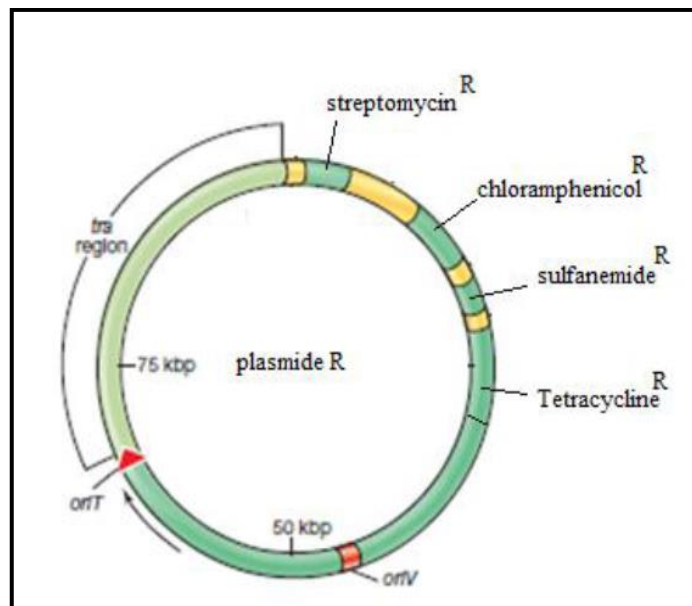


Figure 2. Plasmide de multi-résistance (plasmide R)

(**Brock et al., 2003**).

Région *tra*: contient les gènes impliqués dans le transfert par conjugaison. Séquence *oriT*: est l'origine de transfert durant la conjugaison

1.1.3. Les plasmides codants pour les bactériocines

Les bactériocines sont des composés protéiques synthétisés par les ribosomes, létaux pour des espèces étroitement apparentées de bactéries productrices, ces dernières étant protégées par l'auto-immunité. Ces toxines jouent un rôle essentiel dans la médiation de la population microbienne ou des interactions communautaires. Les bactériocines peuvent servir d'anti-concurrents permettant l'invasion d'une souche dans une communauté microbienne établie ou agir comme molécules de communication dans des consortiums bactériens comme les biofilms. C'est-à-dire qu'elles jouent un rôle défensif et agissent pour interdire l'invasion d'autres souches ou espèces dans une niche occupée ou limiter l'avancée des cellules voisines (**Bindiya et Bhat, 2016**). Ont rapporté un groupe de petits plasmides colicino gènes multi copiés dont les gènes codent pour la synthèse des colicines (bactériocines). Ces plasmides ont besoin de l'ADN polymérase 1 pour la réplication et sont amplifiés par le chloramphénicol à l'exception de ColE2. Les groupes plasmidiques Col tels que ColL4, ColD, Colk et ColE1 partagent un certain nombre de caractéristiques de réplication. A signalé que Cola, ColD et Colk contiennent chacun des séquences d'ADN homologues à la région de ColE1 (**Figure 3**) impliquée dans la réplication autonome. Ces plasmides sont largement utilisés dans les processus de clonage de gènes. Ils sont également utilisés comme un bon modèle pour la réplication, la transcription et la traduction des gènes (**Banu et Prasad, 2017**).

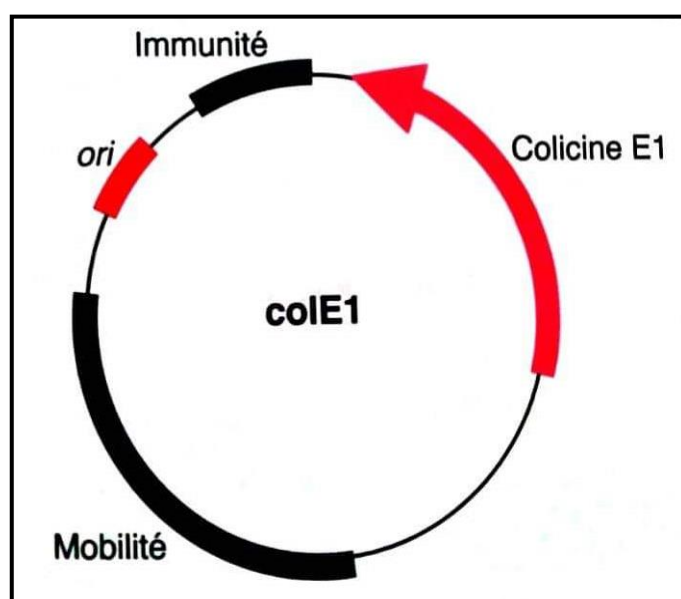


Figure 3. Carte génétique de plasmide Col de type ColE1 d'*Escherchia coli* (**Luciano et Jean, 2015**).

1.1.4. Les plasmides de virulence

Brièvement, les deux caractères majeurs impliqués dans la virulence (capacité à causer une maladie) des pathogènes sont:

- ✓ La capacité du pathogène à s'attacher et à coloniser des tissus spécifiques de l'hôte.
- ✓ La production de substances (toxines, enzymes, et autres molécules) qui endommagent l'hôte.

Chez plusieurs bactéries pathogènes, chacune de ces caractéristiques de virulence est portée par des plasmides. Par exemple, les souches entéropathogènes d'*Escherichia coli* sont caractérisées par leur capacité à coloniser l'intestin grêle et à produire une toxine qui cause les symptômes de la diarrhée. La colonisation nécessite la présence d'une protéine cellulaire de surface appelée facteur de colonisation, codée par un plasmide. Cette protéine confère aux cellules la capacité de s'attacher aux cellules épithéliales de l'intestin. Au moins deux toxines de l'entéropathogène *E. coli* sont connues pour être codées par un plasmide: l'hémolysine, qui lyse les globules rouges et l'entérotoxine qui induit une intensive excrétion d'eau et de sels. C'est l'entérotoxine qui est responsable des diarrhées (Michael et John, 2007).

Un autre exemple est *Bacillus anthracis*, qui cause l'anthrax. La virulence dépend de la présence de deux grands plasmides dont l'un, pXO1, porte les gènes qui codent pour la toxine du charbon, tandis que l'autre, pXO2, porte gènes nécessaires à la production d'une capsule qui protège la bactérie de la réponse immunitaire, lui permettant ainsi de provoquer une septicémie. Une perte de pXO2 entraîne une perte de virulence, et la souche Sterne, qui contient le pXO1 plasmide de virulence mais dépourvu de pXO2, est utilisé comme vaccin vivant atténué pour bétail. A l'inverse, l'acquisition de ces plasmides de virulence par des non-anthrax souches de *Bacillus*, telles que *Bacillus cereus* et *Bacillus thuringiensis*, dans la conversion de souches qui causeraient normalement des maladies bénignes d'origine alimentaire ou sont des insectes pathogènes que ceux qui peuvent causer des maladies de type anthrax (Jeremy et Simon, 2010).

Le **Tableau 1** donne des exemples de facteurs de virulences portés par des bactériophages et plasmides chez diverses bactéries pathogènes, ceci n'est en aucun cas une liste exhaustive.

Tableau 1. Les gènes de virulences portés par les plasmides et les bactériophages (Jeremy et Simon, 2010).

Espèces bactériennes	Maladies	Gène (s) de virulence	Localisation
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Diphthérie	Toxine	bactériophages
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Scarlatine	Toxine	bactériophages
<i>Vibrio cholerae</i>	Choléra	Toxine	bactériophages
<i>Shigella spp.</i>	Dysenterie	Invasion / adhésion	plasmides
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Gastro-entérite	Yops (protéines de la membrane externe)	plasmides
<i>Clostridium botulinum</i>	Botulisme	Toxine	bactériophages
<i>Clostridium tetani</i>	Tétanos	Toxine	plasmides
<i>Escherichia coli</i>	Gastro-entérite	Entérotoxines	plasmides
<i>Escherichia coli</i>	Gastro-entérite	adhésion	plasmides
<i>Bacillus anthracis</i>	Anthrax	Toxine, capsule	plasmides

1.1.5. Les plasmides Ti inducteur de tumeur

Les souches virulentes d'*Agrobacterium tumefaciens* portent de grands plasmides Ti qui sont indispensables aux propriétés oncogènes de la bactérie. Le mécanisme par lequel les agrobactéries transforment les cellules normales en cellules tumorales est inconnu. Cependant, il a été montré qu'un petit fragment du plasmide Ti est présent dans les cellules végétales transformées et est transcrit en ARN (Hooykaas et al., 1979 ; Jochen, 2020).

Les plasmides Ti portent des gènes de dégradation de l'opine (les opines sont des condensats d'un α -cétoacide comme le pyruvate et d'un acide aminé, les opines importants sont l'octopine et la nopaline), pour la détection des cellules blessées (récepteurs des dérivés phénoliques de greffe, par exemple l'acétosyringone) et pour la mobilisation et le transfert d'un fragment plasmidique de l'ADN-T. Ce dernier contient les gènes d'induction tumorale et de synthèse de l'opine, il est limité à gauche et à droite par un élément répétitif

de 25 pb, qui sert de séquence de reconnaissance pour découper la partie intermédiaire de l'ADN (**Figure 4**). Après le transfert, l'ADN-T est intégré dans le génome de la raie; bien que le site d'intégration soit largement aléatoire, la préférence est donnée aux zones actives de transcription. La réaction de la plaie produit des signaux (composés phénoliques) qui conduisent d'abord à la fixation des agrobactéries à la cellule de la greffe et ensuite au transfert de l'ADN-T. Il contient des éléments promoteurs eucaryotes (box CAAT, box TATA, signaux de polyadénylation) pour leurs gènes de synthèse d'opine ainsi que pour leurs gènes de synthèse d'auxine et de cytokine. Ces deux substances conduisent à la croissance tumorale en peu de temps en favorisant une division cellulaire indifférenciée (**Jochen, 2020**).

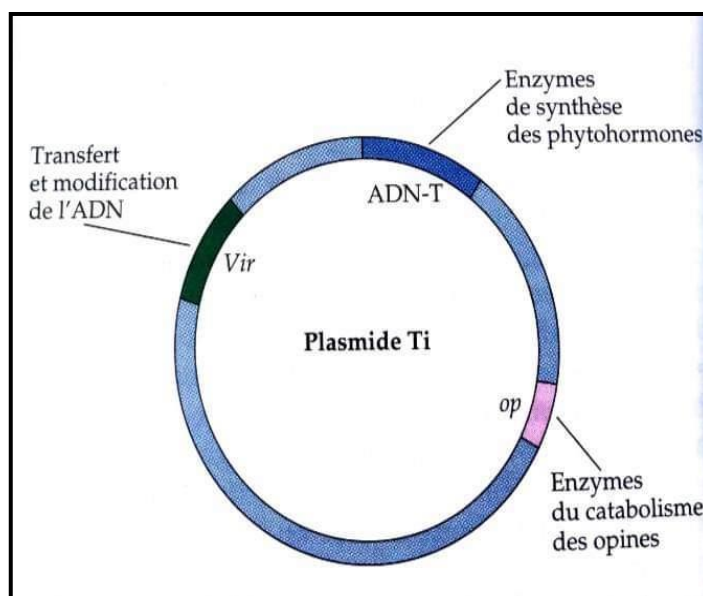


Figure 4. Carte génétique du plasmide Ti (inducteur de tumeur)
(**Perry et al., 2004**).

1.1.6. Les plasmides métaboliques

Les plasmides sont capables d'élargir la gamme d'activités métaboliques de la cellule hôte de façons variées (**Jeremy et Simon, 2010**).

L'un de type d'activité métabolique à médiation plasmidique est la capacité de dégrader produits chimiques potentiellement toxiques. Un tel plasmide, pWWO, de *Pseudomonas putida*, code une série d'enzymes qui convertissent les hydrocarbures cyclique toluène et xylène en benzoate (voie supérieure), et un deuxième opéron responsable de la dégradation du benzoate, via le clivage cyclique d'un cat-Echol intermédiaire, en intermédiaires métaboliques qui peuvent être utilisés pour production

d'énergie et biosynthèse. L'organisme peut donc se développer en utilisant le toluène comme seule source de carbone. Les enzymes de la voie supérieure sont spécialisées, d'autres plasmides codent pour enzymes de la voie supérieure avec des spécificités différentes, permettant à l'organisme de convertir d'autres produits chimiques en dérivés de benzoate et de catéchol qui peuvent être dégradé par les enzymes de la voie inférieure. Dégradation à médiation plasmidique comprend le naphthalène et le camphre, ainsi que les aromatiques chlorés composés tels que le 3-chlorobenzoate et l'herbicide 2,4-D (dichlorophe-acide noxyacétique). La capacité de dégrader les produits chimiques nocifs pour l'environnement est potentiellement utile pour dépolluer les sites pollués (*bioremédiation*). Il y a donc un intérêt considérable pour l'élargissement de la gamme des produits chimiques pouvant être dégradés par des micro-organismes (**Jeremy et Simon, 2010**).

Le **Tableau 2** présente les différents types de plasmides et leurs phénotypes.

Tableau 2. Principaux types de plasmides (**Meyer et al., 2008**).

Types	Exemples	Taille approximative (kb)	Hôtes	Phénotypes
Facteur de fertilité	Facteur F	95-100	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> <i>Citrobacter</i>	Pilus sexuel, conjugatif.
Plasmides R	RP4	54	<i>Pseudomonas</i> et autres Gram ⁻	Pilus sexuel, conjugatif, résistance Amp , Km , Nm , Tc.
	R1	80	Gram ⁻	Résistance à Amp. Km, Su, C, Sm.
	pSH6	21	<i>S. aureus</i>	Résistance à Gen, Km.
	Psj23a	36	<i>S. aureus</i>	Résistance à Pn, Asa, Hg, Gen, Km, Nm, Em.
Plasmides Col	col E1 col E2	9	<i>E. coli</i> <i>Shigella</i>	Colicine E ₁ . Colicine E ₂ .
Plasmides de virulence	Ent (P307)	83	<i>E. coli</i>	Production d'entérotoxine.
	Col V-K30	2	<i>E. coli</i>	Sidérophore pour capture du Fer, résistance aux mécanismes immunitaires.
	pZa 10	56	<i>S. aureus</i>	Entérotoxine B.
Plasmides métaboliques	CAM	230	<i>Pseudomonas</i>	Dégradation du camphre.
	SAL	56	<i>Pseudomonas</i>	Dégradation du salicylate.
	TOL	75	<i>P1. putida</i>	Dégradation du toluène.

1.2. L'incompatibilité plasmidique

L'incompatibilité des plasmides est généralement définie comme l'incapacité de deux plasmides co-résidents à être hérités de façon stable en l'absence de sélection externe. Autrement dit, si l'introduction d'un second plasmide déstabilise l'héritage de la première, on dit que les deux sont incompatibles. Il est suggéré que l'instabilité plasmidique est aussi souvent due à l'inadéquation du mécanisme d'autocorrection (**Novick, 1987 ; Jeremy et Simon, 2010 ; Schumann, 2013**).

Les deux plasmides doivent avoir des marqueurs génétiques différents afin de suivre leur ségrégation. La sélection est généralement effectuée pour le plasmide entrant, et la descendance est examinée pour la présence continue du plasmide résident. Si le plasmide résident est éliminé, les deux plasmides seraient incompatibles et sont affectés au même groupe d'incompatibilité. Bien que l'incompatibilité ait généralement été utile pour la classification des plasmides, certaines complications ont été reconnues (**Schumann, 2013**).

On peut résumer cette partie sur les différents types de plasmides chez les bactéries à la base de l'information codée par les gènes : Le plasmide F ou le facteur F appartient à une classe de plasmides dites «conjugatifs», ils sont les premiers plasmides découverts chez *Escherichia coli* K-12. Ce type de plasmide permet le transfert de gènes d'une bactérie portant ce facteur à une autre bactérie dépourvue du facteur par conjugaison pour contrôler les fonctions sexuelles des bactéries.

Un autre type de plasmides est les plasmides R ou facteur R qui portent des gènes de résistance à un antibiotique spécifique. Par exemple chez la bactérie *Shigella flexneri*, leur facteur R lui donne une multi-résistance aux antibiotiques C, Tc, Sm, Su, Amp, Tp.

Les plasmides de virulence portent des gènes codant des facteurs de virulence, ayant un rôle dans le pouvoir pathogène des bactéries. Par exemple les *Escherichia coli* entérotoxigéniques (ETEC) responsables de la diarrhée du voyageur (ou *tourista*) hébergent au moins deux plasmides, l'un portant les gènes codant un facteur de colonisation, et l'autre codant des toxines.

Le plasmide Ti (inducteur de tumeur) est un plasmide porté par les bactéries *Agrobacterium* qui induit des tumeurs, chez certaines plantes. Les gènes du plasmide Ti permettent aux agrobactéries de transférer l'ADN dans les cellules végétales et de les modifier génétiquement. Ils déclenchent des croissances ressemblant à des tumeurs et donc des maladies des plantes.

Les bactéries hébergent également des plasmides codants pour des protéines toxiques pour d'autres bactéries. Ces protéines bactéricides appelées bactériocines, ils sont codées par des plasmides spécifique appelés plasmides bactériocinogènes.

Les plasmides qui codant pour des protéines impliquées dans des métabolismes particuliers. Chez *E. coli*, les gènes portés par ces plasmides sont par exemple: l'utilisation du citrate comme source de carbone, la production de soufre, l'hydrolyse de l'urée. Chez les salmonelles son a observé la dégradation du lactose ce qui est inhabituel chez ce genre bactérien. Le genre *Rhizobium* porte un plasmide métabolique nécessaire pour induire la nodulation chez les légumineuses et effectuer la fixation d'azote.

2. Les transposons

Les transposons sont de petits segments d'ADN qui peuvent se déplacer (être transposés) d'une région de la molécule d'ADN à une autre (sur le même chromosome ou sur un autre chromosome ou plasmide), ces morceaux d'ADN font 700 à 40000 paires de base (**Perry et al., 2004 ; Tortora et al., 2016**).

Les transposons furent découverts dans les années 1940 par Barbara McClintock, au cours de ses études sur la génétique du maïs, une découverte qui lui valut le Prix Nobel en 1983. Ils furent étudiés abondamment chez les bactéries et les virus (**Prescott et al., 2007**).

Les transposons sont divisées en deux groupes principaux: les rétro-transposons (classe I) et les transposons d'ADN (classe II). Les rétro-transposons sont souvent trouvés dans les eucaryotes, alors que les transposons d'ADN peuvent être trouvés dans les eucaryotes et procaryotes. Les transposons bactériens appartiennent aux transposons d'ADN et à la famille Tn, qui sont généralement le porteur de gènes supplémentaires pour la résistance aux antibiotiques (**Babakhani et Oloomi, 2018**).

2.1. Les types de transposons

2.1.1. La séquence d'insertion

La séquence d'insertion (IS) est une courte séquence d'ADN qui agit comme un simple élément transposable dans les chromosomes bactériens et les plasmides (**Figure 5**). Elle présente deux caractéristiques majeures: elles sont petites par rapport aux autres éléments transposables (généralement de 700 à 2500 pb de longueur) et elles codent uniquement pour les protéines impliquées dans l'activité de transposition. Ces protéines sont généralement la transposase qui catalyse la réaction enzymatique permettant à l'IS de se déplacer et aussi elles codent une protéine régulatrice qui stimule ou inhibe l'activité de transposition (**Daniel et Elisabeth, 2003 ; Kumari et al., 2022**). Certaines propriétés de séquences d'insertions sont présentées dans le **Tableau 3**.

Tableau 3. Les propriétés de séquences d'insertions (**Prescott et al., 2007 ; Prescott et al., 2010**).

Séquence d'insertion	Longueur (pb)	Séquences répétées inverses	Site cible (pb)	Nombre de copies sur le chromosome d' <i>E.coli</i>
IS1	768	23	9 ou 8	6-10
IS2	1327	41	5	4-13 (1)
IS3	1400	38	3-4	5-6 (2)
IS4	1428	18	11ou12	1-2
IS5	1195	16	4	10-11

2.1.2. Les transposons composites

Les éléments transposables peuvent également contenir des gènes autres que ceux de la transposition, par exemple, des gènes de résistance aux antibiotiques ou des gènes de toxines. Ces éléments sont souvent appelés transposons composites (**Perry et al., 2004**). Beaucoup de transposons composites ont une organisation plus simple. Ils sont flanqués de courtes séquences répétées inverses et la région codante contient à la fois des gènes de transposition et les gènes supplémentaires. On pense que les transposons composites se forment lorsque deux éléments IS s'associent avec un segment central contenant un ou plusieurs gènes (**Figure 5**). Cette association peut survenir lorsqu'un élément IS se réplique et se réinstalle seulement un gène ou deux plus loin sur le chromosome. Les noms des transposons composites commencent par le préfixe Tn. Certaines propriétés d'une sélection de transposons composites sont présentées dans le **Tableau 4 (Prescott et al., 2007)**.

Tableau 4. Les propriétés des transposons composites (Prescott et al., 2010).

Transposons	Longueur (pb)	Répétitions terminales	Module terminal	Marqueurs génétiques
Tn3	4 957	38	/	Résistance à l'ampicilline
Tn501	8 200	38	/	Résistance au mercure
Tn951	16 500	Inconnu	/	Utilisation du lactose
Tn5	5 700	Inconnu	IS50	Résistance à la kanamycine
Tn9	2 500	Inconnu	IS1	Résistance au chloramphénicol
Tn10	9 300	Inconnu	IS10	Résistance à la tétracycline
Tn903	3 100	Inconnu	IS903	Résistance à la kanamycine
Tn1681	2 061	Inconnu	IS1	Entérotoxine thermostables
Tn2901	11 000	Inconnu	IS1	Biosynthèse de l'arginine

2.1.3. Les transposons non composites

Les transposons non composites complexes ne sont pas associés à des séquences d'insertion (**Figure 5**), et se composent quant à eux, de courtes séquences répétées inversées encadrant une région centrale composée notamment des gènes nécessaires à la transposition et des gènes de résistance, qui ne représentent qu'une petite partie de l'unité transposable (**Muylaert et Mainil, 2013**).

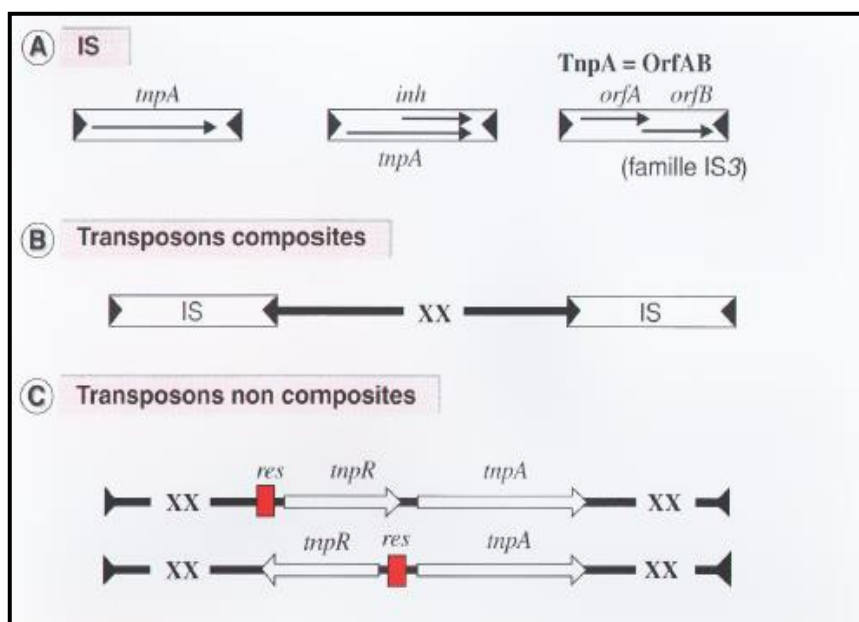


Figure 5. Structure des éléments transposables (Merlin et Toussaint, 1999).

2.1.4. Les transposons conjugatifs

Les transposons conjugatifs (TnC) sont des éléments chimériques qui cumulent les propriétés d'intégration des bactériophages et les propriétés de transfert des plasmides conjugatifs. Les TnC ont initialement été identifiés comme agents responsables de la dispersion des résistances aux antibiotiques chez les bactéries à Gram positif en milieu hospitalier. Cependant, la description récente de nouveaux éléments de ce type, chez *Bacteroides* et *Salmonella*, suggère qu'ils existent aussi chez les bactéries à Gram négatif (Merlin et Toussaint, 1999).

Les transposons conjugatifs diffèrent des autres transposons car d'une part, ils possèdent des fonctions de transfert faisant d'eux une sorte d'hybride entre le transposon et le plasmide, et par d'autre part, l'absence de séquences répétées inversées (Harbottle et al., 2006).

2.2. Les mécanismes de transposition

2.2.1. La transposition conservative

La transposition simple aussi appelée transposition par couper-coller, implique une excision catalysée par la transposase, suivie par le clivage d'un nouveau site cible et la ligation du transposon dans ce site (Figure 6). Les sites cibles sont des séquences spécifiques, longues de 5 à 9 paires de bases. Quand un transposon s'insère dans un site cible, la séquence ciblée est dupliquée de sorte que de courtes séquences répétées directes flanquent les séquences répétées inverses terminales du transposon (Prescott et al., 2010).

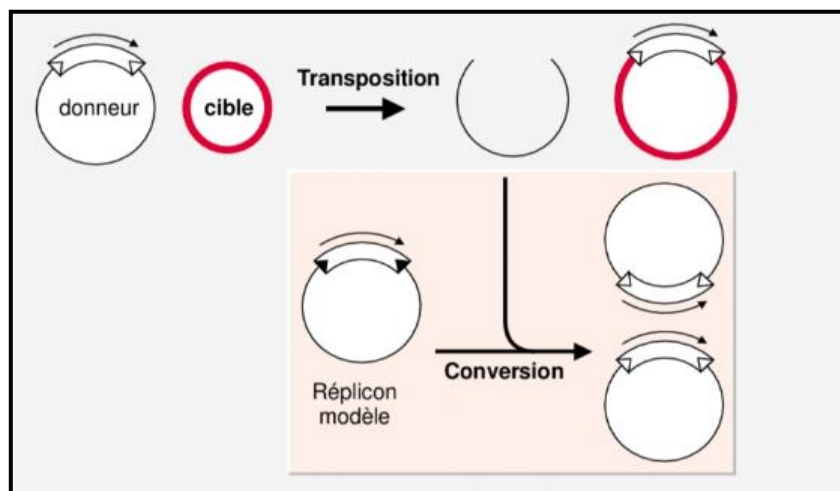


Figure 6. La transposition conservative (Prescott et al., 2007).

2.2.2. La transposition répllicative

La transposition par résistance à l'ampicilline Tn3 et les éléments transposables connexes tels que Tn21 favorisent la fusion répllicative, les cointégrats sont formés en tant qu'intermédiaires pendant la transposition répllicative. Les transposons de la famille Tn3 sont bordées de répétitions inversées de 35 à 38 pb (parfois 48 pb). Ces transposons codent pour la transposase (le produit du gène *tnpA*) et résolvase (le gène *tnpR*) et ils contiennent une séquence de 120 bp qui constitue un site de recombinaison interne (*res* ou *IRS*). Dans la première étape de la transposition, le réplicon donneur est joint au réplicon cible par deux exemplaires d'élément transposable en orientation directe. Cette étape nécessite la transposase et comme l'élément donneur est dupliqué, aussi les fonctions de réplication de l'hôte. Les cointégrés formés sont de courte durée parce que dans une deuxième étape résolvase favorise une recombinaison hautement efficace spécifique au site des sites de *res*. Le réplicon cible porte désormais une copie de l'élément transposable, et le réplicon donneur est restauré (**Figure 7**) (Clewell, 2013).

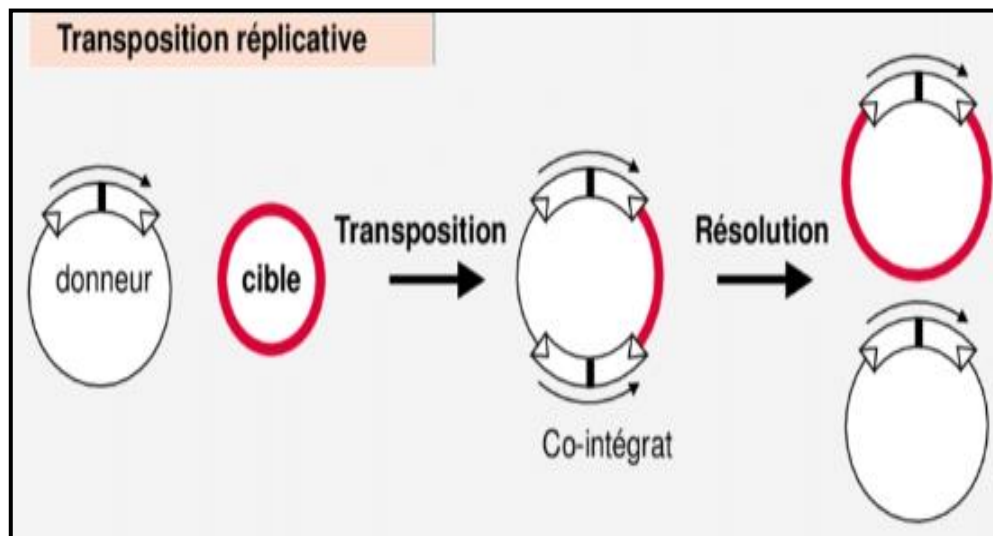


Figure 7. La transposition répllicative (Prescott et al., 2007).

3. Les intégrons

Les intégrons ont été découverts à la fin des années 1980, chez les bactéries Gram⁻, à la suite d'une recherche systématique des déterminants génétiques des plasmides et transposons responsables de résistances des antibiotiques. Ces résistances dans certains cas étaient dues à une nouvelle classe d'éléments génétiques, présents sur le chromosome, les plasmides ou encore les transposons, appelés intégrons (**Luciano et Jean, 2015**).

Les intégrons constituent un système de capture et d'expression de gènes composé d'un gène *intI* codant une intégrase, d'un site de recombinaison *attI* et d'un promoteur. L'intégrase est capable d'intégrer ou d'accélérer des cassettes de gènes par un système de recombinaison spécifique au site. Ainsi, ce système de gène multi-composant cassette-intégron est un système naturel de clonage et d'expression favorisant efficacement la diffusion des gènes de résistance aux antibiotiques dans le monde bactérien (**Ploy et al., 2000**).

3.1. Les types d'intégrons

3.1.1. Les intégrons de multi-résistance

Les intégrons de multi-résistance (MRI) généralement portés par des plasmides ou des transposons, contiennent un nombre limité de cassettes (jusqu'à 8 cassettes) qui codent pour des résistances vis-à-vis de la plupart des antibiotiques connus (plus de 130 cassettes identifiées à ce jour) (**Guerin et al., 2010**).

3.1.2. Les super-intégrons

Les super-intégrons sont considérés comme des précurseurs anciens des intégrons actuels. Contrairement aux intégrons, les super-intégrons sont toujours localisés chromosomiquement. Ils sont plus grands et portent de 20 à 200 cassettes de gènes, dans lesquels beaucoup sont de fonction inconnue. Les cassettes génétiques dans les super-intégrons ne sont pas exprimées par un promoteur commun, et peuvent avoir leurs propres promoteurs. Ces cassettes ne sont pas orientées de manière rigoureuse comme dans les intégrons de classe I. Les super-intégrons ont d'abord été identifiés sur les chromosomes de *Vibrio cholerae*, mais ont depuis été identifiés chez plusieurs autres espèces bactériennes (**Ravi et al., 2014**).

3.2. La structure des intégrons

Plusieurs classes d'intégrons ont été définies en fonction de la nature de l'intégrase. Cinq classes possèdent des cassettes contenant des gènes de résistance aux antibiotiques. À l'heure actuelle, les intégrons de classe 1, 2 et 3 sont bien caractérisés et reconnus comme étant impliqués dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques (**Ploy et al., 2000**). Pour les intégrons de classe 1, l'intégrase *IntI1* est une protéine de 337 acides aminés. Et intégrons de classe 2 sont inclus dans la famille Tn7 de transposons. Ces derniers contiennent trois cassettes géniques intégrées (*dhfrI-sat-aadA1*), une intégrase défectueuse et des gènes qui favorisent la transposition. Le gène *intI2* code pour une protéine présentant 46% d'homologie avec *IntI1* mais tronquée de 12 acides aminés (**Aarestrup, 2005**). Une troisième classe d'intégrons dont l'intégrase *IntI3* présente 61% d'identité avec *IntI1* a été décrite en 1995. Les trois classes d'intégrons diffèrent considérablement à leur extrémité 3'. La plupart des intégrons de classe 1 (**Figure 8**) ont une région d'extrémité 3' contenant trois cadres ouverts de lecture, le premier est *qacEΔ1*, c'est un dérivé tronqué du gène *qacE* conférant la résistance aux ammoniums quaternaires. Le deuxième cadre ouverte de lecture est le gène *sul1* qui confère la résistance aux sulfamides, et le dernier est *ORF5* qui ne code pour aucune fonction connue (**Ploy et al., 2000**).

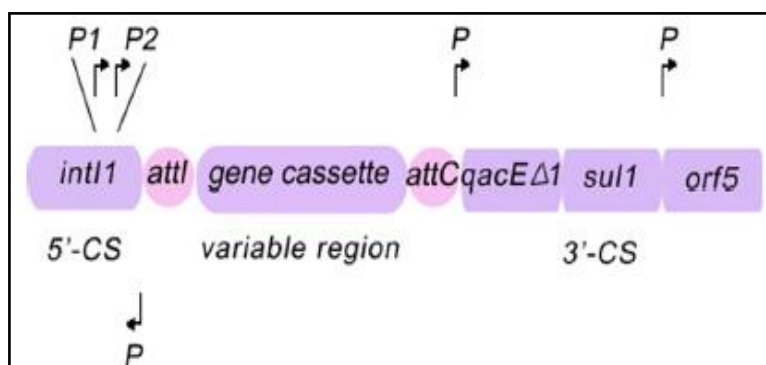


Figure 8. Représentation schématique d'un intégron de classe I (**Deng et al., 2015**).

3.3. Les cassettes

Les cassettes forment un groupe varié de petits éléments mobiles non réplcatifs. Ce sont des unités d'ADN fonctionnelles indépendantes qui peuvent être mobilisées de manière individuelle (**Ploy et al., 2005**). Ils sont sous forme circularisée ou intégrée qui portent des cadres ouverts de lecture généralement sans promoteur. Ils s'intègrent dans une plateforme intégron, composée d'une recombinaise spécifique au site, d'une cible primaire de recombinaison associée appelée site *attI* et de deux promoteurs (divergents) orientés de manière appropriée, l'un conduisant un gène intégrase, *intI*, et l'autre expression motrice du gène associé à la cassette. L'intégron est le nom générique de l'ensemble plateforme-cassette intégrons (**Bouvier, 2005**).

3.3.1. La structure des cassettes

Les cassettes présentent des tailles et des fonctions variables, mais ont une structure commune. La région d'extrémité de 3' de chaque gène est adjacente à une séquence palindromique qui constitue un site de recombinaison spécifique reconnu par l'intégrase. Les sites *attC* sont des répétitions inversées imparfaites. Le premier site *attC* décrit avait une taille de 59 paires de base et le terme «élément de 59 pb» est souvent utilisé pour les sites *attC*. Deux séquences de 7 paires de base sont situées aux limites de chaque site *attC* et sont désignés site central et site central inverse. Le site central de la séquence consensuelle GTTRRRY (R, purine, Y, pyrimidine) est localisé à l'extrémité droite du site *attC*. L'emplacement central inverse de la séquence complémentaire RYYAAC est localisé à l'extrémité gauche. En résumé, une cassette est constituée d'un gène immédiatement suivi d'un site *attC*. Cette entité entière est encadrée par deux séquences consensuelles GTTRRRY (**Figure 9**). Chaque cassette n'a qu'un site *attC*. Il existe une grande variété de sites, certains dont sont associés à des gènes alternatifs conférant une résistance, alors que certains gènes apparentés sont associés à différents sites d'*attC* (**Ploy et al., 2000**).

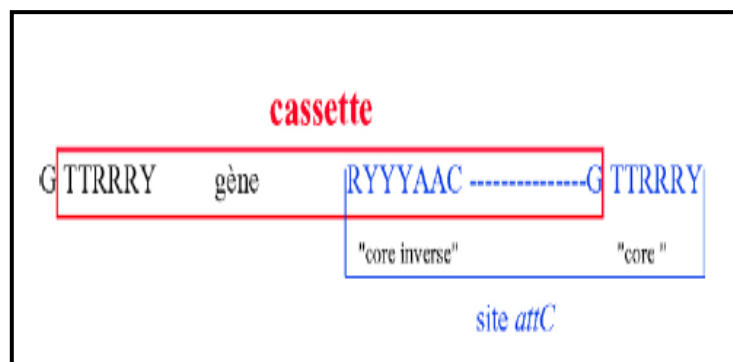


Figure 9. La structure des cassettes (Ploy et al., 2005).

3.4. Les mécanismes d'intégration

La mobilité des cassettes est assurée par le gène *intI1*, codé *IntI1*. La protéine *IntI1* appartient à la famille des intégrales. La protéine *IntI1* possède les trois acides aminés caractérisés de cette famille de protéines, et la mutation de ces acides aminés entraîne une réduction de l'activité catalytique. L'intégrase excise les cassettes de gènes en tant que molécules circulaires supercoilées covalentes fermées. Très probablement, ces cassettes circulaires peuvent également être intégrées. En fait, on a observé des délétions, des duplications et des réarrangements de cassettes de gènes dans les intégrons (Fluit et al., 1999).

L'intégrase *IntI1* catalyse en effet aussi bien l'intégration que l'excision des cassettes, ces mouvements (qui ne font pas intervenir la protéine *RecA*) s'effectuant par recombinaison entre deux sites spécifiques reconnus par l'intégrases. Il s'agit des sites *attC* situés à l'extrémité 3' de chaque cassette, mais aussi d'un autre site, le site *attI*, localisé à la jonction de la région 5' conservée de l'intégron et de la première cassette (Figure 10). Les événements de recombinaison peuvent impliquer 2 sites *attC* ou un site *attC* et un site *attI*. L'intégration des cassettes se fait préférentiellement par recombinaison entre le site *attI* de l'intégron et le site *attC* de la cassette, tandis que leur excision se fait plutôt par recombinaison entre deux sites *attC*. Le site *attI* contient la même séquence core, GTT R R R Y, que le site *attC* mais ne contient pas de séquence complémentaire R Y Y Y A A C (core inverse) ni de séquence inversée et répétée. Les sites *attI* des trois classes d'intégrons sont très différents hormis la séquence GTT R R R Y et la présence de nombreuses bases A localisées dans la région 5'. L'activité de ce site ne semble donc pas liée à une séquence particulière ni à une structure secondaire, contrairement aux sites de recombinaison habituellement reconnus par les intégrases dont les sites *attC*. Cependant, une région

minimale de 33 paires de bases paraît nécessaire à l'activité du site *attI* des intégrons de classe 1. Exceptionnellement, l'événement de recombinaison peut impliquer un site spécifique et un site non spécifique, appelé site secondaire dont la séquence, généralement GWTMW (W:T/A ; M:A/C), est semblable à celle du core GTTRRRY. L'intégration est alors stable car l'excision d'une cassette au niveau d'un site secondaire est peu probable (Ploy et al., 2000).

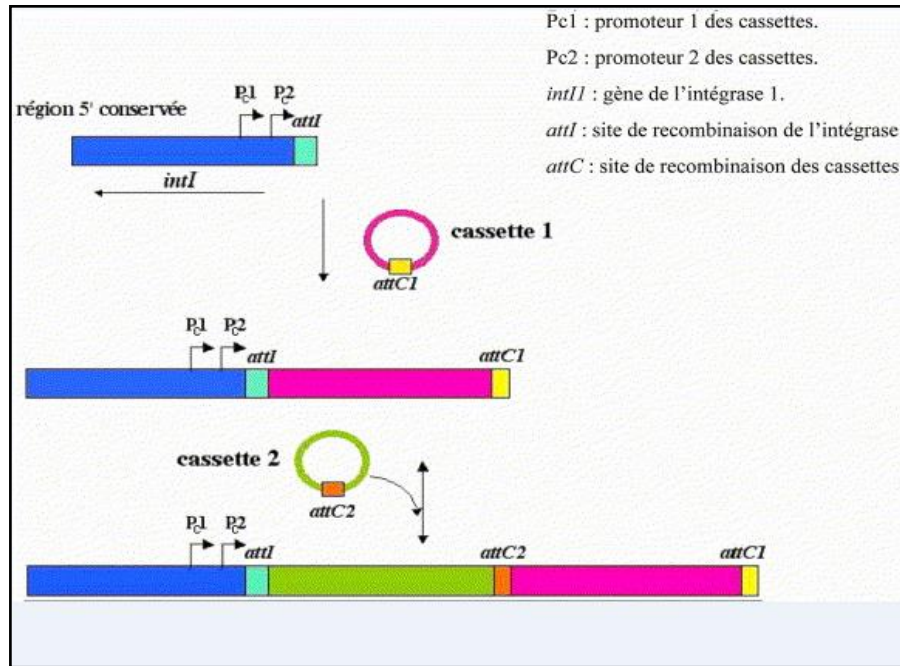


Figure 10. Intégration des cassettes dans un intégrons (Daniel et Elisabeth, 2003).

Chapitre 2. Le transfert génétique horizontal

Chapitre 2. Le transfert génétique horizontal

Les bactéries sont capables de réagir aux pressions sélectives et de s'adapter à de nouveaux environnements en acquérant de nouveaux traits génétiques à la suite d'une mutation, d'une modification de la fonction génétique d'une bactérie et, à la suite d'un transfert horizontal de gènes, de l'acquisition de nouveaux gènes d'autres bactéries. La mutation se produit relativement lentement. Le taux normal de mutation dans la nature est de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-9} par nucléotide par génération bactérienne, bien que lorsque les populations bactériennes sont stressées, elles peuvent augmenter considérablement leur taux de mutation. De plus, la plupart des mutations sont nocives pour la bactérie. Le transfert horizontal de gènes, d'autre part, permet aux bactéries de réagir et de s'adapter à leur environnement beaucoup plus rapidement en acquérant de grandes séquences d'ADN d'une autre bactérie en un seul transfert (Averhoff, 2004 ; Kaiser, 2019).

La bactérie peut acquérir une nouvelle information génétique, à savoir de nouveaux segments d'ADN, par trois mécanismes différents: la transformation, dans laquelle la cellule bactérienne «absorbe» de l'ADN libre présent dans l'environnement, la conjugaison où l'ADN est transféré via un plasmide d'une cellule bactérienne à une autre, et la transduction, où un bactériophage emporte de l'ADN bactérien d'une cellule à une autre (Perry et al., 2004).

1. La transformation bactérienne

1.1. La découverte du phénomène

Historiquement, la démonstration de la transformation d'une bactérie par l'ADN a été faite par Avery, MacLeod et McCarty, en 1944, Griffith auparavant (1928) avait observé que l'injection à des souris d'un mélange de *pneumocoques* a virulents (R: rough) vivants et de *pneumocoques* virulents (S: smooth) tués pouvait provoquer une septicémie mortelle. Des souris mortes, il avait isolé des *pneumocoques* virulents (Figure 11). Il a parlé d'un principe transformant. Avery et ses collaborateurs ont étudié le phénomène in vitro, et ont démontré que le principe transformant évoqué par Griffith est l'ADN et ont donc fourni par la même occasion, la toute première indication que le support moléculaire de l'hérédité est l'ADN (Karp, 2010).

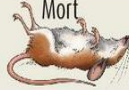
Expériences	État de la souris	Analyse du sang de la souris
 Pneumocoques S vivants	 Mort	 Présence de très nombreux pneumocoques S vivants
 Pneumocoques R vivants	 Survie	Absence de tout pneumocoque
 Pneumocoques S tués	 Survie	Absence de tout pneumocoque
 Pneumocoques S tués Pneumocoques R vivants	 Mort	 Présence de très nombreux pneumocoques S vivants

Figure 11. La découverte de la transformation bactérienne (Karp, 2010).

1.2. Définition

La transformation est le premier mécanisme de transfert d'ADN découvert chez les procaryotes, elle est impliquée dans l'acquisition de l'ADN d'une bactérie morte en cours de dégradation par une bactérie compétente se trouvant à proximité de cette dernière. En effet, lors de la mort d'une bactérie, l'ADN altéré, fragmenté et libéré, et qui contient éventuellement des gènes de résistance vis-à-vis de différents antibiotiques, peut être récupéré par transformation et incorporé par recombinaison dans le génome des bactéries compétentes présentes dans le milieu (Muylaert et Mainil, 2013).

1.3. La compétence de transformation

La compétence des bactéries est un phénomène lié à la perméabilité de la membrane qui peut être induit in vivo ou in vitro (via des chocs électriques ou des agents chimiques) ou se retrouver naturellement chez certains genres voir certaines espèces parmi les Gram positives (*Bacillus* et *Streptococcus*) et les Gram négatives (*Campylobacter*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Neisseria* et *Vibrio*) (Boerlin et Reid-Smith, 2008 ; Kovacs et al., 2009). Certains microorganismes tels que les streptocoques sont naturellement compétentes à certains stades de leur développement alors que d'autres germes ne possèdent aucune fenêtre de compétence (van Hoek et al., 2011).

Certaines entérobactéries dont notamment *E.coli* sont ainsi difficilement naturellement transformables, du fait d'un très faible taux de pénétration de l'ADN et de mécanismes de recombinaison peu efficaces (**Sinha et Redfield, 2012**). Sur la base de ces considérations, la contribution du phénomène de transformation dans l'évolution des résistances aux antibiotiques reste difficile à évaluer bien que théoriquement envisageable (**Del Grosso et al., 2011**).

La compétence artificielle peut être induite à l'aide de chlorure de calcium ou de rubidium ou par un choc thermique, c'est une des techniques les plus importante et fréquemment utilisées pour introduire des molécules d'ADN recombinantes dans des bactéries par une altération de leurs enveloppe (**Perry et al., 2004**).

1.4. La cinétique de la transformation

Lorsque les conditions les plus favorables sont remplies, c'est-à-dire avec un ADN transformant et des bactéries compétentes, le transfert peut avoir lieu. Il comprend plusieurs phases (**Figure 12**) (**Meyer et al., 2008**).

- ✓ **Fixation** : La rencontre des fragments d'ADN avec les cellules se fait au hasard. Les bactéries compétentes sont munies, à leur surface de sites d'adsorption pour cet ADN. Ceux-ci sont démasqués par l'action d'une protéine (competence activator protein) de 5 à 10 kd.
- ✓ **Pénétration**: Elle a été mise en évidence par marquage de l'ADN transformant avec du phosphore radioactif (^{32}p). L'ADN extrait des bactéries après l'expérience est fortement radioactif, démontrant ainsi sa pénétration cellulaire. Lors de sa pénétration l'ADN est modifié par une endonucléase qui dégrade une des deux chaînes, permettant ainsi la pénétration de l'autre.
- ✓ **Phase d'éclipse**: Après sa pénétration, l'ADN va subir l'action des enzymes de restriction-modification et du système de réparation. S'il ne trouve pas rapidement une séquence homologue sur le chromosome, il sera détruit. En effet, pour la réalisation de la phase suivante de recombinaison (intégration dans l'endogénote) une grande homologie de séquence est nécessaire entre les deux.
- ✓ **Intégration**: L'intégration de l'ADN monocaténaire pourrait s'effectuer à la suite d'une cassure d'une des chaînes de l'ADN de l'endogénote, suivie de l'insertion par l'extrémité 5' du fragment du donneur (**Meyer et al., 2008**).

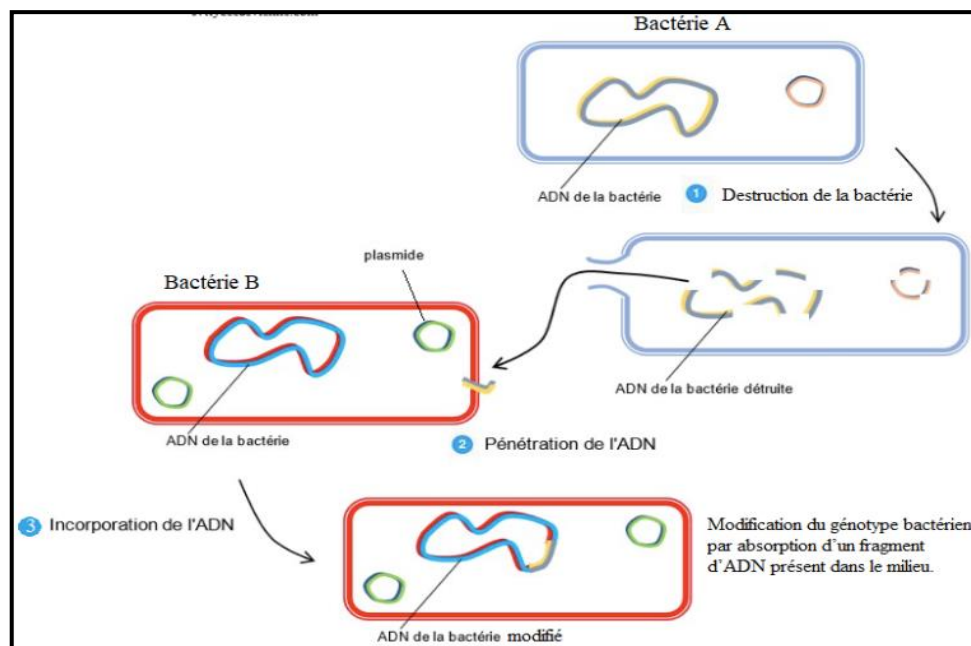


Figure 12. Mécanisme de la transformation (Tortora et al., 2016).

2. La conjugaison

2.1. La découverte du phénomène

En 1946, Lederberg et Tatum mélangèrent deux souches autotrophes d'*E. coli*, incubèrent la culture pendant plusieurs heures dans un milieu nutritif et l'étalèrent sur un milieu minimum. Afin de réduire le risque que leurs résultats soient dus à une simple réversion, ils employèrent des doubles et triples auxotrophes, considérant que deux ou trois réversions simultanées seraient extrêmement rares. Par exemple, une souche exigeait de la biotine (bio-), de la phénylalanine (phe-) et de la cystéine (cys-) pour sa croissance, et une autre souche exigeait des colonies recombinantes prototrophes apparurent sur le milieu minimum après incubation (**Figure 13**). Les chromosomes des deux souches auxotrophes étaient donc capables de s'associer et se recombiner (Luciano et Jean Claude, 2015).

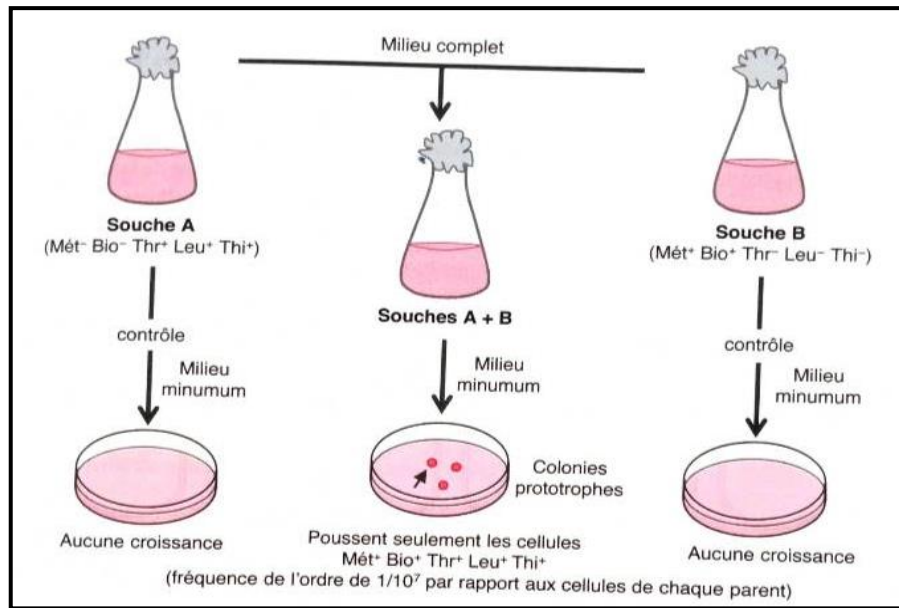


Figure 13. L'expérience de conjugaison de Lederberg et Tatum 1946 (Luciano et Jean, 2015).

2.2. Définition

Certains plasmides (conjugatifs) et transposons conjugatifs confèrent à leur cellule hôte la capacité de transférer de l'ADN à d'autres cellules par conjugaison. Dans ce processus, une cellule donneuse (male) transfère de l'ADN à une cellule réceptrice (femelle) au cours d'un contact physique. Une cellule réceptrice qui a reçu de l'ADN d'une cellule donneuse s'appelle un transconjugant. Comme la transformation, la conjugaison peut amener d'importants changements phénotypiques par le receveur par exemple, l'acquisition de résistance aux antibiotiques portée par un plasmide (Singleton, 2005).

2.3. La conjugaison chez les bactéries Gram⁻ et Gram⁺

Chez les bactéries à Gram négatif, le système de conjugaison repose sur la synthèse de pili sexuels. Suite à la formation du pont cytoplasmique, le transfert du simple brin d'ADN est initié spécifiquement à l'origine de transfert (oriT) puis interrompu par une relaxase. L'intégrité de l'élément transféré est restaurée par la réplication du simple brin tout près du pont cytoplasmique. La structure du pilus conjugal, rigide ou flexible, jouerait un rôle important, notamment dans l'environnement intestinal (Licht et Wilcks, 2006).

C'est le mécanisme par lequel les plasmides de résistance (R-plasmides), codant pour la résistance aux antibiotiques multiples et la formation de pilus de conjugaison, sont transférés d'une bactérie donneuse à un receveur (Figure 14). C'est un gros problème dans

le traitement des infections opportunistes à Gram négatif telles que les infections des voies urinaires, les infections des plaies, la pneumonie et la septicémie par des organismes tels que *E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, et *Pseudomonas*, ainsi que des infections intestinales par des organismes comme *Salmonella* et *Shigella*. Il est également prouvé que le pilus de conjugaison peut également servir de canal direct par lequel l'ADN monocaténaire peut être transféré pendant la conjugaison (**Kaiser, 2019**).

Chez les bactéries à Gram positif, les bases du contact seraient en parti dues à la production de protéines membranaires induites par des phéromones, ce qui permettrait l'agrégation des cellules donneuses et réceptrices, puis le transfert des gènes de résistance (**Nielsen et Thomas, 2005**).

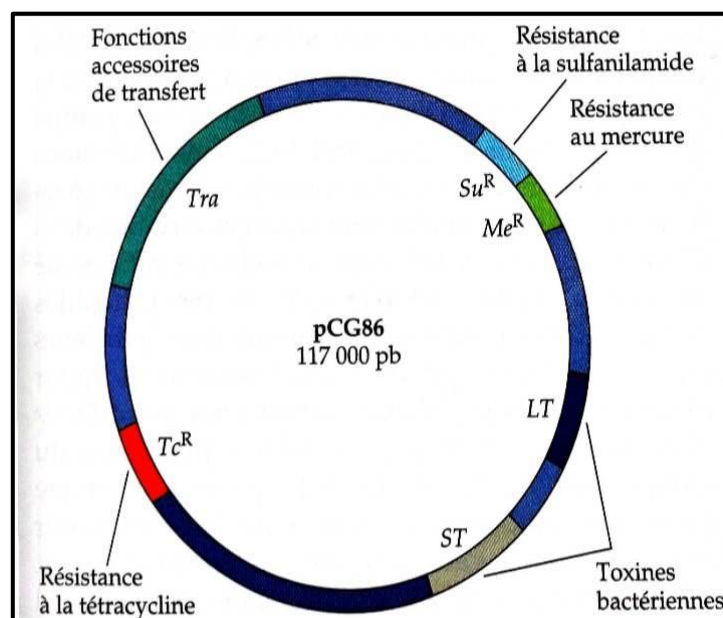


Figure 14. Plasmide PCG86 d'un *E. coli* pathogène. Le produit ou la fonction codée par le gène est indiqué. Les antibiotiques de type Bêta-lactames incluent l'ampicilline (**Perry et al., 2004**).

2.4. La conjugaison Hfr

Dans de rares cas, le plasmide F s'intègre dans le chromosome bactérien (**Figure 15**), il en résulte une cellule donneuse Hfr. Ces cellules Hfr forment des pili et peuvent se conjuguer avec les cellules F⁻. Lors des croisements Hfr x F⁻, le transfert de l'ADN commence (comme dans les cellules donneuses F⁺) par une coupure en oriT. Le brin transféré commence avec l'ADN du plasmide, mais celui-ci est suivi par l'ADN chromosomique, et finalement si le brin ne se casse pas par le reste du brin du plasmide (on

peut comprendre ceci plus facilement si on imagine qu'*oriT* se trouve au milieu du plasmide F intégré). Si les brins plasmidiques et chromosomiques sont transférés en entier, la cellule réceptrice devient une cellule donneuse Hfr, mais habituellement le brin se casse à un endroit donné et la cellule réceptrice (qui ne reçoit pas tout le brin plasmidique) reste F⁻. Cependant, la cellule réceptrice reçoit généralement une partie de l'ADN chromosomique (aussi bien que du plasmidique) et si les gènes de la cellule donneuse se recombinent avec le chromosome de la cellule réceptrice, ils peuvent modifier le message génétique. La forte proportion de cellules recombinantes, résultant des croisements Hfr x F⁻, explique la désignation «Hfr» c'est-à-dire «haute fréquence de recombinaison» (Singleton, 2005).

2.5. La conjugaison F⁺ x F⁻

Au cours d'un croisement F⁺ x F⁻ ou conjugaison, le facteur F se réplique par un mécanisme de cercle roulant et une copie migre vers la cellule receveuse (**Figure 15**). La chaîne en voie de pénétration est copiée pour donner un ADN double brin. La fréquence de recombinaison des gènes chromosomique est faible parce que le chromosome bactérien est rarement transféré avec le facteur F indépendant. On ne comprend pas toujours bien comment le plasmide passe d'une bactérie à l'autre. Le pilus sexuel ou pilus F unit le donneur et le receveur et peut se contracter pour les rapprocher. Le canal de transfert d'ADN pourrait être le pilus F creux ou un tube de conjugaison particulier formé lors du contact (Prescott et al., 2010).

2.6. La conjugaison F⁺ x F[']

Le plasmide F étant un épisome, il peut quitter le chromosome bactérien. Durant ce processus le plasmide fait parfois des erreurs d'excision et emporte une portion du matériel chromosomique pour former un plasmide F⁺. Il n'est pas un plasmide F excisés. La cellule F['] conserve tous ses gènes. Certains sont portés par le plasmide, et ne peut effectuer un croisement qu'avec une receveuse. La conjugaison F['] x F⁺ est essentiellement identique au croisement F⁺ sont transférés avec celui-ci et ne doivent pas être incorporés dans le chromosome de la cellule receveuse afin d'être exprimés la receveuse devient F['] (**Figure 15**) (Prescott et al., 2007).

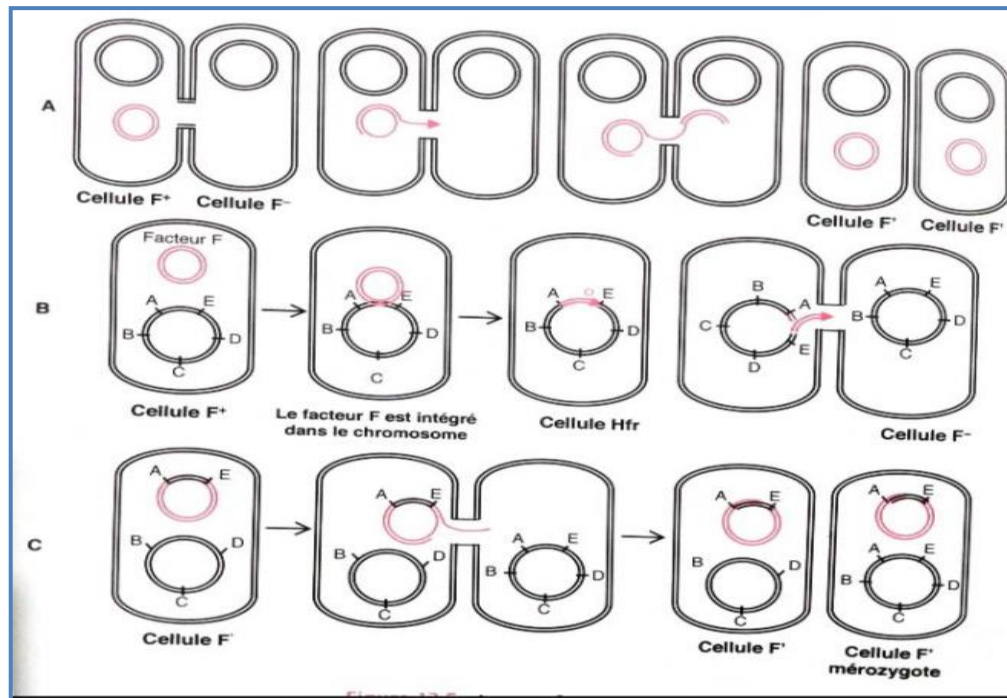


Figure 15. Le transfert conjugatif (Luciano et Jean, 2015).

3. La transduction

3.1. La découverte du phénomène

Ce phénomène a été découvert en 1952 par N.D. Zinder et J. Lederberg en cherchant à mettre en évidence la conjugaison chez *S. typhimurium* grâce à une stratégie semblable à celle utilisée par Lederberg et Tatum lors de la découverte de la conjugaison chez *E. coli* (Figure 16). Le mélange de cultures de deux souches de *S. typhimurium* différant par des mutations nutritionnelles complémentaires générait bien des recombinauts prototrophes. Ceux-ci, toute fois, contrairement au cas de la conjugaison, pouvaient être obtenus même en absence d'un contact physique entre les cellules des deux souches. En outre, le même résultat était obtenu si une des deux cultures était traitée avec un extrait acellulaire de l'autre. L'agent responsable de ce phénomène, découvert plus tard, était un bactériophage appelé PLT-22 (aujourd'hui P22). La nature physique des phages responsables de la transduction (phages transductants) a été éclaircie en 1972 par J. Ebel-Tipsis une expérience qui montra que les particules transductrices étaient constituées d'une capsid du phage contenant de l'ADN bactérien (Luciano et Jean, 2015).

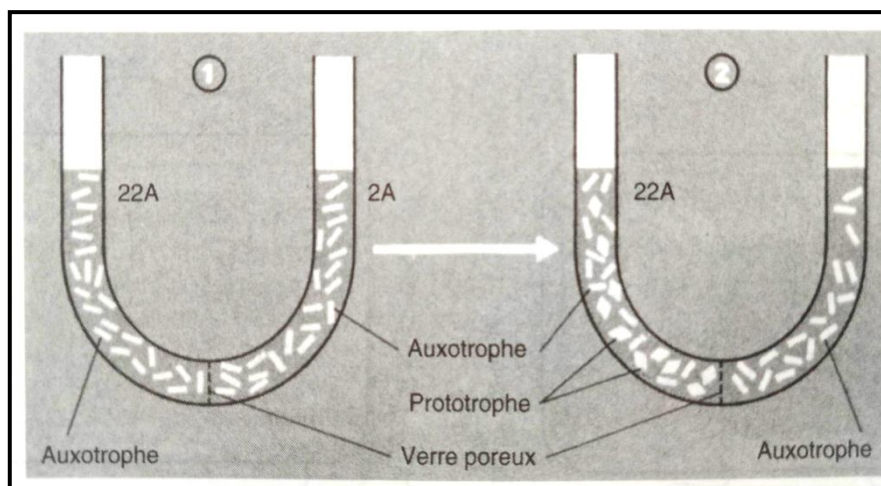


Figure 16. L'expérience de Zinder et Lederberg (Meyer et al., 2008).

3.2. Définition

La transduction est un mécanisme de TGH impliquant des virus bactériens, bactériophages (ou phages) les plus abondants classe des micro-organismes sur terre. Après leur injection dans une cellule bactérienne, les génomes de phages peuvent soit entrés dans un état de répllication active, conduisant à la production de nouveaux phages (état lytique) ou état de dormance (état lysogénique). Ce dernier cas est limité aux bactériophages tempérés, qui s'intègrent au génome de l'hôte comme prophage (Woegerbauer et al., 2020).

3.3. La morphologie du phage

Les bactériophages (phages) sont des virus qui infectent les bactéries et qui jouent un rôle important dans l'évolution bactérienne. Cela est facilité par le transfert des gènes de virulence et de résistance antimicrobienne à de nouveaux hôtes bactériens par transduction (Mazaheri et al., 2011). Beaucoup de phages sont simplement constitués d'un acide nucléique enfermé dans une capsidie protéique (le manteau) (Figure 17). Selon le phage, le génome peut être de l'ADN double brins, de l'ADN simple brin, de l'ARN double brin, ou de l'ARN simple brin. Certains phages sont polyédriques d'autres filamenteux ou plésiomorphes (Tableau 5), et certains ont une «queue» par laquelle ils s'attachent à la cellule hôte (Singleton, 2005).

Lors du contact entre une bactérie et un phage, trois situations sont envisageables: la bactérie résiste à l'infection, le phage ou seulement son acide nucléique pénètre dans la bactérie, s'y multiplie, on parle dans ce cas de phage virulent et son cycle productif aboutit

ou non à la lyse bactérienne, enfin, le phage ou seulement son acide nucléique est introduit dans la bactérie et s'intègre au génome bactérien à l'état latent sous forme d'un prophage, on parle dans ce cas de phage tempéré et le cycle est qualifié de lysogénique. Les bactériophages ne sont pas seulement responsables de l'infection des bactéries, ils sont parfois également impliqués dans le transfert de matériel génétique entre les bactéries au cours d'un procédé nommé transduction (Muylaert et Mainil, 2013).

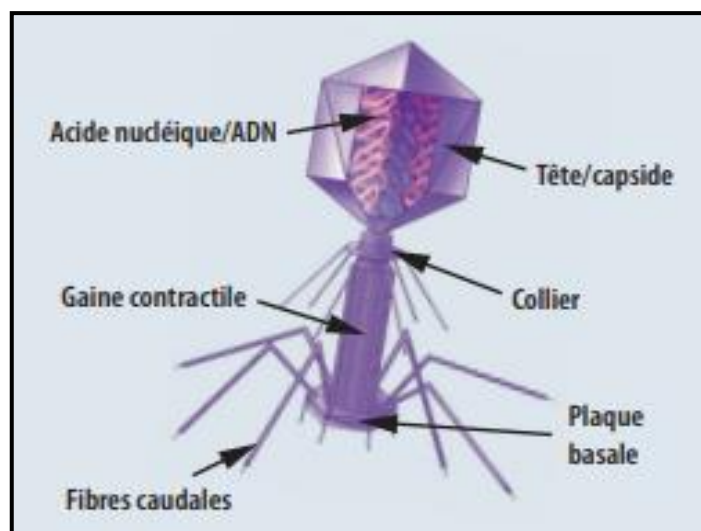


Figure 17. Représentation d'un bactériophage de type T4
(Dublanche et Patey, 2017).

Tableau 5. Quelques exemples des bactériophages (Singleton, 2005).

Nom	Génome	Morphologie ; taille	Hôte principale
λ	ADN double brin linéaire	Tête isométrique, longue queue, non contractile; env. 200 nm	<i>Escherichia coli</i>
Mu	ADN double brin linéaire	Tête isométrique, longue queue, contractile; env. 150 nm	Entérobactéries
MV-L3	ADN double brin linéaire	Tête isométrique, queue courte ; env. 80 nm	<i>Acholeplasma laidlawii</i>
T4	ADN double brin linéaire	Tête allongée, longue queue contractile; env. 200nm	<i>Escherichia coli</i>
M12	ARN simple brin linéaire	Icosaédrique; Env.25nm	Entérobactéries (seulement les cellules donneuses conjugatives)
f1	ADN simple brin (circulaire)	Filamenteux > 750 nm x 6 nm	Entérobactéries (seulement les cellules donneuse conjugatives être infectées)
PM2	ADN double brin (circulaire)	Icosaédrique, avec membrane lipidique interne; env. 60 nm	<i>Alteromonas espejiana</i>
M13	ADN simple brin (circulaire)	Filamenteux > 750 nm x 6 nm	Comme f1

3.4. Biologie du phage et cycles phagiques

3.4.1. Les phages lytiques et cycle lytique

Les phages lytiques, comme leur nom l'indique, détruisent la bactérie. Ils détournent la machinerie bactérienne à leur profit pour se reproduire et se multiplier. Au terme du processus appelé cycle lytique, la bactérie éclate et plusieurs dizaines de nouveaux phages identiques à l'original sont libérés dans le milieu et donc disponibles pour s'attaquer à d'autres bactéries de la même espèce. Véritables «tueurs professionnels», les phages lytiques sont les prédateurs naturels des bactéries. Ce sont précisément ces phages lytiques et eux seuls qui sont utilisés à des fins thérapeutiques (depuis d'Hérelle) pour lutter contre les infections bactériennes (phagothérapie). Le cycle lytique comporte différentes phases, ceci est expliqué dans la **Figure 18 (Point, 2018)**.

3.4.2. Les phages tempérés et cycle lysogénique

Un phage tempéré peut établir une relation stable avec une bactérie. Cette relation s'appelle la lysogénie et on dit que la bactérie hôte est lysogène. Dans la plupart des cas de lysogénie, le génome de phage (c'est à dire son acide nucléique) s'intègre dans le chromosome de l'hôte, il est alors appelé prophage. Dans quelques cas par exemple le phage P1 il n'y a pas d'intégration et le prophage s'installe dans la bactérie sous forme d'une molécule circulaire (un plasmide). De toute façon, la réplication du prophage est coordonnée avec la division cellulaire, de telle sorte que chaque cellule fille reçoive un prophage (**Singleton, 2005**).

Le maintien de l'état lysogène implique la synthèse d'un répresseur protéique, codé par le phage. La disparition de ce répresseur protéique a pour résultat l'induction du cycle lytique c'est-à-dire que le prophage garde normalement une virulence potentielle (**Figure 18**). Dans une population de bactéries lysogènes, l'induction peut se déclarer spontanément chez un petit nombre de cellules. Dans la nature la lysogénie semble être un phénomène courant (**Singleton, 2005**).

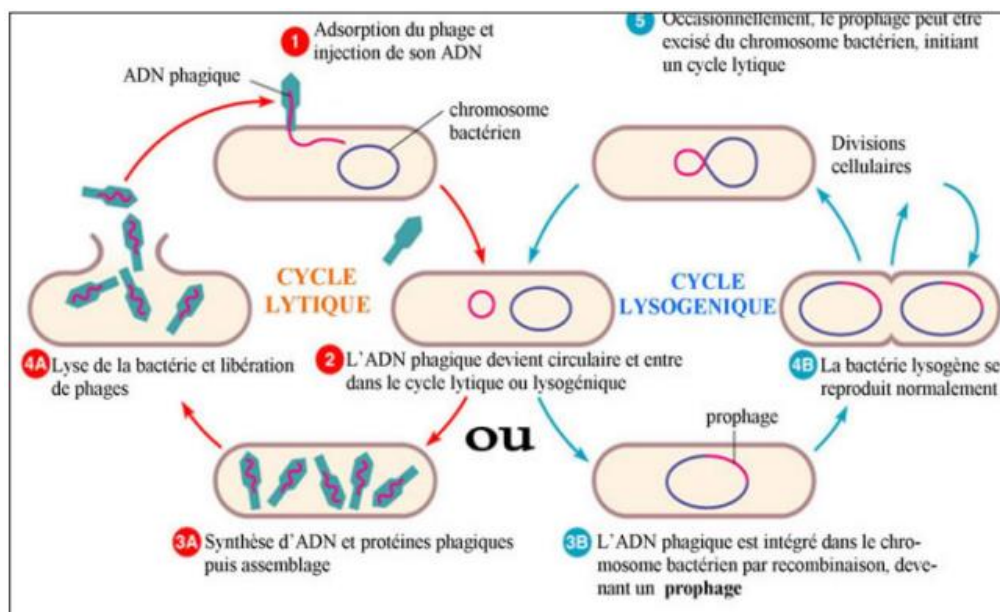


Figure 18. Cycle de vie du bactériophage (Dublanchet, 2009).

3.5. Les types de transduction

3.5.1. La transduction généralisée

La transduction généralisée est réalisée par certains bactériophages virulents. Après infection d'une cellule, ces bactériophages subissent un cycle complet de répllication. Durant le processus d'infection, le chromosome de l'hôte est dégradé et l'ADN est utilisé comme source de blocs de nucléotides pour synthétiser le génome du phage (Perry et al., 2004).

Par ce processus, n'importe quel gène peut être transféré d'une cellule à l'autre. Dans une population de bactéries infectées, il arrive occasionnellement qu'au cours de l'assemblage des particules de phages, un fragment d'ADN chromosomique ou plasmidique soit incorporé en lieu et place de l'ADN du phage. On parle alors d'erreur d'encapsidation. Une fois libérés, de tels phages anormaux peuvent s'attacher à d'autres cellules et injecter leur ADN, mais comme ce n'est pas de l'ADN de phage, il n'en découle ni lysogénie, ni lyse (Singleton, 2005).

Dans la cellule réceptrice (le transductant), l'ADN transduit peut être dégradé par les endonucléases de restriction se recombiner avec le chromosome (ou le plasmide) de telle sorte que certains gènes de la cellule donneuse puissent être transmis de façon stable (transduction complète) persister sous forme d'une molécule stable mais ne se répliquant

pas (transduction abortive). Si un transductant abortif donne naissance à une colonie, une seule cellule de la colonie contient l'ADN transduit. Les gènes transduits avec un promoteur fonctionnel (qu'il s'agisse d'une transduction complète ou abortive) peuvent être exprimés dans le transductant. Le transfert d'un gène donné par transduction généralisée est un événement rare. Que deux ou plusieurs gènes soient transduits ensemble (co-transduction) est considéré comme une preuve de leur localisation sur le même fragment d'ADN. Ce type d'information a été très utile pour la cartographie détaillée des chromosomes ou des plasmides donneurs. Les distances entre les gènes sont estimées d'après les fréquences de co-transduction (**Singleton, 2005**).

3.5.2. La transduction spécialisée

La transduction spécialisée nécessite l'incorporation de l'ADN viral dans le chromosome bactérien et n'est donc réalisée que par les virus lysogéniques. Elle a lieu après la formation du prophage, avec l'intégration de l'ADN viral au niveau d'un site spécifique du chromosome de la cellule hôte. Le prophage se réplique donc pendant plusieurs générations avec le chromosome bactérien, donc il fait partie intégrante (**Perry et al., 2004**).

Occasionnellement, il peut s'exciser et initier un cycle virulent, supposant la réplication de l'ADN viral, l'encapsidation et la lyse de la cellule hôte. Cette excision peut être parfois imprécise et entraîner une partie d'ADN chromosomique flanquant l'ADN viral. Cet ADN excisé est alors inclus dans l'ADN viral, il se réplique avec lui et est encapsidé dans chaque particule virale produite. Après la lyse cellulaire, les bactériophages virulents libérés vont infecter de nouvelles cellules hôtes, conduisant à la réplication virale et à un nouveau cycle virulent. Cependant, comme le bactériophage initial, le virus transduit peut débiter un cycle de lysogénie supposant l'intégration chromosomique de l'ADN viral. Si la cellule hôte présente des séquences homologues aux séquences d'ADN bactérien transduites par le bactériophage, des événements de recombinaison réciproque sont susceptibles de se réaliser, conduisant à l'incorporation stable de ces gènes dans le chromosome bactérien indépendamment de l'établissement d'une lysogénie (**Perry et al., 2004**).

Chapitre 3. Résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques

Chapitre 3. Résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques

1. Les antibiotiques

1.1. Définition

L'adjectif antibiotique (du grec anti: contre, biotikos: concernant la vie) utilisé pour la première fois en 1889 (**Guardabassi et Courvalin, 2006**). Les antibiotiques sont des substances naturelles capables d'inhiber la croissance bactérienne (Bactériostatique) ou tuer les bactéries (Bactéricide). Elles sont actives sur les cellules procaryotes mais respectent en effet les cellules des espèces eucaryotes. La plupart des antibiotiques récents sont en fait maintenant des produits élaborés par hémisynthèse ou par synthèse totale (**Georges et al., 2009**).

Ils ont en principe une toxicité sélective, c'est-à-dire qu'ils sont toxiques pour les bactéries mais non pour l'organisme, ce qui malheureusement n'est pas toujours vrai. Comme pour tout médicament actif, les antibiotiques sont susceptibles de provoquer des accidents plus ou moins importants (**Merad et Merad, 2001**).

1.2. Les critères de classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères, l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action (**Yala et al., 2001**).

1.2.1. L'origine

Les antibiotiques sont obtenus de trois sources principales:

- ✓ **Micro-organismes:** par exemple, la bacitracine et la polymyxine sont obtenues de certaines espèces de *Bacillus*; streptomycine, tétracyclines, etc. D'espèces de *Streptomyces*; gentamicine de *Micromonospora purpurea*; griseofulvin et certains pénicillines et céphalosporines de certains genres (*Penicillium*, *Acremonium*) de la famille des Aspergillaceae; et monobactames des espèces *Pseudomonas acidophila* et *Gluconobacter*. La plupart des antibiotiques utilisés actuellement ont été produits à partir de *Streptomyces spp.*
- ✓ **Synthèse:** le chloramphénicol est maintenant généralement produit par un procédé synthétique.

- ✓ **Semi-synthèse:** cela signifie qu'une partie de la molécule est produite par un processus de fermentation utilisant le microorganisme approprié et le produit est ensuite modifié par un processus chimique (**Denyer et al., 2008**).

1.2.2. Les cibles des antibiotiques et leurs modes d'action

Les antibiotiques entravent la croissance bactérienne en agissant sur des cibles vitales. Il s'agit principalement pour les grandes classes d'antibiotiques:

- ✓ **La paroi bactérienne:** c'est le cas pour les bêta-lactamines ou pour les glycopeptides; les bêta-lactamines entravent la formation de la paroi bactérienne en se fixant sur des enzymes indispensables à la synthèse du peptidoglycane appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP).
- ✓ **Le système nécessaire à la synthèse des protéines avec inhibition de la transcription de l'ARN messager:** cible ribosomale et interférence avec l'ARNt (aminosides, cyclines, phénicolés) ou inhibition de la formation des chaînes peptidiques (macrolides, acide fusidique).
- ✓ **Le système de synthèse des acides nucléiques:** par action sur les précurseurs de cette synthèse (co-trimoxazole) ou sur ses enzymes (rifampicine); les quinolones empêchent la synthèse de l'ADN en entravant le fonctionnement des enzymes indispensables à l'obtention de son organisation spatiale (topo-isomérases) (**Georges et al., 2009**).

1.2.3. Le spectre d'activité antibactérienne

Le spectre d'activité d'un antibiotique représente l'ensemble des espèces bactériennes qui y sont sensibles. Lorsque le spectre est limité à un petit nombre d'espèces bactériennes, celui-ci est qualifié d'étroit. Par contraste, à un spectre dit large correspond à un antibiotique actif sur un grand nombre de bactéries par exemple il existe pour certaines infections des traitements monodoses (**Fauchere et Lavril, 2002**).

1.3. La classification des antibiotiques

Les antibiotiques ont été répartis selon leurs cibles et représentés sur cinq tableaux suivants 6, 7, 8, 9, 10, où ils ont été classés selon plusieurs études (**Yala et al., 2001 ; Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Van Bambeke et al., 2007 ; Coates et al., 2011 ; Wong et al., 2012 ; Mohammadi, 2016**). Et le **Tableau 11** représente la liste des antibiotiques de l'institut Pasteur utilisés en Algérie et leurs abréviations.

Tableau 6. Les classes des antibiotiques qui inhibent la synthèse du peptidoglycane.

Famille	Classe	Sous classe	Dénomination commune internationale	Type d'activité	Mode d'action	Origine
Béta-lactamines	Pénicilline	Pénicilline G et ses dérivés	Benzyl Pénicilline (péni G)	Bactéricide	Paroi bactérienne, par toxicité sélective: ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP ont une activité transpeptidasique, carboxypeptidasique et transglycolasique. L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes bizarroïdes (rondes ou filamenteuses) qui aboutissent à la lyse bactérienne.	<i>Penicillium spp</i>
			Benzyl Pénicillineprocaine			
			Bénéthamine-benzylpénicilline			
			Benzathine-benzyl pénicilline			
			Phénoxy méthyle pénicilline (pénicilline V)			
			Clométocilline			
		Pénicillines M (antistaphylococciques)	Méthicilline			
			Oxacilline			
			Cloxacilline			
			Dicloxacilline			
			Flucloxacilline			
		Aminopénicillies (pénicillines à large spectre)	Ampicilline			
			Bacampicilline			
			Métampicilli			
			Pivampicilline			
			Amoxicilline			
			Epicilline			
		Carboxypénicillines	Carbénicilline			
			Ticarcilline			
		Acyl-amino-pénicillines (Urédopénicillines)	Azlocilline			
			Mezlocilline			
			Pipéracilline			
		Amidinopénicillines	Mécillinam			
			Pivmécilliname			
		Pénicillines sulfones : inhibiteurs de β -lactamases utilisées en association avec une β lactamine	Ampicilline+ Sulbactam			
			Pipéracilline+ Tazobactam			

		Témocilline	Témocilline			
	Céphalosporines (Céphèmes)	Céphalosporines de 1ère génération	Céfalotine	Bactéricide	Le mode d'action des céphalosporines est identique au mode d'action des autres β -lactamines (voir pénames).	<i>Cephalosporium spp</i>
			Céfacétrile			
			Céfapirine			
			Céfaloridine			
			Céfazoline			
			Céfalexine			
			Céfradine			
			Céfadroxil			
			Céfaclor			
		Céphalosporines de 2ème génération	Céfoxitine (Céfamycine)			
			Céfuroxime			
			Céfamandole			
		Céphalosporines de 3ème génération	Céfotaxime			
			Céftizoxime			
			Céftriaxone			
			Latamoxef (Oxacephem)			
			Ceftazidime			
			Cefménoxime			
			Cefpirome			
			Cefsulodine			
			Cefepime			
			Cefpirone			
			Céfixime			
		Autres Céphalosporines	Céfopérazone			
			Céfotiam			
			Céfotétan (céphamycine)			
	Carbapénèmes		Imipénème	Bactéricide	Le mode d'action de ces antibiotiques est identique au mode d'action des autres β -lactamines (voir Pénames)	<i>Streptomyces spp</i>
			Méropénème			
			Ertapénème			
			Faropenem			
	Oxapénames ou clavams (acide clavulanique inhibiteurs de β lactamases utilisés en association avec une β lactamine		Ticarcilline + Acide clavulanique	Bactéricide		<i>Streptomyces clavuligerus</i>
			Amoxicilline+Acide clavulanique			

	Monobactames	Aztréonam			<i>Streptomyces</i> ou synthétique
	Glycopeptides	Vancomycine	Bactéricide lente	Paroi bactérienne en bloquant la polymérisation du peptidoglycane par un mécanisme complexe.	<i>Various actinomycetes</i>
		Teicoplanine			
	Fosfomycine	Fosfomycine	Bactéricide	Paroi bactérienne à un stade précoce lors de sa synthèse.	<i>Streptomyces spp</i>
		Fosfomycinetrométam-ol			
	Lipopeptide	Daptomycine	Bactéricide	Il se fixe sur la membrane des cellules bactériennes, ce qui entraîne une fuite de potassium associée à la perturbation de la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines	<i>Bacillus, Paenibacillus, pseudomonas</i>
	Polymyxines	Polymyxine E (Colistine)	Bactéricide	Ils possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-actifs. Ils agissent sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides d'où rupture de la barrière osmotique.	<i>Bacilles aérobiesporulés</i>
		Polymyxine B			

Tableau 7. Les classes des antibiotiques qui inhibent la synthèse des protéines.

Famille	Classe	Sous classe	Dénomination commune internationale	Type d'activité	Mode d'action	Origine		
Aminosides	Streptamines (Groupe I)		Spectinocyne	Bactéricides	Sous unité 30S du ribosome. Erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines.	Streptomyces, Micromonospora spp.		
	Streptidine (Groupe II)		Dihydrostreptomycine Streptomycine					
	Désoxystreptamine	Groupe III	Apramycine					
		Groupe IV	Ribostamycine					
			Néomycine					
	Groupe V	s/grpe V A	Framycetine					
			Tobramycne					
			Kanamycine					
			Amikacine					
		s/grpe V B	Gentamicine					
s/grpe V C	Netilmicine							
Autres molécules apparentées (Groupe VI)		Fortimicine A						
Macrolides Lincosami des Streptogramines (MLS)	Macrolides vrais	14atomes	Erythromycine	Bactériostatique	Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines, ils agissent au niveau de la s/unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation.	Various actinomycetes		
			Oléandomycine					
			Roxithromycine					
			Clarithromycine					
			Dirithromycine					
		15atomes	Azithromycine					
		16atomes	Josamycine					
			Spiramycine					
			Midécamycine					
		Lincosamides					Lincomycine	Bactéricide
	Clindamycine							
	Streptogramines		Pristinamycine	Bactériostatique			Streptomyces spp	
			Virginiamycine					
			Quinupristine					
			Dalfoprystine					

	Kétolides	Télithromycine	Bactériostatique		Synthétique
Tetracyclines		Oxytetracycline	Bactériostatique	Sous unité 30S du ribosome. inhibiteurs de la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, ils empêchent la fixation de l'aminoacyl-ARNt.	<i>Streptomyces spp</i>
		Chlortetracycline			
		Doxycycline			
		Minocycline			
		Glycylcyclines			
Phénicolés		Chloramphénicol	Bactériostatique	Sous unité 50S du ribosome. inhibition de la polymérase.	<i>Streptomyces venezuelae</i>
		Thiamphénicol			
Oxazolidinones		Linézolide	Bactériostatique	Ils interagissent avec l'unité ribosomale 50S et ont un mécanisme d'action non encore complètement élucidé.	Synthétique
		Tedizolid			
Antibiotique non classé		Acide fucidique	Bactéricide ou Bactériostatique Selon la dose	C'est un inhibiteur de la synthèse protéique interférant avec le facteur d'élongation G (EF-G).	<i>Microsporumspp</i> ou <i>Epidermophyton spp</i>

Tableau 8. Les classes des antibiotiques qui inhibent la synthèse des acides nucléiques.

Famille	Classe	Sous classe	Dénomination commune internationale	Type d'activité	Mode d'action	Origine
Quinolones	Quinolones 1ère génération		Acide nalidixique	Bactéricide	Inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliqués dans cette synthèse: l'ADN gyrase et l'ADN topo- isomérase IV.	Synthétique
			Acide piromidique			
			Acide pipémidique			
			Fluméquine			
			Acide oxolinique			
			Cinoxacine			
	Quinolones 2ème génération		Ofloxacine			
			Ciprofloxacine			
			Norfloxacine			
			Énoxacine			
			Péfloxacine			
			Loméfloxacine			
	Quinolones 3ème génération		Gatifloxacine			
			Lévofloxacine			
			Sparfloxacine			
			Moxifloxacine			
	Quinolones 4ème génération		Trovafloxacine			
			Alatrofloxacine			
Quinolones 5ème génération		Ecinofloxacine				
		Prulifloxacine				
Rifamycines			Rifamycine	Bactéricide	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARN messenger (ARNm) par inhibition de l'ARN polymérase.	Amycolatopsis mediterranei
			Rifamycine SV			
Mupirocines			Mupirocine	Bactéricide	Inhibe la synthèse des protéines bactériennes par liasone réversible et spésifique d'isoleucylt-ARN synthétase.	Pseudomonas fluorescens
Non classé			Novobiocine	Bactériostatique	Inhibe la réplication de l'ADN.	Actinomycète streptomycetes niveus

Tableau 9. Les classes des antibiotiques qui ciblent les mécanismes complexes de la bactérie.

Famille	Classe	Sous classe	Dénomination commune internationale	Type d'activité	Mode d'action	Origine	
Produits nitrés	Nitrofuranes		Nitrofurantoïne	Bactéricide	Agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases).	Synthétique	
			Hydroxyméthyl-nitrofurantoïne				
			Furazolidone				
			Nifuroxazide				
	Nitroimidazoles		Métronidazole		Ils agissent en inhibant la synthèse des acides nucléiques entraînant la mort rapide de la bactérie. Les 5 nitroimidazolés sont bactéricides.	Streptomyces spp.	
			Ornidazole				
			Tinidazole				
Antituberculeux				Rifampicine	Bactéricide	l'inhibition de lasynthèse des acide mycoliques, constituants importants et originaux de la paroi des mycobactéris,semble être le principal mécanisme d'action.	Synthétique
				Isoniazide			
				Soniazide/Rifampicine			
				Pyrazinamide	variable		
				Rifabutine	Bactéricide		
				Pyrazinamide/Isoniazide/Rifampicine			

Tableau 10. Les classes d'antibiotiques qui inhibent la synthèse des folates (acide folique).

Famille	Classe	Sous classe	Dénomination commune internationale	Type d'activité	Mode d'action	Origine
Sulfamides			Sulfapyridine	Bactériostatique	Inhibent la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydroptéroate synthétase (DHPS).	Synthétique
			Sulfafurazole			
			Sulfaméthoxydiazine			
			Sulfaméthoxypyridazine			
			Sulfaméthoxazole			
			Sulfaméthizole			
			Sulfaguanidine			
2-4 diaminoptéridine			Trimethoprine		Inhibent la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydrofolate réductase.	
Sulfamides+Trimethoprine			Sulfaméthoxazole + Trimethoprine (Cotrimoxazole)		Agit sur les deux enzymes précédents.	

Tableau 11. Liste des antibiotiques de l'institut pasteur utilisés en Algérie et leurs abréviations (Rahal et al., 2009).

Familles	DCI	ABR	Familles	DCI	ABR
β-lactamines	Pénicilline	PEN	Cyclines	Tétracycline	TCY
	Oxacilline	OXA			TCY
	Ampicilline	AMP		Doxycycline	DOX
	Amoxicilline	AMX	Macrolides	Erythromycine	ERY
	Amoxicilline + Ac.clavulanique	AMC		Azithromycine	AZM
	Ticarcilline	TIC		Clindamycine	CLI
	Ticarcilline + Ac.clavulanique	TCC		Pristinamycine	PRI
	Pipéracilline	PIP		Spiramycine	SPI
	Céfalexine	LEX		Quinupristine-Dalfopristine	QDF
	Céfazoline	CZO	Phénicoles	Chloramphénicol	CHL
	Céfalotine	CEF	Polypeptides	Colistine	COL
	Céfoxitine	FOX	Glycopeptides	Vancomycine	VAN
	Céfotaxime	CTX		Teicoplanine	TEC
	Ceftriaxone	CRO	Sulfamides et associés	Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	SXT
	Ceftazidime	CAZ			
	Aztréonam	ATM	Quinolones	Acide nalidixique	NAL
	Imipénème	IPM		Ofloxacin	OFX
	Ertapénème	ERT		Ciprofloxacine	CIP
				Lévofloxacine	LVX
				Gemifloxacine	GEM
Aminosides	Gentamicine	GEN	Nitrofurantoines	Furanes	NIT
	Gentamicine Haut niveau	GEH			
	Streptomycine Haut niveau	STH	Autres	Acide fusidique	FUS
	Kanamycine	KAN		Rifampicine	RIF
	Amikacine	AMK		Fosfomycine	FOS
	Tobramycine	TOB			
	Nétilmicine	NET			

2. La résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* dans le monde

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression «résistance bactérienne aux antibiotiques», qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance in vitro) et sur les critères cliniques (résistance in vivo). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de, résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. (Muylaert et Mainil, 2013).

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (Guardabassi et Courvalin, 2006).

• La Résistance naturelle (ou intrinsèque)

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à gram négatif à la vancomycine est naturelle. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La résistance naturelle est stable,

transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (Carle, 2009).

• **La résistance acquise**

La résistance acquise se définit comme une caractéristique propre à quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière, provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles. On décrit deux phénomènes majeurs à la base de l'acquisition de résistances par modifications du génome bactérien, à savoir, les mutations responsables des résistances endogènes, et l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger responsable des résistances exogènes. En outre, certaines résistances résultent de l'association d'une mutation et d'un transfert horizontal de gène, comme par exemple les événements conduisant à l'élargissement du spectre des bêta-lactamases ou qui leur confèrent une résistance aux inhibiteurs de bêta-lactamases (Guardabassi et Courvalin, 2006).

2.1. En Afrique

2.1.1. Maroc

Au Maroc, Arslan et al. (2012) ont déclaré, sur une période de 18 mois s'étalant du 1er juillet 2009 au 31 décembre 2010, un total de 376 examens cytot bactériologique des urines (ECBU), émanant de nourrissons hospitalisés au service de pédiatrie A de l'hôpital, ont été réalisés au laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech. Sur les 376 échantillons urinaires analysés, 205 répondaient aux critères d'infection urinaire, soit 54,5 %. Le diagnostic a été porté chez 114 nourrissons de sexe masculin et 91 de sexe féminin, soit une sex-ratio H/F de 1,2. La répartition des nourrissons selon le sexe et l'âge a montré que l'IUN est une pathologie fréquente, avec une prédominance chez le garçon de moins d'un an (Arsalane et al., 2012).

Concernant son étiologie, les espèces bactériennes impliquées sont regroupées dans le **Tableau 12** qui indique la prédominance de l'espèce *Escherichia coli* (64,8 %) suivie de celle de *K. pneumoniae* (15,6 %). La résistance aux antibiotiques de ces entérobactéries isolées est répertoriée dans le **Tableau 13** (Arsalane et al., 2012).

Tableau 12. Infection urinaire du nourrisson (IUN) au Maroc: fréquence étiologique sur 192 souches isolées (Arsalane et al., 2012).

Espèce bactérienne	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebseilla pneumoniae</i>	<i>Enterbacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Fréquence	64,8	15,6	4	2	7,3
%	(n=133)	(n=32)	(n=8)	(n=4)	(n=15)

Tableau 13. Prévalence de la résistance aux antibiotiques (%) chez quatre espèces d'entérobactéries dans les urines (Arsalane et al., 2012).

Antibiotique	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>P. mirabilis</i>
Amoxicilline	69	100	100	30
Acide clavulanique	55	42	100	30
Céfalotine	52	35	100	15
Céfotaxime	5,8	6,3	37,5	0
Imipénème	0	0	0	0
Amikacine	2	5	3	3
Gentamicine	9	21	15	9
Ciprofloxacine	12	14	17	7
Sulfaméthoxazol + triméthoprime	52,5	46	48	60
Nitrofurantoïne	5	8	8	7

2.1.2. Egypte

La dissémination de la résistance de *K. pneumoniae* (CR-Kp) aux carbapénèmes est un problème de santé majeur en raison de ses options de traitement limitées. En Egypte dans une étude menée par **Al-Baz et al. (2022)** sur une période du 1er Janvier 2021 à 31 Décembre 2021 pour déterminer la prévalence et le profil de résistance aux antimicrobiens des infections hospitalières causée par CR-Kp à l'hôpital universitaire d'Al-Ahrar, 650 échantillons cliniques ont été collectés dans différents services de soins intensifs. Les isolats ont été identifiés par des méthodes conventionnelles. La sensibilité aux carbapénèmes et autres antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque (**Al-Baz et al., 2022**).

Sur 650 échantillons cliniques, 142 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées (**Tableau 14**) avec un taux d'isolement de 21,8 %. *K. pneumoniae* ont montré que la majorité (60,6 %) des isolats étaient extrêmement résistants aux médicaments, tandis que

30,3 % étaient multi drogues résistantes et seulement 9,2 % étaient sensibles. Par la méthode de diffusion sur disque, l'incidence de CR-Kp était de 25,4 %. Le test de sensibilité aux antibiotiques a montré que 100 % des isolats de CR-Kp étaient résistants à l'amoxicilline/acide clavulanique, ampicilline/sulbactame, piperacilline/tazobactame, céfépime, ceftriaxone, céfotaxime, céfoxitine, ceftazidime et nitrofurantoïne. Un taux élevé de résistance était également évident à l'aztréonam, à la norfloxacine (88,9 %, pour chacun) et à l'amikacine. La lévofloxacine affichait le taux de résistance le plus faible (30,6 %), suivie de la ciprofloxacine (44,4 %) et de la gentamycine (47,2 %) (**Figure 19**) (Al-Baz et al., 2022).

La majorité des patients étudiés infectés par CR-Kp (n=36) étaient des hommes 21 (58,3%) alors que chez les femmes étaient 15 (41,7%).

Tableau 14. Répartition des *K. pneumoniae* isolés dans différents échantillons en Egypte (Al-Baz et al., 2022).

Type de spécimen	N° d'isolats	Pourcentage %
Crachat	75	52,8
Sang	49	34,5
Urine	13	9,2
Pus	3	2,1
Ecouvillon de site opératoire	2	1,4

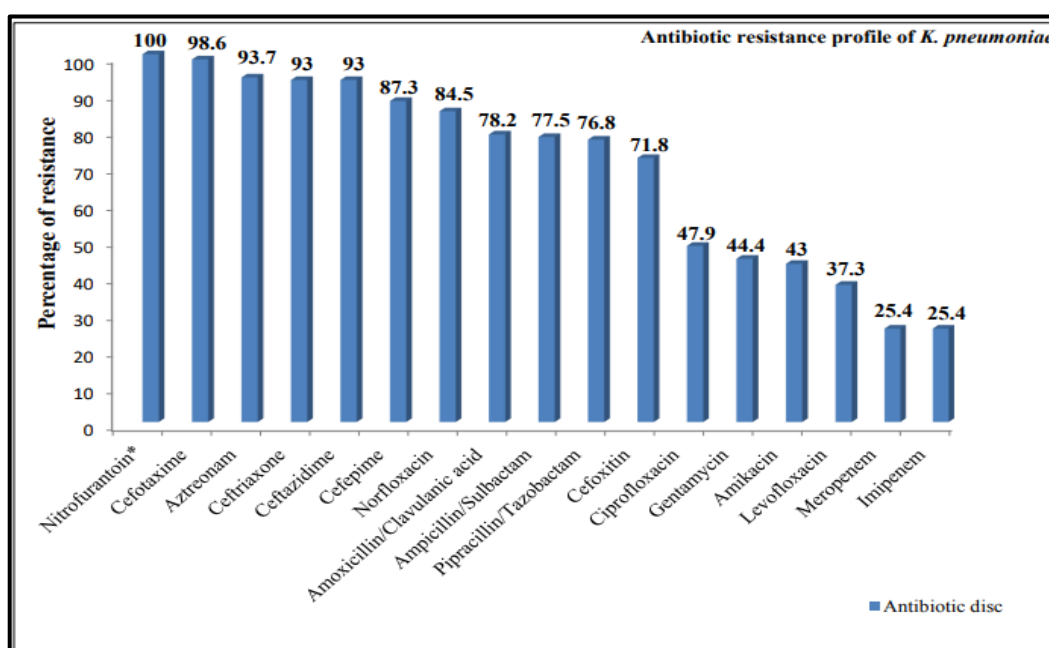


Figure 19. Profil de résistance aux antibiotiques des isolats de *K. pneumoniae* par méthode de diffusion sur disque en Egypte (Al-Baz et al., 2022).

2.1.3. Cameroun

Teghonong et al ont mené une étude transversale descriptive en 2016 et début 2017 dans des hôpitaux côtiers du Cameroun. 412 souches de *Klebsiella sp* et 122 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées (**Tableau 15**). Le groupe d'âge majoritaire est âgé de 1 an à 26,0 %, les germes ont été isolés dans l'urine à 54,6 % et dans la médecine néonatale et pédiatrique à 35,8 %. *K. pneumoniae* a identifié une pneumonie à 82,4 %. La production de BLSE était de 86,9 % contre 3,30 % pour AmpC. La sensibilité à imipénème et à l'amikacine était de 96,2 % et 98,1 % respectivement (**Figure 20**). L'étude a montré une fréquence élevée de BLSE et une faible présence d'ampC dans la région côtière du Cameroun. Les praticiens devraient faire une prescription raisonnable d'un antibiotique correctement exécuté (**Teghonong et al., 2020**).

Tableau 15. Caractéristiques de la *Klebsiella* (Âge, Genre, Nature du spécimen)
(Teghonong et al., 2020).

variables	Total n (%)	AmpC n = 0	AmpC + BLSE n = 4	ESBL n = 102	Non producteur n = 16	<i>Klebsiella sp</i> n = 290
Âge (années)						
≤ 1	107 (26,0)	0	2	29	3	73
[1 – 11]	44 (10,7)	0	0	7	1	36
[11 – 21]	10 (2,4)	0	0	2	0	8
[21 - 31]	48 (11,7)	0	1	15	1	31
[31 - 41]	56 (13,6)	0	1	14	1	40
[41 – 51]	42 (10,2)	0	0	9	2	31
[51 - 61]	36 (8,7)	0	0	7	2	27
[61 – 71]	38 (9,2)	0	0	8	6	24
≥ 71	31 (7,7)	0	0	11	0	20
Genre						
Femme	230 (55,8)	0	4	56	8	162
Mâle	182 (44,2)	0	0	46	8	128
Nature du spécimen						
Culture d'urine	225 (54,6)	0	0	55	10	160
Culture sanguine	109 (26,5)	0	2	31	2	74
Pus	70 (17,0)	0	2	14	4	50

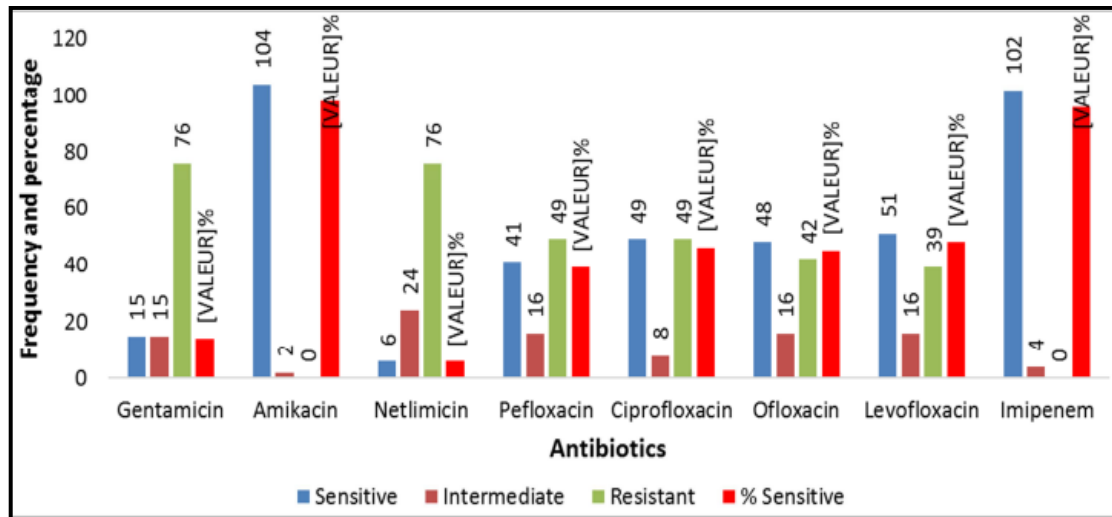


Figure 20. Profil de sensibilité aux antibiotiques de *K. pneumoniae* producteur de BLSE au Cameroun (Teghonong et al., 2020).

2.1.4. Madagascar

L'infection des voies urinaires (IU) de *K. pneumoniae* sont courantes dans la collectivité et à l'hôpital. Au Madagascar, **Rakotovao-Ravahatra et al. (2022)** ont mené une étude visant à évaluer la résistance aux antibiotiques et à décrire les facteurs associés aux infections urinaires causées par *K. pneumoniae*. Il s'agit d'une étude descriptive et transversale de 524 résultats d'examens cytotabactériologiques de l'urine (CBEU) et de pus sur une période de 8 mois, de Janvier 2022 à Août 2022, au laboratoire de l'Hôpital universitaire de Befelatanana (**Tableau 16**) (**Rakotovao-Ravahatra et al., 2022**).

Parmi les 524 cas CBEU, 157 étaient positifs et montraient une prévalence hospitalière de 30 % de l'IU. Parmi les germes identifiés, 18 cas (3,4 %) étaient représentés par des isolats de *K. pneumoniae*. En ce qui concerne les facteurs connexes, les sujets âgés de 60 ans et plus (5,7 %), les hommes (11 %), les patients souffrant de troubles urinaires (13 %) et les patients hospitalisés en médecine interne (9 %) étaient les plus touchés par l'IU de *K. pneumoniae*. Concernant les résultats des antibiogrammes, les résistances des isolats de *K. pneumoniae* variaient de 5,6 % (amikacine) à 100 % (amoxicilline) (**Figure 21**) (**Rakotovao-Ravahatra et al., 2022**).

Tableau 16. Facteurs associés à *K. pneumoniae* infection urinaires (Rakotovao-Ravahatra et al., 2022).

Facteurs associés	IU à <i>K. pneumoniae</i> (N = 18)		Résultats négatifs ou autres infections urinaires (N=506)		Total (N=524)
	n	%	N	%	
Âge (années)					
<20	3	3,6	81	96,4	84
20-39	2	1,4	146	98,6	148
40-50	4	3	131	97	135
≥60	9	5,7	148	94,3	157
Genre					
Femme	7	2,3	303	97,7	310
Mâle	11	5,1	203	94,9	214
Départements					
Chirurgie	1	12,5	7	87,5	8
Patients externes	6	3,1	188	96,9	194
Gynécologie		0	56	100	56
Maladies infectieuses	1	4	24	96	25
Médecine interne	9	4	217	96	226
Unité de soins intensifs	1	6,7	14	93,3	15
Informations cliniques					
Autres	0	0	189	100	189
Fièvre	5	3,6	133	96,4	138
Troubles urinaires	13	6,6	184	93,4	197

IU : infection urinaires

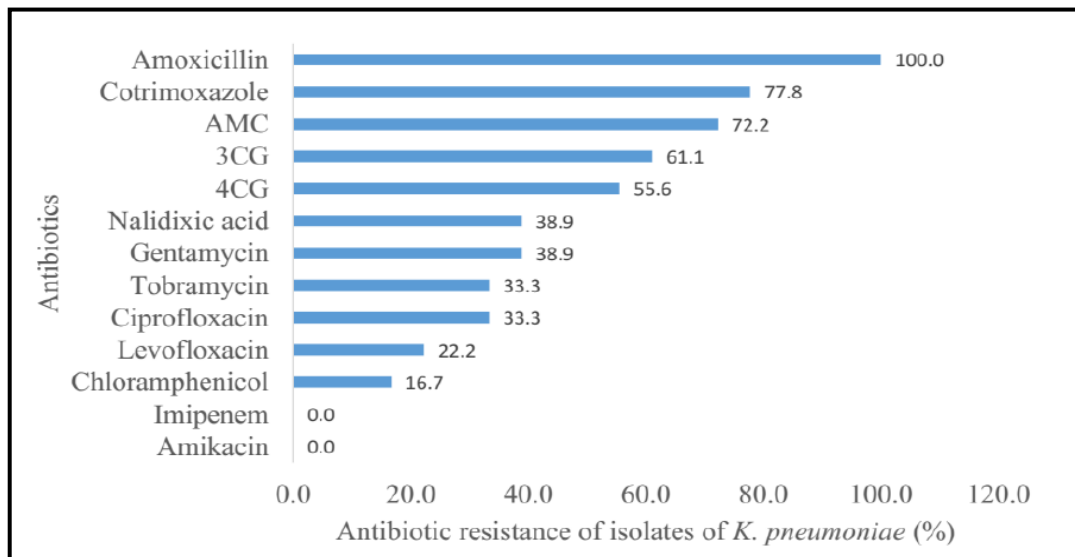


Figure 21. Résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* responsable d'infection urinaire au Madagascar (Rakotovao-Ravahatra et al., 2022).

2.2. En Asie

2.2.1. Iran

Les infections urinaires (IU) sont un type d'infection bactérienne qui survient habituellement chez les femmes plus souvent que chez les hommes. Une cause de ces infections est *K. pneumoniae* de la famille Entérobactéries, qui est la deuxième cause la plus fréquente d'IU après l'autre membre de cette famille, *Escherichia coli*. Cette étude visait à déterminer le taux d'infection à partir d'échantillons isolés et à examiner des antibiotiques efficaces et inefficaces contre *K. pneumoniae* causant des infections urinaires dans les hôpitaux de Zanjan, en Iran. Dans une étude transversale entre avril et juillet 2019, les spécimens ont été isolés des hôpitaux de la province de Zanjan en Iran (**Sheikhabgheri et al 2022**).

Le nombre total d'échantillons prélevés dans les hôpitaux de Zanjan, en Iran, était de 117. Le profil de résistance aux antibiotiques de ces bactéries a été évalué. La sensibilité la plus élevée à *K. pneumoniae* était liée à l'acide nalidixique (83,8 %), à la gentamicine (71,8 %) et au méropénème (71 %). De plus, *K. pneumoniae* présentait la résistance la plus élevée à l'amoxicilline (80,3 %), ainsi qu'au céfotaxime (60,7 %) et au co-trimoxazole (57,3 %). Les résultats du test de sensibilité sont présentés dans la **Figure 22**. *K. pneumoniae* a montré la plus grande sensibilité à l'acide nalidixique, avec 16 µg/ml le pourcentage le plus élevé de CMI, et 32 µg/ml le pourcentage le plus élevé de CMV (**Sheikhabgheri et al 2022**).

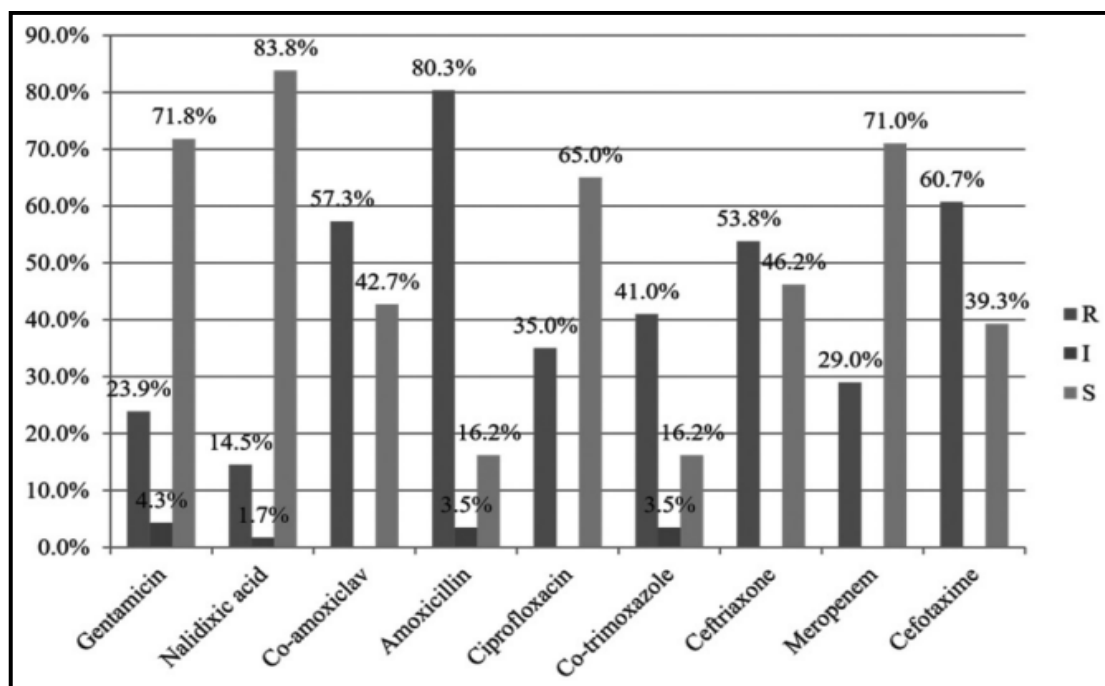


Figure 22. Résultats de l'antibiogramme pour *K. pneumoniae* isolés à l'hôpital de la province de Zanjan en Iran (Sheikhabgheri et al 2022). R: Résistant, I: Intermédiaire, S: Sensible.

2.2.2. Arabie Saoudite

En Arabie Saoudite à l'hôpital roi Fahad de Médine entre le 27 février 2014 et le 31 décembre 2018 **Tableau 17. Al-Zalabani et al. (2020)** ont mené une étude réalisée en tant qu'étude transversale rétrospective. Au total, 15708 isolats ont été prélevés sur 1149 patients inclus dans l'étude. Dans les résultats, ont été les trouvés sans précédent émergence de résistances aux carbapénèmes, avec 38,4% (n=436) pour imipénème et 46,1% (n=371) pour méropénèm, qui sont le premier choix de traitement dans les directives locales, ainsi que des taux de résistance élevés pour alternatives de traitement couramment utilisées (40,7 % (n=105) pour la colistine et 53,3 % (n=220) pour tigécycline) (Al-Zalabani et al., 2020).

De plus, les céphalosporines des troisième et quatrième générations présentaient une résistance allant de 57,5 %. À 77,8 %. On a constaté une co-résistance avec l'imipénème à des taux supérieurs à 75 % pour d'autres choix de prise en charge (aminoglycosides et céphalosporines), à l'exception de la colistine et de la tigécycline dont les taux étaient de 53,6 % (n=89) et 61,4 % (n = 167), respectivement **Figure 23**. En conclusion, la recherche a montré des taux de résistance accrus au bêta-lactamines, ainsi qu'une émergence de la résistance aux carbapénèmes et d'autres alternatives de traitement comme colistine et tigécycline (Al-Zalabani et al., 2020).

Tableau 17. Pourcentage de sensibilité aux antibiotiques de *K. pneumoniae* entre 2014 et 2018 à l'hôpital de Roi Fahad–Médine (Al-Zalabani et al., 2020).

Antibiotiques	Années					Total
	2014	2015	2016	2017	2018	
Amikacine	38,8	28,9	32,5	38,8	39,7	36,3
Gentamicine	57,3	46,1	53,6	53,5	52,2	52,2
Cefepime	81,3	69,2	67,1	69,4	66,4	68,4
Céfoxitin	63,9	61,4	57,5	59,9	53,4	57,5
Céftazidime	70,2	67	68,7	65,4	65,9	66,9
Ciprofloxacine	68,5	63,2	65,2	59,6	56,3	61,1
Colistine	0	22,2	62,5	36	44,6	40,7
Tigecycline	40	73,3	83,9	51,8	45,4	53,3
Imipénème	40,5	34,6	40,2	38,6	38,7	38,4
Méropénem	75	43,9	44,8	51	41,1	46,1
Piperacilline/Tazobactam	68,6	61	60,9	62,1	52,4	58,7
Trimethoprim/sulfamethoxazole	57,9	66,6	69	67,7	62,6	67

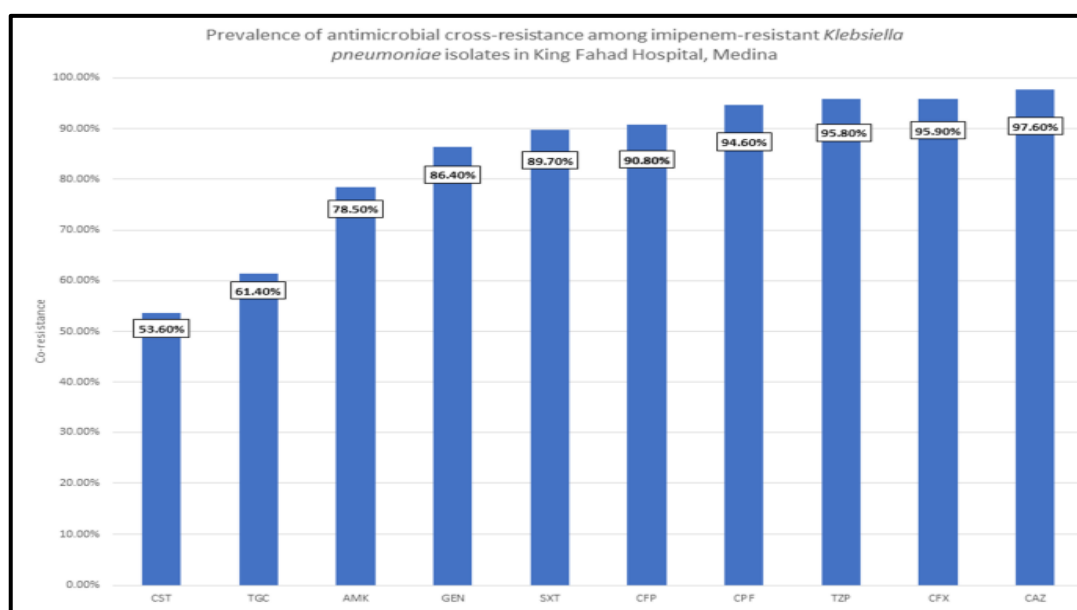


Figure 23. Prévalence de la résistance croisée aux antimicrobiens des isolats de *K. pneumoniae* résistants à l'imipénème chez le roi Fahad Hôpital, Médine (Al-Zalabani et al., 2020).

CST: Colistine, TGC: Tigecycline, AMK: Amikacine, GEN: Gentamycine, SXT: Trimethoprim/Sulfamethoxazole, CFP: Cefepime, CPF: Ciprofloxacine, TZP: Piperacilline/Tazobactam, CFX: Ceftriaxone, CAZ: Ceftazidime.

2.3. En Europe

En Suisse, une diminution de l'incidence des infections dues à des *S. aureus* résistant à la méticilline est observée depuis quelques années, mais des entérobactéries communes telles que *E. coli* et *K. pneumoniae* deviennent de plus en plus résistantes et posent des problèmes de traitement, également en médecine ambulatoire et lors d'infections banales (Bellini et Troilet, 2016).

En 2014, les souches productrices de BLSE présentait 25 % des *E. coli* et 28 % des *K. pneumoniae* isolés en Europe, avec respectivement des variations de 0 à 40 % et 0 à 75 % selon le pays. En Suisse, la production de BLSE concerne 10 % des *E. coli* et 11 % des *K. pneumoniae* selon les données du centre suisse pour le contrôle de l'antibiorésistance qui collecte les données de laboratoires privés et publics répartis dans les divers cantons (Tableau 18). Plus inquiétante encore est la dissémination rapide des ERC, qui représentent déjà un problème de santé publique dans plusieurs pays. En Europe, le taux d'ERC parmi les *E. coli* reste bas et oscille entre 0 et 1,2 % selon le pays. Par contre, la tendance est alarmante pour *K. pneumoniae*, avec des pays qui enregistrent 62 % d'ERC dans cette espèce en 2014. En Suisse, les ERC représentaient 0,2 % des *E. Coli* et 1,7 % des *K. pneumoniae* en 2014 (Tableau 18) (Bellini et Troilet, 2016).

Tableau 18. Proportions de *K. pneumoniae* résistant aux céphalosporines de 3^{ème} génération, aux carbapénèmes et aux quinolones dans divers pays européens en 2014 et en Suisse de 2014 à 2015 (Bellini et Troilet, 2016).

Pays	Pourcentage de résistance aux antibiotiques		
	Céphalosporines 3G	Carbapénèmes	Quinolones
Suède	4,5	0	4,1
Pays-Bas	5,5	0,2	4,7
Royaume-Uni	9,3	0,8	7,7
Allemagne	12,7	0,7	12,7
Belgique	16,3	0,5	18,2
Autriche	8,2	0,6	10,4
Suisse	11,2-9,9	1,7-1,4	13,1-12,5
France	29,6	0,5	31
Portugal	40,9	1,8	36,7
Espagne	18	2,3	18,6
Italie	56,5	32,9	55,7
Croatie	47,9	0,9	44,8
Roumanie	73,8	31,5	66,5
Grèce	72,5	62,3	67,2

2.4. En Amérique

2.4.1. Canada

Le programme québécois de surveillance de laboratoire des ERC a été instauré à l'été 2010. Entre octobre 2011 et décembre 2012, 486 souches ont été reçues au LSPQ dans ce cadre et 335 répondaient aux critères d'inclusion. La production de carbapénémases a été confirmée chez 83 (24,8 %) souches; parmi celles-ci, 70 étaient de type KPC (*K. pneumoniae*, n = 27) (**Figure 24**). Le gène *bla*NDM a été retrouvé chez 2 souches de *K. pneumoniae*, le gène *bla*OXA-48 chez 2 souches de *K. pneumoniae* et 2 souches d'*E. Coli* et le gène *bla*SME (*Serratia marcescens* enzyme) chez 7 souches de *Serratia marcescens*. Des mécanismes de résistance autres que la production de carbapénémases ont également été identifiés chez 252 souches. La surexpression d'une β -lactamase de type AmpC chromosomique possiblement combinée à des mutations au niveau des porines conduisant à une imperméabilité membranaire était le mécanisme le plus fréquemment identifié (177 souches, 52,8 %).

Les souches produisant une enzyme de type KPC étaient généralement résistantes aux 3 carbapénèmes testés ainsi qu'à l'aztréoname et elles se sont avérées majoritairement sensibles à la tigécycline. Les taux de résistance aux aminosides, à la colistine et à la ciprofloxacine étaient variables (**Tableau 19**).

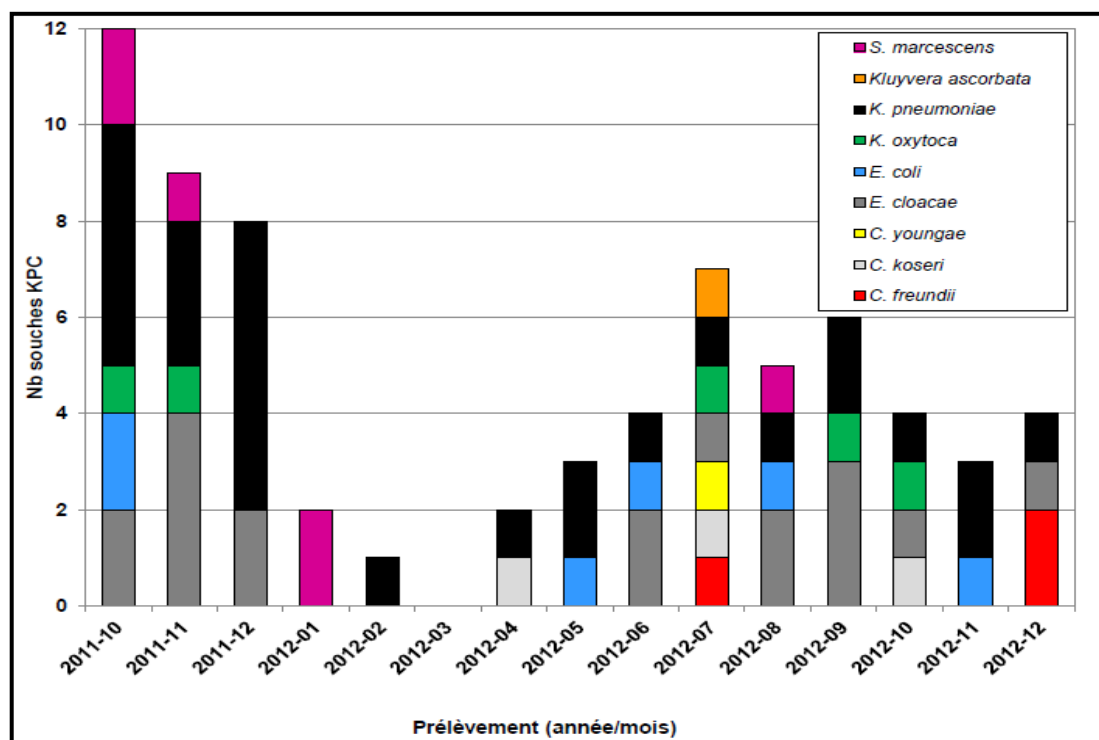


Figure 24: Distribution de 70 souches de *K. pneumoniae* carbapénémase (KPC) d'octobre 2011 à décembre 2012 au Québec (**Lefebvre, 2013**).

Tableau 19: Profils de sensibilité aux antibiotiques des souches KPC (n = 70) au Québec (Lefebvre, 2013).

Antibiotiques	Profils de sensibilité(%)			CMI50 (Mg/L)	CMI90 (Mg/L)	écarts (Mg/L)
	S	I	R			
Céfoxitine	13	14	73	64	≥ 256	2 - ≥ 256
Céfotaxime	0	0	100	> 32	> 32	8 - > 32
Ceftazidime	1	0	99	> 64	> 64	4 - > 64
Céfépime	6	11	83	> 64	> 64	2 - > 64
Ertapénème	0	0	100	32	> 32	4 - > 32
Imipénème	0	3	97	16	> 32	2 - > 32
Méropénème	4	3	93	16	> 32	1 - > 32
Ciprofloxacine	41	9	50	2	> 64	≤ 0,06 - > 64
Tigécycline	83	14	3	1	4	0,12 - 8
Aztréoname	3	1	96	≥ 256	≥ 256	2 - ≥ 256
Colistine	72	-----	28	2	4	1 - > 64
Amikacine	80	17	3	4	32	0,5 - > 128
Gentamicine	49	13	38	8	32	0,25 - > 64
Tobramycine	29	1	70	16	64	0,5 - > 64

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

2.4.2. Venezuela

Restrepo et al. (2017) ont analysé 22 souches de *K. pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes dans une période de 2012 à 2013 qui sont isolés des échantillons cliniques d'un nombre égal de patients hospitalisés dans un hôpital public de Caracas, au Venezuela. Les caractéristiques cliniques sont résumées dans le **Tableau 20 (Restrepo et al., 2017)**.

Les résultats ont montré que 12 patients (54,5 %) étaient des adultes et 14 (63,6 %) étaient des hommes. Toutes les infections ont été associées aux soins de santé, avec 8 (36,4%) de la chirurgie unitaire. Les sites d'infections les plus courants étaient intra-abdominaux, pneumonie, peau et tissus mous, avec 5 patients chacun (22,7 %) par la circulation sanguine liée au cathéter et le liquide céphalorachidien, avec 2 patients chacun (9,2%).

Tous les isolats de *K. pneumoniae* produisant de la carbapénémase étaient résistants à l'ertapénème et au méropénème, tandis que 21 (95,5 %) étaient résistants à l'imipénème (**Tableau 20**). Tous les isolats étaient positifs au test de Hodge, ce qui indique

la présence d'une carbapénémase. Les pourcentages d'isolats résistants aux médicaments sans lactame étaient les suivants : gentamicine, 54,5 % (n= 12/22); amikacine, 22,7 % (n= 5/22); ciprofloxacine, 81 % (n= 17/21); lévofloxacine, 66,6 % (n= 14/21); triméthoprim-sulfaméthoxazole, 72,3 % (n= 17/22) et tétracycline, 20 % (n= 5/20), alors que 100 % étaient sensibles à la tigécycline (**Tableau 20**). Tous les isolats contenaient le variant blaKPC-2, et 21 des 22 isolats étaient associés à l'isoforme Tn4401b. Les souches ont été réparties en 8 types séquentiels (ST), dont trois nouveaux. Les essais de conjugaison et d'électroporation ont indiqué que 95,5 % (n= 21/22) des isolats contenaient le gène blaKPC dans les plasmides (**Restrepo et al., 2017**).

Tableau 20. Sensibilité aux antibiotiques chez les isolats de *K. pneumoniae* producteurs de KPC et caractéristiques cliniques des patients chez lesquels les isolats de *K. pneumoniae* résistant aux carbapénèmes étaient obtenus (Restrepo et al., 2017).

Isoler	Année	IMP	MEM	ETP	AK	GN	CIP	LEX	SXT	TE	TYG	Genre	Type de patient	Site infectieux	Zone d'hospitalisation
HDL1	2012	4	8	>4	≤16	>8	>2	>4	>2/38	≤4	≤2	M	P	Peau et tissus mous	pédiatrie
HDL2	2012	8	>8	>4	32	>8	≤1	≤2	>2/38	≤4	≤2	F	P	pneumonie	pédiatrie
HDL3	2012	8	>8	>4	≤16	>8	>2	>4	>2/38	≤4	≤2	F	P	Liquide céphalo-rachidien	pédiatrie
HDL4	2012	>8	>8	>4	≤16	≤4	≤1	≤2	≤2/38	≤4	≤2	F	A	Peau et tissus mous	chirurgie
HDL5	2012	>8	>8	>4	16	>8	>2	>4	>2/38	≤4	≤2	F	A	Peau et tissus mous	chirurgie
HDL6	2012	>8	>8	>4	≤16	>8	>2	>4	>2/38	/	/	M	A	infections urinaires	Médecine interne
HDL7	2012	8	>8	>4	≤16	≤4	>2	>4	>2/38	≤4	≤2	F	P	Peau et tissus mous	chirurgie
HDL9	2012	>8	>8	>4	≤16	≤4	>2	>4	>2/38	≤4	≤2	M	A	intra-abdominale	chirurgie
HDL10	2012	>8	>8	>4	32	>8	/	/	>2/38	/	/	F	P	Liquide céphalo-rachidien	pédiatrie
HDL11	2012	>8	>8	>4	≤16	>8	>2	4	>2/38	≤4	≤2	M	P	infections urinaires associée au cathéter	pédiatrie
HDL12	2012	>8	>8	>4	>32	>8	>2	>4	>2/38	>8	≤2	F	A	site chirurgical	chirurgie
HDL13	2012	>8	>8	>4	≤16	≤4	>2	>4	≤2/38	≤4	≤2	M	A	pneumonie	soins intensifs
HDL14	2012	>8	>8	>4	≤16	≤4	>2	>4	≤2/38	≤4	≤2	M	A	pneumonie	soins intensifs
HDL15	2012	>8	>8	>4	>32	>8	>2	>4	>2/38	>8	≤2	M	P	Peau et tissus mous	chirurgie
HDL17	2012	>8	>8	>4	>32	>8	>2	>4	>2/38	>8	≤2	M	A	Circulation sanguine par cathéter	médecine interne
HDL20	2012	>8	>8	>4	≤8	≤4	>2	>4	>2/38	≤4	≤2	M	P	pneumonie	pédiatrie
HDL23	2013	>8	>8	>4	≤16	>8	>2	≤2	>2/38	≤4	≤2	M	P	liquide céphalo-rachidien	pédiatrie
HDL24	2013	>8	>8	>4	≤16	>8	>2	4	≤2/38	>8	≤2	M	A	intra-abdominale	chirurgie
HDL25	2013	8	8	>4	>32	>8	>2	>4	≤2/38	>8	≤2	M	A	intra-abdominale	médecine interne
HDL26	2013	2	8	>4	≤16	≤4	2	≤2	>2/38	≤4	≤2	M	P	pneumonie	soins intensifs
HDL27	2013	>8	>8	>4	>32	≤4	>2	>4	>2/38	≤4	≤2	M	A	pneumonie	soins intensifs
HDL31	2013	>8	>8	>4	≤16	≤4	≤1	≤2	>2/38	≤4	≤2	F	A	intra-abdominale	chirurgie

IMP: imipénème, MEM: méropénème, ETP: ertapénem, AK: amikacine, GN: gentamicine, CIP: Ciprofloxacine, LEX: lévofloxacine, SXT: triméthoprime-sulfaméthoxazole, TE: tétracycline, TGC: tigécycline, (-): pas de données, M: mâle, F: femelle, A: adulte, P : pédiatrique.

Le **Tableau 21** résume le pourcentage de la résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques utilisés dans certains pays du monde.

Tableau 21. Le pourcentage de la résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* dans le monde.

Antibiotiques		pourcentage % de résistance dans chaque pays								
Familles	Abréviations	Maroc	Égypte	Cameron	Madagascar	Iran	Arabie Saoudite	Italie	Canada	Venezuela
Béta-lactamines	AMC	100	78,2	/	72,20	57,3	/	/	/	/
	AMP	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	CAZ	/	93/	/	61,10	/	66,9	56,5	99	/
	CZ	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	CTX	6,30	98,60	/	61,10	60,7	/	56,5	100	/
	IPM	0	25,40	0	0	/	38,4	32,9	97	95,5
	ETP	/	/	/	/	/	/	32,9	100	/
	TZP	/	76,80	/	/	/	58,7	/	/	/
	FOX	/	71,80	/	/	/	57,5	/	73	/
Aminosides	AN	5	43	0	0	/	36,3	/	3	22,7
	GEN	21	44,4	76	38,90	23,9	52,2	/	38	54,5
Quinolones	NA	/	/	/	38,90	14,5	/	55,7	/	/
	CIP	14	47,90	49	33,30	35	61,1	55,7	50	81
Phénicolés	C	/	/	/	16,7	/	/	/	/	/
Sulfamides et associations	SXT	46	/	/	77,80	41	67	/	/	72,3
Nitrofuranes	NIT	8	/	/	/	/		/	/	/
Polypeptides	CS	/	/	/	/	/	40,7	/	28	/
Autres	FOS	/	/	/	/	/	/	/	/	/

AMC: Amoxicilline/Acide clavulanique, AMP: Ampicilline, TZP: Pipéracilline/Tazobactam, IPM : Imipénème, ETP: Ertapénème, CZ: Céfazoline, CTX: Céfotaxime, CAZ: Ceftazidime, AN: Amikacine, GEN: Gentamicine, C: Chloramphénicol, CS: Colistine, SXT: Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, NIT: Nitrofurantoïne, NA: Acide nalidixique, CIP: Ciprofloxacine, FOS: Fosfomycine, FOX: céfoxitine.

Partie II. Recherche Expérimentale

1. Matériel et Méthodes

1.1. Lieu et durée de l'étude

Notre étude a été réalisée au sein du laboratoire central, unité microbiologie, au niveau de l'hôpital des Frères Maghlaoui et ainsi qu'au laboratoire d'analyses médicales Mirouh à Ferdjiousa, Mila. Elle comporte d'une part l'isolement et l'identification des souches de *K. pneumoniae* à partir de divers prélèvements pathologiques (urine, pus, échantillons vaginaux et autres) provenant de patients externes et de ceux rattachés aux différents services de l'hôpital, et d'autre part la détermination du profil de résistance aux antibiotiques des souches isolées. Notre étude rétrospective est basée sur les résultats du laboratoire Mirouh à partir de 563 prélèvements positifs de *K. pneumoniae* isolées durant une période de 03 ans s'étendant de Mars 2020 à Mars 2023.

1.2. Présentation du lieu d'étude

L'Etablissement Public Hospitalier (EPH) des Frères Maghlaoui de Mila est créé par arrêté ministériel n° 2822 du 03 Mars 2008. Il est situé à l'est de Mila (**Figure 25**). C'est une institution publique à caractère administratif qui jouit d'une personnalité morale et d'une indépendance financière et qui offre des services de diagnostic, traitement, hospitalisation et réadaptation médicale. Il couvre les besoins et les exigences de la population dans la municipalité de Mila et ses municipalités voisines. Il est composé de 156 lits organisés et 166 lits techniques et contient plusieurs services représentés dans le **Tableau 22**.



Figure 25. Localisation de l'hôpital Frères Maghlaoui, Mila.

Tableau 22. L'organisation de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila.

N° d'ordre	Services	Nombre de lits		Unités	Nombre de lits de l'unité
		Technique	Organisé		
1	Urgences Médico-chirurgicales	24	16	Réanimation et soins intensifs	6
				Accueil, tri et mise en observation	10
				HAD	0
2	Chirurgie générale	64	54	Unité chirurgie générale	32
				Unité d'oncologie	16
				Ophtalmologie	0
				O.R.L	0
				Neuro-chir	0
				Chirurgie-Pédiatrique	0
				Traumatologie	6
3	Réanimation	0	8	Urologie	0
				Post-opératoire	8
4	Gynécologie Obstétrique	40	40	Unité gynécologique	20
				Unité obstétrique	20
5	Pédiatrie	38	38	Unité pédiatrie	32
				Unité Néo-natalogie	7
6	Anatomo-Pathologie	0	0	Unité gynécologie	0
				Unité gastroentérologie	0
7	Epidémiologie	0	0	Unité informations sanitaires	0
				Unité Hygiène Hospitalière	0
				Cancer	0
8	Radiologie Centrale	0	0	Unité radiographie	0
				Unité Scannographie	0
9	Laboratoire central	0	0	Unité microbiologie	0
				Unité Biochimie	0
				Point de transfusion sanguine	0
				Unité hématologie	0
10	Pharmacie	0	0	Gestion des produits	0
				Distribution produits	0
11	Médecine légale	0	0	/	0
12	Médecine de travail	0	0	/	0
13	Stomatologie	0	Un fauteuil dentaire	Prise en charge des urgences de stomatologie	Un fauteuil dentaire

1.2.1. Laboratoire de l'hôpital des Frères Maghlaoui, Mila

Le laboratoire est ouvert toute la semaine et 24h/24h surtout les paillasse des urgences. C'est un service équipé de plusieurs appareils: automate biochimique, spectrophotomètre, ionogramme, centrifugeuse, autoclave pour la stérilisation, bain marie, appareille d'FNS, microscope optique, réfrigérateurs pour la conservation des milieux de culture préparés et les réactifs, etc. Il comprend six paillasse biochimiques, hématologiques, parasitologique, sérologiques et bactériologiques et unité d'urgence, assurant la majorité des examens médicaux. Au niveau du laboratoire de bactériologie, des examens cytotbactériologiques des urines (ECBU) sont effectués, en plus à l'hémoculture, prélèvement vaginal, frottis sanguin et goutte épaisse, ponction de moelle osseuse, etc. dont le but des analyses est souvent d'identifier l'agent responsable de l'infection : bactérie, parasite, champignons microscopiques, etc. Elles visent à prélever un échantillon et à rechercher l'élément pathogène soit par observation directe, soit après mise en culture.

Les analyses faites au laboratoire sont prescrites par 3 médecins : un biochimiste, une parasitologue et une hématologiste. La demande est traitée selon une procédure dans le but que le patient et le médecin reçoivent les résultats.

Quelques exemples des analyses réalisées dans ce laboratoire et les appareils utilisés sont présentés dans le **Tableau 23**.

Tableau 23. Liste des analyses et appareils utilisés au laboratoire des Frères Maghlaoui, Mila.

Analyses	Matériel
-Glycémie.	-Dessiccateur.
-Groupage.	-Automate biochimique.
-FNS.	-Agitateur.
-Créatinine.	-Bain marie.
-Albumine.	-Ionogramme.
-Acide urique.	-Spectrophotomètre.
-CRP.	-Autoclave pour la stérilisation.
-TP.	-Electrophorèse.
-Urée.	-Centrifugeuse.
-ECBOU (antibiogramme).	-Coagulant-métrier.
-chimie des urines.	-Microscope optique.

-Cytologie. -LCR. -Parasitologie des selles.	-Hotte de bactériologie. -Etuve de marque JOUAN et Etuve à CO₂. -appareille d’FNS -Réfrigérateurs pour la conservation des milieux de culture préparés et les réactifs.
--	---

1.2.2. Laboratoire Mirouh d’analyses médicales -Ferdjioua

Le laboratoire d’analyses médicales Mirouh se situe à Ferdjioua dans la wilaya de Mila, cité Boucekine Ahmed (**Figure 26**). Le laboratoire a ouvert ses portes en septembre 2014.

Au service des patients et des équipes médicales et soignantes le laboratoire Mirouh d’analyses médicales assure la plupart des analyses de routine et des analyses spécialisées dans les différentes branches de la biologie médicale à savoir la biochimie, la microbiologie, la parasitologie/mycologie, l’immunologie, hémobiologie/hémostase, hormonologie, spermologie, serologie et biologie moléculaire. Il travail 24h/24h, 7jours/7jours, il reçoit ses prélèvements à partir de tout le territoire de la wilaya et en dehors de la wilaya de Mila, principalement la commune de Ferdjioua et entourage, Oued nedja, Ahmed Rachedi, Zeghaia, Mila, Ain beidaahriche, Bouhatem, Minarzareza, Tassaden haddada, Djimla, Tarai Beinan, Amira arras, Rouched, Djemila, etc.



Figure 26. La localisation du laboratoire d’analyses médicales Mirouh.

1.3. Matériel et produits

Le matériel et les produits utilisés pour l'isolement, l'identification et l'antibiogramme au laboratoire de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila. Sont indiqués dans le **Tableau 24**.

Tableau 24. Matériels et produits utilisés en culture, identification et antibiogramme.

Matériel	Produits
-Ecouillons stériles -Anse de platine -Tubes à essais -Tube à hémolyse -Etuve (Memmert) -Autoclave -Bec bunsen -Flacons en verre avec bouchon rodé -Microscope optique (OPTIKA B-192) -Lames et Lamelles -Bain marie (Memmert) -Embouts stériles -Pipettes Pasteur -Pipette de 10 ml -Micropipette automatique (SOCOREX 1000 µl) -Portoir de tubes -Boîtes de Pétri -Pince en métal -Pisette -Papier buvard - Vortex - Cuves en plastique pour spectrophotomètre	Isolement et identification : -Gélose Hektoen (LIOFILCAM) -Gélose Nutritive -Bouillon Nutritif (BIOKAR) -Eau physiologique -Eau distillée Coloration de Gram : -Violet de gentiane -Lugol -Alcool -acétone -Fuchine ou safranine -Huile à immersion -Eau distillée Galerie biochimique : -Mannitol -Mobilité -Citrate de Simmons -TSI (glucose, lactose, saccharose, H₂S) -Disques ONPG -Indole -Urée-Indole -Eau oxygéné -Réactif de Kovacs Antibiogramme : -Gélose Mueller -Hinton (BIOKAR) -Antibiotiques en disque - Eau physiologique stérile

1.3.1. Types de prélèvement

Durant notre étude 563 prélèvements ont été réceptionnés au laboratoire de médicale de Mirouh de Ferdjioua et ont été répartis comme suit (**Tableau 25**).

Tableau 25. Répartition des types de prélèvement.

Types de prélèvements	Nombre	Pourcentage %
Urine	479	85,07
Pus	62	11,01
Vagin	8	1,42
Autres	14	2,48
Total	563	100

1.3.2. Isolats bactériens

La collecte des souches de *K. pneumoniae* est étendue sur 3 ans (de Mars 2020 à Mars 2023) avec leurs fréquences d'isolements indiqués dans le **Tableau 26**. Des informations concernant chaque prélèvement effectué ont été recueillies de manière rétrospective: la date du prélèvement, le sexe du malade, l'âge, nature du prélèvement dans le **Tableau 29**.

Tableau 26. Fréquence d'isolement de 563 souches de *K. pneumoniae* à Ferdjioua (Mars 2020/Mars 2023).

Années	mois	Nombre de souches	Pourcentage %
2020	Mars	2	0,35
	Avril	2	0,35
	Mai	10	1,77
	Juin	4	0,71
	Juillet	9	1,59
	Aout	6	1,06
	Septembre	16	2,84
	Octobre	15	2,66
	Novembre	7	1,24
	Décembre	24	4,26
2021	Janvier	13	2,30
	Février	12	2,13
	Mars	14	2,48
	Avril	14	2,48
	Mai	14	2,48
	Juin	10	1,77
	Juillet	14	2,48
	Aout	12	2,13
	Septembre	17	3,01
	Octobre	18	3,19
	Novembre	20	3,55
	Décembre	23	4,08
2022	Janvier	24	4,26
	Février	25	4,44
	Mars	17	3,01
	Avril	9	1,59
	Mai	20	3,55
	Juin	25	4,44
	Juillet	22	3,90
	Aout	26	4,61
	Septembre	25	4,44
	Octobre	11	1,95
	Novembre	16	2,84
	Décembre	20	3,55
2023	Janvier	20	3,55
	Février	16	2,84
	Mars	11	1,95
Total		563	100

Les 563 souches de *K. pneumoniae* sont isolées et identifiées au niveau du laboratoire Mirouh d'analyses médicales, de Mars 2020 à Mars 2023.

1.3.3. Liste des antibiotiques à testés

Les antibiotiques utilisés à Ferdjoua de Mars 2020 à Mars 2023 contre *K. pneumoniae* sont montrés dans le **Tableau 27**.

Tableau 27. Les antibiotiques testés contre les souches de *K. pneumoniae* à Ferdjoua de Mars 2020 à Mars 2023.

Familles		Dénomination commune	Abréviations
Béta-lactamines	Pénicillines	Amoxicilline/Acide clavulanique	AMC
		Ampicilline	AMP
		Pipéracilline/Tazobactam	TZP
	Céphalosporines	Céfazoline	CZ
		Céfotaxime	CTX
		Ceftazidime	CAZ
		Céfoxitine	FOX
	Carbapénèmes	Imipénème	IPM
		Ertapénème	ETP
Aminosides		Amikacine	AN
		Gentamicine	GEN
Quinolones	(Q1G)	Acide nalidixique	NA
	(Q2G)	Ciprofloxacine	CIP
Phénicolés		Chloramphénicol	C
Sulfamides et associations		Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	SXT
Nitrofuranes		Nitrofurantoïne	NIT
Polypeptides		Colistine	CS
Autres		Fosfomycine	FOS

Q1G: Quinolones de 1^{ère} génération, Q2G: Quinolones de 2^{ème} génération

1.4. Méthodologie

1.4.1. Isolement et repiquage des souches

Afin de pouvoir identifier une espèce bactérienne de façon convenable, il faut obtenir des colonies bien isolées, et cela en déchargeant en stries condensées l'écouvillon de prélèvement sur toute la surface de la boîte coulée par la gélose Hektoen pour l'isolement des entérobactéries, puis incubés à l'étuve à 37°C pendant 24h (**Figure 27**).

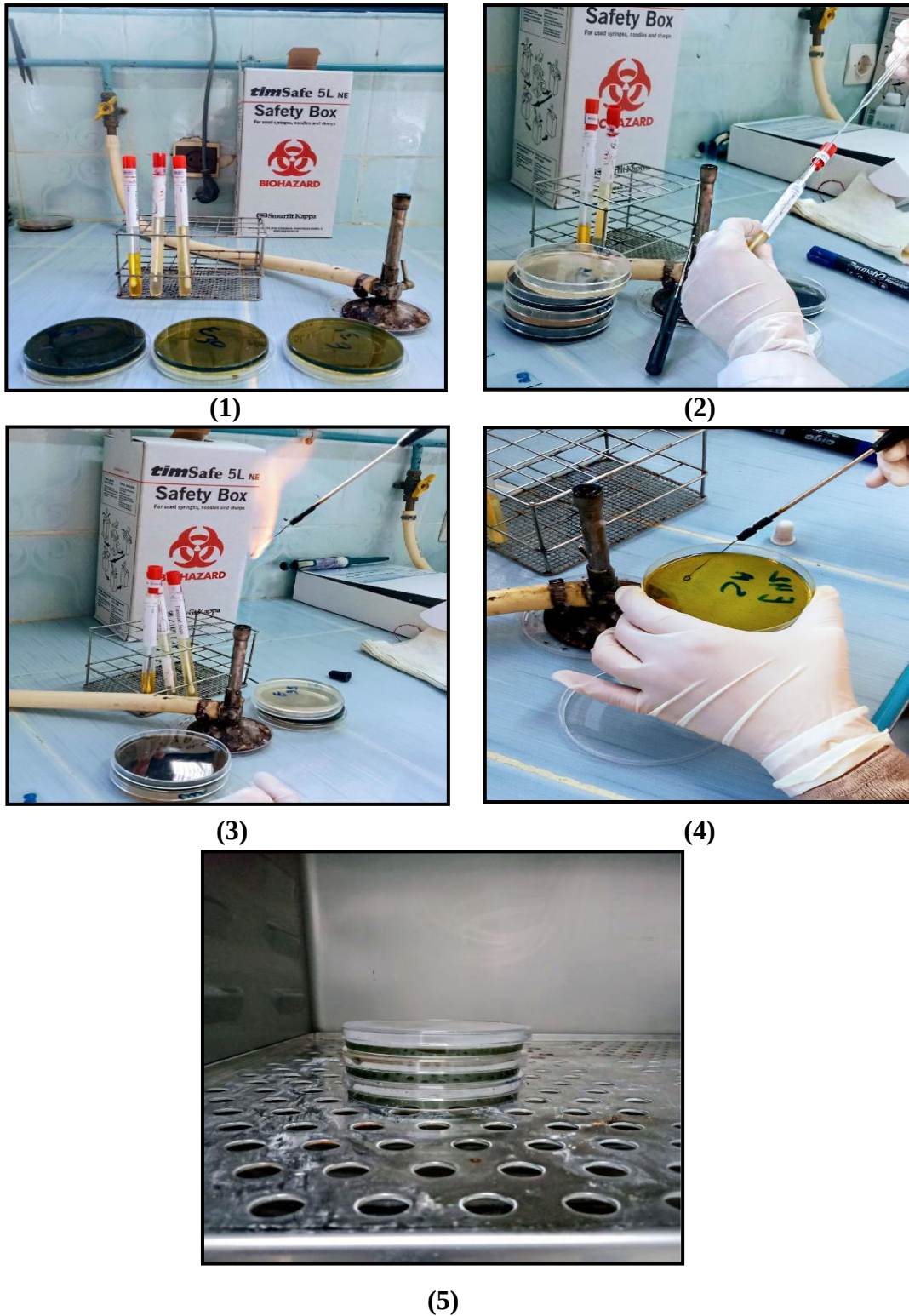


Figure 27. (1). Aperçu de la paillasse avant la manipulation ; (2). Prélèvement de l'échantillon ; (3). Stérilisation avant ensemencement ; (4). Méthode d'ensemencement de *K. pneumoniae* par stries sur le milieu Hektoen ; (5). Incubation de *K. pneumoniae* à l'étuve à 37°C/24h. (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila).

1.4.2. Techniques utilisées pour l'identification des bactéries

L'identification des souches a porté sur une série de tests préliminaires (examen macroscopique et examen microscopique), tests biochimiques et un antibiogramme.

1.4.2.1. Tests préliminaires

1.4.2.1.1. Examen macroscopique

L'aspect des colonies sur le milieu solide permet une orientation sur les colonies, leur couleur, taille, forme et fermentation du lactose.

K. pneumoniae sur les milieux classiques d'isolement pour entérobactérie (Drigalski, Hektoen, Mac Conkey, EMB) donne des colonies d'un diamètre de 3 à 4 mm, ronde, lisses, lactose positives, bombées, brillantes, muqueuses, ayant un aspect de goutte de miel, avec une tendance à la confluence (**Figure 28**) (Avril et al., 2000).



Figure 28. Colonie de *K. pneumoniae* sur le milieu Hektoen (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila).

1.4.2.1.2. Examen microscopique

• Examen à l'état frais

L'examen à l'état frais est une méthode rapide qui consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif x40. Les bactéries sont vivantes, on peut alors déterminer des caractères tels que la morphologie générale, la mobilité et le groupement (bacille ou coque) ainsi que le type de colonies (**Solbi, 2013 ; Denis et al., 2016**). *K. pneumoniae* donne des bacilles immobiles courts.

Cette méthode se déroule comme suis:

Sur une lame porte objet stérile, déposer une goutte d'eau physiologique et un fragment de colonie isolée. Homogénéiser et recouvrir d'une lamelle en évitant d'emprisonner les bulles d'air, lire au microscope optique à l'objectif x 40.

- **Coloration de Gram**

La technique de coloration de Gram, vieille de 133 ans, est une technique microbiologique bien connue et couramment utilisée pour la détection, la classification, et l'identification des microorganismes, en particulier des bactéries. La coloration de Gram, permet d'étudier les affinités tinctoriales des germes, renseignant aussi sur la prédominance des espèces présentes. Il peut s'agir d'une espèce pure ou au contraire d'une flore complexe. Le résultat est déclaré les bactéries gram-positives (colorées en violet) et gram-négatives (colorées en rose) selon la structure de leur paroi cellulaire (les différences d'épaisseur de la couche de peptidoglycane) et leur perméabilité. Bactéries à Gram positif ou à Gram négatif et Révèle la morphologie (cocci, bâtonnets ou bactéries en forme de spirale) (**Boyanova 2018**).

La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes:

- On réalise un frottis sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne.
- La fixation du frottis, on passe directement 3 fois la lame dans la flamme du bec Bunsen.
- La coloration au violet de Gentiane, la lame est plongée pendant 2 à 3 minutes (en fonction de la concentration) dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau déminéralisée.
- Mordançage au lugol, étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; Rincer à l'eau déminéralisée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.
- Décoloration à l'alcool, verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Rincer sous un filet d'eau déminéralisée. L'alcool pénètre dans la bactérie. La coloration au violet de Gentiane disparaît. Les bactéries décolorées sont des bactéries Gram⁻. Si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram⁺.
- Contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine, laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée.
- Les bactéries Gram- sont colorées en rose.

1.4.2.2. Tests biochimiques

La réalisation de la galerie classique consiste à effectuer des tests biochimiques permettant l'identification des bactéries en étudiant leur métabolisme enzymatique (Tableau 28).

Tableau 28. Identification biochimique à l'aide de la galerie classique.

Test	Technique	Lecture
Test de l'oxydase (Liaid, 2014)	Etaler sur le disque d'oxydase une partie de la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile.	Une réaction positive se traduit par une coloration violette en quelques seconds, qui met en évidence la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur formoxydée semi-quinonique rose violacé.
Test de la catalase (Reiner, 2010; Meziani, 2012)	Une colonie est prélevée à partir de la boîte de Pétri et déposée sur une lame. Une goutte de H ₂ O ₂ est déversée sur cette colonie.	Les réactions positives se manifestent par une effervescence immédiate (formation des bulles).
Test VP et RM (Meziani, 2012)	Ensemencer le milieu Clarck et Lubs avec la souche bactérienne. Après avoir incubé à 37°C pendant 18h. diviser le milieu en deux tubes, pour le test RM additionner 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle. Et pour le de VP ajouter quelques gouttes du réactif VP1 et le même volume du réactif VP2.	La lecture de ce milieu permet l'étude de la voie de fermentation du glucose. Le test RM consiste à mettre en évidence la voie de fermentations des acides mixtes qui consiste à apprécier le pH du milieu après 24h de culture; Le test VP consiste à mettre en évidence l'acétoïne produit par fermentation butanediolique, par une réaction colorée en rose après 15 min.
Test urée-indole (Meziani, 2012)	On ensemence le milieu «urée-indole» directement à partir des colonies de <i>K. pneumoniae</i> à l'aide d'une anse de platine. Après l'incubation à 37°C pendant 24h. Le milieu est divisé en deux tubes. On peut rechercher la production d'indole par des réactifs de Kovacs, et le TDA est révélé par l'ajoute de perchlorure de fer.	L'Uréase est mis en évidence par changement de coloration du milieu vers le rose, et la production de l'indole se traduit par un anneau rouge en surface après l'ajoute de Kovacs, alors que la tryptophane-désaminase détecté par l'apparition d'une couleur brune après l'ajoute de perchlorure de fer.

Test TSI (Meziani, 2012)	Elle consiste à ensemencer en stries serrées la pente de la gélose puis par piqûre centrale le culot, la lecture se fait après 18 h d'incubation à 37°C.	La production de gaz se traduit par la formation de bulles de gaz dans la masse du culot. La fermentation du glucose et /ou du saccharose se traduit par le virage au jaune de la masse du culot. La production de H ₂ S se traduit par noircissement du milieu
Milieu de citrate de Simmons (Solbi, 2013)	L'ensemencement se fait au moyen d'une anse de platine par des stries transversal de la pente, la lecture se fait après 24h d'incubation à 37°C.	L'utilisation du citrate de Simmons se traduit par un virage de couleur du vert au bleu qui signifie qu'il y a eu une alcalinisation du milieu et que la bactérie possède un citrate perméase
Milieu mannitol mobilité-nitrate réductase (Solbi, 2013)	L'ensemencement du milieu se fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une pipette Pasteur. L'incubation se fait à 37°C durant 18h. le type respiratoire est défini en ajoutant, à la surface du milieu, les réactifs de Nit1 et Nit2, il est possible de mettre en évidence le nitrite, si la bactérie possède une nitrate-réductase.	La fermentation du mannitol a été matérialisée par un virage du milieu de rouge au jaune. L'ajoute des réactifs Nit1et Nit2 conduit à l'apparition d'une teinte rouge-orangé en présence d'ions nitrites, ce qui indique que la bactérie est capable de réduire les nitrates en nitrites. La bactérie immobile ne se développe que le long de la pique centrale.

1.4.3. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme est l'examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre chacune des molécules antibactériennes utilisables et une souche bactérienne susceptible d'être pathogène, isolée d'un patient. Le résultat contribue à évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance, ce qui signifie que la molécule sera probablement active au sens thérapeutique ou le traitement sera un échec. Le résultat numérique brut est accompagné d'une interprétation ou remplacé par elle: résistante, sensible, intermédiaire, ou (indéterminée) (Scavizzi et al., 2000).

1.4.3.1. Méthode de la diffusion sur gélose Muller-Hinton

L'étude de la sensibilité de *K. pneumoniae* aux différentes familles d'antibiotiques a été réalisée par la méthode de l'antibiogramme par diffusion des disques d'antibiotiques sur la gélose Mueller-Hinton. Cette méthode est utilisée à l'hôpital Les Frères Maghlaoui (Annexe).

Préparation du milieu Muller-Hinton

- Le milieu préparé précédemment doit être coulé en des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm.
- La surface de la gélose doit être séchée avant l'emploi environ 15 min.

➤ **Préparation de l'inoculum**

- A partir d'une culture pure de 18 à 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une DO de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

➤ **Ensemencement**

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 45° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (**Figure 29**).
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque, fois.

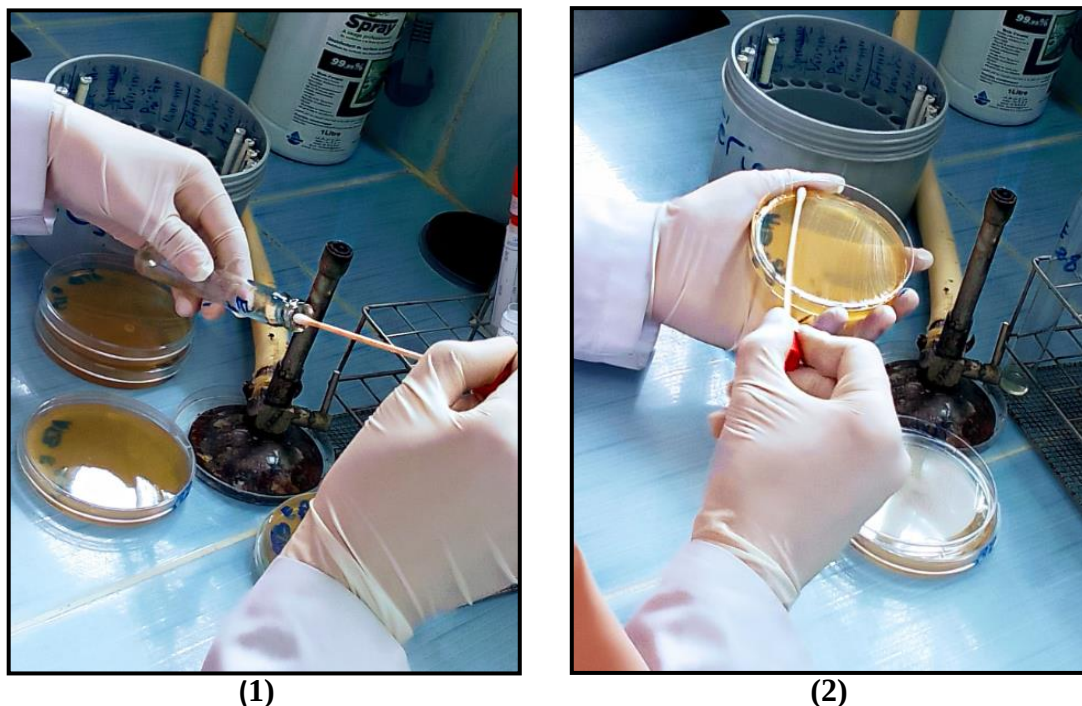


Figure 29. (1 et 2). Méthode d'ensemencement de *K. pneumoniae* par stries sur Mueller-Hinton. (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila).

• Les disques d'antibiotiques

Ils doivent être conservés à 2 - 8 °C avec un déshydratant. Le diamètre des disques est de 6,35mm (**Larcher 2016**).

➤ Application des disques d'antibiotiques

Déposer les disques fermement à la surface de la gélose inoculée et sécher. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques (**Figure 30**).



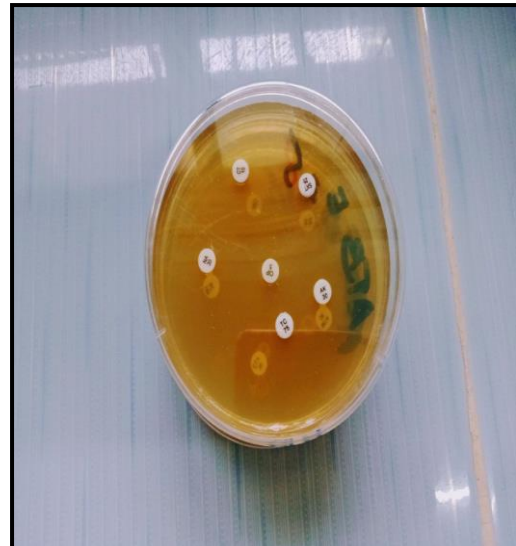
(1)



(2)



(3)



(4)

Figure 30. (1). Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme de *K. pneumoniae*. (2, 3 et 4). Application des disques d'antibiotiques (Photos réalisées dans le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital les Frères Maghlaoui, Mila).

➤ **Incubation**

- Retourner les boîtes et incuber idéalement dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min.
- Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie. Pour *K. pneumoniae* les boîtes sont mises à l'étuve à 37°C pendant 16 à 24h.

➤ **Lecture**

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de pétri fermée.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètre des zones d'inhibition seront prises, boîte de pétri ouverte et bien éclairée.
- Comparer les résultats obtenus et classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

1.4.3.2. Méthode automatisées

Les résultats d'antibiogramme collectés au niveau de laboratoire Mirouh à Ferdjioua se repose sur le système VITEK®2 COMPACT (**Figure 31**), destiné à l'identification des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes pour les bactéries significatives au plan clinique. Le système comprend l'instrument VITEK®2 COMPACT, un ordinateur et une imprimante. Le logiciel fourni pour le système VITEK®2 COMPACT inclut des programmes d'analyse, de gestion des données et un système de qualité afin de valider le kit test du VITEK®2 COMPACT.



Figure 31. Vue photographique d'un Automate VITEK ®2 Compact.
(Photo réalisée dans le laboratoire d'analyse médical Mirouh à Ferdjioua).

➤ **Préparation de la suspension bactérienne**

La préparation de l'inoculum est toujours manuelle:

- Deux tubes secs seront utilisés dont l'un servira à l'identification et l'autre à l'antibiogramme.
- Sur une feuille vierge, porter la date et le numéro de l'échantillon ainsi que le nom approximatif du germe à identifier.
- Pour la souche *K. pneumoniae* donne une colonie bleu dans le milieu chromagar (**Figure 32**), à partir de ce dernier (culture jeune 24 h) à l'aide d'une anse, prélever quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline (semi-physiologie).

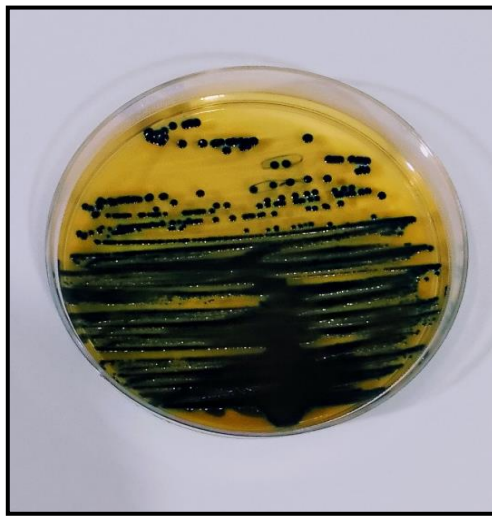


Figure 32. La colonie de *K. pneumoniae* sur le milieu chromagar. (Photo réalisée dans le laboratoire d'analyse médical Mirouh à Ferdjioua).

- Homogénéiser la suspension et bien vortexer.
- A l'aide du densichék, mesurer la concentration bactérienne entre 0,5 et 0,63 McFarland.
- Poser le tube contenant la suspension bactérienne en première position et faire suivre celui prévu pour l'antibiogramme.
- Préparer la solution pour antibiogramme:
- Pour les bactéries à Gram négatif, utiliser la micropipette calibrée à 145µl (rouge).
- A partir de la suspension bactérienne, nous avons pipeté et dilué dans 3ml d'eau saline contenu dans le tube voisin (la concentration doit être entre 0.08 et 0.1). On aurait ainsi préparé la suspension pour l'antibiogramme (**Figure 33**).
- Placer la carte d'identification GN et la carte pour l'antibiogramme AST- N sur la cassette.



(1)



(2)



(3)



(4)



(5)

Figure 33. (1). Aperçu de la paillasse avant la manipulation ; (2). Mesure de la concentration bactérienne ; (3) et (4). Préparer la solution pour antibiogramme ; (5). La cassette préparée. (Photo réalisée dans le laboratoire d'analyse médical Mirouh à Ferdjioua).

- Au niveau de l'ordinateur de l'automate, à l'apparition de la page principale.
 - ✓ Cliquer sur Vitek 2.
 - ✓ Cliquer sur gérer la cassette virtuelle.
 - ✓ Créer une cassette virtuelle.
 - ✓ Identification de la cassette.
 - ✓ Lecture du code à barre de chaque carte à partir de la douchette.
 - ✓ Saisir les données de l'isolant.
 - ✓ Entrer les informations de l'isolat (numéro attribué au laboratoire, nom du germe si déjà identifié par d'autres techniques).
- Puis enregistrer les données de la cassette virtuelle.
- Au niveau de l'automate Vitek 2 Compact.
- Ouvrir le capot de remplissage et insérer la cassette à l'intérieur de la chambre.
- Fermer le capot de remplissage.
- Appuyer sur la touche Lancer remplissage, un bip indique que le cycle de remplissage est terminé.
- Retirer la cassette du capot de remplissage et l'introduire dans la chambre de lecture où s'effectue le scellage. Le processus de chargement/déchargement permet la lecture du code à barre des cartes et le code à barre de la cassette.
- Lorsque le message retirés s'affiche dans la chambre de lecture, cela indique que le Vitek 2 a terminé le traitement des cartes contenues sur la cassette. On peut la retirer en ouvrant le capot chargement puis le refermer.
- La lecture des résultats se fait par un logiciel associé à la machine Vitek 2 compact.
- On attend le jour suivant puis Les résultats sortent sous la forme d'un tableau imprimé par l'ordinateur de Vitek.

2. Résultats et Discussion

Le **Tableau 29** résume les données brutes de l'antibiorésistance de 563 souches de *K. pneumoniae* isolées au laboratoire d'analyses médicales Mirouh, Ferdjioa - Mila selon le sexe, l'âge et la nature du prélèvement de Mars 2020 à Mars 2023.

Tableau 29. Résultats de l'antibiogramme de 563 souches de *K. pneumoniae* isolées à Ferdjioa – Mila selon le sexe, l'âge et la nature du prélèvement (de Mars 2020 à Mars 2023).

N°	Date	Sexe	Age	NP	Antibiogramme		
					S	I	R
1	11/03/2020	H	46	PU	AN/CAZ/CZ/CS/CTX/CN	/	NA/AMC/AMP/C/GEN/CIP/CXT
2	30/03/2020	F	51	PP	AN/C/CAZ/CZ/CS/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/PIP/ETP/TZP	AMC	AMP/NIT
3	20/04/2020	F	25	PU	AN/CAZ/CZ/CS/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/PIP/ETP/TZP	AMC/C	AMP/NIT
4	21/04/2020	H	73	PU	AN/C/CAZ/CS/CTX/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP/CZ
5	02/05/2020	H	ND	PU	AN/CS/IPM/ETP	C	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/ CIP/FOS/GEN/SXT/NIT/TZP
6	03/05/2020	F	75	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CS/CTX/ CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	/	AMP/NIT
7	04/05/2020	H	1	PU	CS/IPM/ETP	AMC/CIP/ GEN/TZP	AN/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ FOS/SXT/NIT
8	10/05/2020	F	21	PV	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CS/CTX/ CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	/	AMP/NIT
9	11/05/2020	H	85	PP	AN/C/CS/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP	TZP	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/FOS/NIT
10	21/05/2020	H	32	PP	AN/C/CAZ/CZ/CS/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP
11	22/05/2020	F	25	PU	AN/CS/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	C/NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX
12	27/05/2020	H	30	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/NIT
13	28/05/2020	H	24	PU	CS/C/CIP/GEN/IPM/ SXT/ETP/TZP	AN/NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/FOS
14	31/05/2020	H	52	PU	AN/C/CAZ/CZ/CS/CTX/ CIP/GEN/IPM/SXT/ETP	NIT/TZP	AMC/AMP/FOS
15	05/06/2020	F	33	PP	AN/AMC/CAZ/CZ/CS/CTX/ CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/C
16	07/06/2020	H	4M	PU	CS/FOS/IPM/ETP	/	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/SXT/NIT/TZP
17	18/06/2020	H	ND	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC	AMP/NIT
18	24/06/2020	F	70	PU	AN/FOS/IMP/ETP	NIT/TZP	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/GEN/CIP/SXT
19	03/07/2020	F	28	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/IPM/ETP/TZP	NIT	AMP/FOS/SXT
20	05/07/2020	F	71	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP	AMC/NIT	AMP/TZP

21	06/07/2020	F	94	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ NIT/ETP/TZP	AMC/CAZ	AMP/CZ/CTX/SXT
22	08/07/2020	F	ND	PU	AN/C/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CZ
23	15/07/2020	H	23	PU	AN/C/CAZ/CTX/CIP/IPM/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP/CZ/FOS/SXT
24	26/07/2020	H	ND	PU	CIP/FOS/IPM/ETP	AN/C/NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/GEN/SXT/TZP
25	26/07/2020	F	67	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP	NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/SXT
26	28/07/2020	F	ND	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/ CS/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/TZP	NIT/ETP	AMP
27	28/07/2020	H	15M	PU	AN/GEN/FOS/IPM/ETP	CIP	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/SXT/NIT/TZP
28	04/08/2020	F	42	PP	AN/C/FOS/IPM/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CTZ/CZ/ CTX/GEN/SXT
29	08/08/2020	F	76	PU	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP	C/NIT/ TZP	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/SXT
30	10/08/2020	H	74	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	/	AMP/AMC
31	13/08/2020	H	23	PU	AN/GEN/IPM/ETP/TZP	/	AMP/AMC/CZ/CAZ/ CTX/CIP/FOS/NIT/SXT
32	16/08/2020	H	79	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC	AMP
33	25/08/2020	F	85	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/ETP	TZP	AMC/AMP/C/TAZ/CZ/SXT/NIT
34	01/09/2020	H	82	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/SXT
35	01/09/2020	F	35	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/CS/ CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP
36	02/09/2020	H	53	PU	AN/FOS/SNT	CIP/ NIT/ETP	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/GEN/IPM/TZP
37	02/09/2020	H	30	PP	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/NITETP/TZP	AMC	AMP/FOS/SXT
38	03/09/2020	H	35	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP
39	03/09/2020	F	ND	PU	AN/AMC/CAZ/CZ/CTX/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	/	AMP/C/CIP/FOS/NIT
40	06/09/2020	H	18M	PU	AN/FOS/GEN/IPM/ETP	CIP	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/SXT/NIT/TZP
41	07/09/2020	H	23	PU	AN/GEN/IPM/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CZ/CAZ/ CTX/C/NIT/SXT
42	13/09/2020	F	8	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/SXT/NIT	IPM	AMC/AMP/CAZ/CZ/ETP/TZP
43	14/09/2020	H	ND	PU	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/EIP/TZP	NIT	AMP/AMC/CZ/CAZ/CTX/SXT
44	19/09/2020	F	ND	PU	AN/C/CZ/CAZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP/AMC/CZ/CAZ/CTX/SXT
45	20/09/2020	F	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/NIT/ETP/TZP	TZP	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/SXT
46	20/09/2020	F	65	PU	AN/C/CIP/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	/	AMP/AMC/CZ/CAZ/CTX/OS
47	21/09/2020	H	53	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP

48	28/09/2020	H	23	PU	AN/GEN/IPM/ETP/TZP	/	AMC/AMP/C/CZ/CAZ/CTX/ CIP/FOS/STX/NIT
49	30/09/2020	H	86	PU	GEN/AN	/	AMC/AMP/C/CAZ/CTX/CZ/ FOS/CIP/SXYT/NIT/ETP/TZP
50	01/10/2020	F	30	PU	AN/C/CIP/IPM/NIT/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/ FOS/GEN/SXT
51	05/10/2020	F	30	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/IPM/GEN/SXT/ETP/TZP	NIT/AMC	AMP
52	06/10/2020	F	66	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	C	AMC/AMP/CZ/FOS
53	10/10/2020	H	27	PU	TZP/ETP/SXT/IPM/GEN/ CIP/CTX/CAZ/C/AN	NIT	AMC/AMP/CZ/FOS
54	10/10/2020	H	72	PU	AN/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	C	AMC/AMP/CZ/NIT
55	12/10/2020	H	ND	PU	AN/C/CS/CIP/FOS/ GEN/IPM/ETP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/SXT/NIT
56	13/10/2020	F	ND	PU	AN/C/CAZ/CZ/CS/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC	AMP
57	13/10/2020	H	32	PU	AN/C/CS/CIP/IPM/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/FOS/GEN/SXT
58	14/10/2020	F	ND	PU	AN/IPM/ETP	/	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/FOS/GEN/SXT/TZP
59	15/10/2020	H	38	PU	AN/C/CAZ/CIX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC/CZ/FOS
60	19/10/2020	F	ND	PU	AN/C/CZ/CAZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/ETP/TZP	NIT/AMC	AMP/SXT
61	20/10/2020	H	76	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC	AMP/NIT
62	25/10/2020	H	85	PU	ETP/SXT/IPM/GEN/CIP/AN	TZP	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ FOS/NIT
63	27/10/2020	F	46	PU	C/CS/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/NIT/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX
64	27/10/2020	F	79	PU	AN/C/CS/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/FOS/IPM/SXT/ETP	NIT	AMC/AMP
65	02/11/2020	F	ND	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/ETP/TZP	AMC	AMC/C/SXT/NIT
66	03/11/2020	F	17	PP	AN/C/CAZ/CZ/CIP/CTX/ FOS/GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	AMC	AMP
67	03/11/2020	F	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/SXT/TZP
68	15/11/2020	H	39	PU	AN/FOS/IPM/TZP/ETP	/	AMC/AMP/C/CZ/CAZ/CTX/ CIP/GEN/SXT/NIT
69	20/11/2020	F	70	PU	AN/FOS/IPM/ETP	/	AMC/AMP/C/CZ/CAZ/CTX/ CIP/GEN/SXT/NIT/TZP
70	25/11/2020	F	8	PU	AN/C/CIP/GEN/SXT	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/ FOS/IPM/ETP/TZP
71	28/11/2020	F	50	PU	C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP
72	04/12/2020	F	34	PU	AN/FOS/IPM/ETP	TZP/C	AMC/AMP/CZ/CAZ/ CTX/CIP/GEN/SXT
73	04/12/2020	H	3M	PU	AN/CAZ/CIP/GEN/IPM/ETP/TZP	/	AMC/AMP/C/CZ/FOS/SXT/NIT

74	07/12/2020	H	43	PP	AN/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	C	AMC/AMP/CZ/NIT
75	10/12/2020	H	ND	PP	AN/C/CIP/CAZ/CTX/FOS/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CZ
76	10/12/2020	F	ND	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP
77	10/12/2020	F	ND	PU	C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP/SXT
78	10/12/2020	F	25	PU	AN/C/CIP/GEN/FOS/ IPM/ETP/TZP/NIT	/	AMC/AMP/CAZ/ CZ/CTX/SXT
79	10/12/2020	H	66	PU	AN/AMC/C/CZ/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/NIT/TZP/ETP	/	AMP
80	13/12/2020	F	59	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CS/CIP/ FOS/GEN/IPM/ETP/TZP	AMC/ NIT/SXT	AMP
81	14/12/2020	F	19	PU	C/CIP/FOS/GEN	AMC	AMP/AMC/CZ/CTX/CAZ/ IPM/SXT/NIT/ETP/TZP/
82	19/12/2020	F	23	PU	AN/C/CS/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/AMC	NIT	AMP/FOS
83	20/12/2020	F	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/IPM/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/GEN/SXT
84	20/12/2020	H	95	PP	AN/IPM/NITETP/TZP	CIP	AMC/AMP/C/CZ/CAZ/ CTX/GEN/SXT
85	20/12/2020	H	79	PU	AN/CZ/CAZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	C/NIT/ TZP	AMP/AMC
86	20/12/2020	F	46	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC	AMP/NIT/FOS
87	22/12/2020	F	24	PU	CIP/GEN/IPM/ETP	AN/TZP	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/FOS/SXT/NIT
88	22/12/2020	H	54	PU	AN/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	C/NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX
89	25/12/2020	F	60	PP	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP	NIT/TZP	AMC/AMP/CZ/ CAZ/CTX/SXT
90	26/12/2020	F	46	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/ETP/SXT	NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/TZP
91	27/12/2020	F	59	PU	AN/C/FOS/IPM/ETP/TZP	NIT/CIP	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/GEN/SXT
92	28/12/2020	F	39	PU	AN/C/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/NIT/ETP/TZP	AMC	AMP/CAZ/SXT
93	30/12/2020	F	29	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ ETP/SXT/TZP/CAZ/CZ/CTX	AMC/NIT	AMP
94	30/12/2020	H	73	PU	AN/CIP/GEN/IPM/ SXT/ETP/TZP	NIT/C	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/FOS
95	30/12/2020	F	27	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ ETP/CAZ/CZ/CTX/TZP/SXT	AMC/NIT	AMP
96	02/01/2021	H	58	PU	AN/C/FOS/IPM/ETP/TZP	/	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/SXT/NIT
97	02/01/2021	H	78	PU	AN/C/FOS/IPM/ETP/ TZP/NIT/CIP/SXT/GEN	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX
98	06/01/2021	F	37	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX
99	12/01/2021	F	75	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/FOS

100	15/01/2021	F	24	PU	AN/C/CIP/FOS/ GEN/IPM/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/SXT
101	17/01/2021	F	85	PP	AMC/CAZ/CZ/CTX/SXT/ AN/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP	NIT/C	AMP
102	25/01/2021	F	55	PU	AN/C/CIP/IPM/ETP/TZP/ CAZ/CZ/CTX/GEN/SXT	/	AMC/AMP/FOS
103	25/01/2021	H	94	PP	AN/C/CAZ/CTX/CIP/ SXT/NIT/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CZ/FOS
104	26/01/2021	F	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/CAZ/CZ/ CTX/CIP/IPM/ETP/TZP/SXT	/	AMC/AMP/NIT
105	26/01/2021	H	56	PU	AN/FOS/IPM/ETP	/	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/SXT/NIT/TZP
106	28/01/2021	F	26	PV	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP
107	29/01/2021	H	59	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP
108	31/01/2021	F	22	PU	CS/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP	TZP	AN/AMC/AMP/C/CAZ/ CZ/CTX/SXT/NIT
109	02/02/2021	F	73	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP	C/TZP	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/FOS/NIT
110	04/02/2021	F	60	PV	AN/C/CS/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/NIT/ETP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX
111	09/02/2021	F	ND	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	AMC/NIT	AMP
112	11/02/2021	H	ND	PU	AMC/NIT/CAZ/CZ/CTX/AN/ C/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	/	AMP
113	13/02/2021	F	5	PU	AN/C/CS/CIP/GEN/IPM/ETP	TZP	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/ FOS/SXT/NIT/FOX
114	16/02/2021	F	25	PU	AN/CAZ/CIP/CTX/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	C/NIT	AMP/AMC/CZ/FOX
115	17/02/2021	F	37	PU	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/NIT/C/TZP
116	17/02/2021	H	70	PU	C/CIP/IPM/ETP	TZP	AMC/AMP/AN/CAZ/CZ/ CTX/FOS/GEN/SXT/NIT
117	23/02/2021	H	ND	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/ETP	TZP	AMC/AMP/C/SXT/NIT
118	24/02/2021	H	ND	PU	C/CIP/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	AN	AMP/AMC/CAZ/CZ/ CTX/FOS/GEN
119	24/02/2021	F	60	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC	AMP/FOS/NIT
120	27/02/2021	H	ND	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC	AMP/NIT
121	02/03/2021	H	1	PU	C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP	AN	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/SXT/NIT/TZP
122	07/03/2021	F	ND	PU	AN/CAZ/CZ/CIP/CTX/FOS/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	AMC/C	AMP
123	10/03/2021	F	23	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CIP/CTX/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP
124	11/03/2021	H	ND	PU	AN/C/CAZ/CZ/CIP/CTX/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC
125	15/03/2021	H	27	PU	AN/C/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP	TZP	AMC/AMP/CZ/NIT

126	15/03/2021	F	ND	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP
127	16/03/2021	H	72	PP	NIT/GEN/FOS/CIP/CS/C/AN	ETP/IPM	AMP/AMC/CAZ/CZ/ CTX/SXT/TZP
128	17/03/2021	F	26	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	/	AMP/FOS
129	18/03/2021	F	41	PU	AN/FOS/IPM/ETP	NIT	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT/TZP
130	20/03/2021	F	33	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/GEN/ IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	C	AMP/AMC/FOS
131	22/03/2021	H	29	PU	AN/AMC/C/CZ/CAZ/CTX/ CIP/FOS/GEN/IPM/NIT/ETP/TZP	/	AMP/SXT
132	23/03/2021	F	18	PP	AN/C/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC	AMP/CZ/NIT
133	24/03/2021	F	41	PU	AN/C/CAZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CZ/FOS
134	31/03/2021	F	85	PU	AN/CZ/CAZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/C	AMP/FOS/NIT
135	01/04/2021	F	ND	PU	AN/C/CZ/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/NIT	TZP	AMP/AMC
136	04/04/2021	F	40	PU	AN/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP	CZ	AMP/AMC/C/NIT/TZP
137	04/04/2021	F	82	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/SXT/NIT	/	AMP/AMC/CAZ/CZ/ CTX/IPM/TZP
138	08/04/2021	H	79	PU	AN/C/CAZ/CTX/IPM/ NIT/ETP/TZP	AMC/CIP	AMP/CZ/FOS/SXT/GEN
139	11/04/2021	H	ND	PU	AN/CAZ/CTX/FOS/ GEN/IPM/ETP	AMC/CZ	AMP/C/CIP/SXT/NIT/TZP
140	11/04/2021	F	34	PU	AN/C/FOS/IPM/ETP	TZP	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/SXT/NIT
141	14/04/2021	H	83	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/FOX/NIT	AMC	AMP
142	17/04/2021	F	23	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX
143	18/04/2021	F	26	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	NIT/TZP	AMC/AMP
144	20/04/2021	F	32	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP
145	21/04/2021	H	ND	PU	CIP/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	AN/C	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/FOS/GEN
146	21/04/2021	F	23	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX
147	24/04/2021	H	ND	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	AMC	AMP
148	24/04/2021	F	41	PU	AN/FOS/IPM/ETP	NIT	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT/TZP
149	02/05/2021	F	23	AP	AN/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	C	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/NIT
150	02/05/2021	F	64	PU	AN/CAZ/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	C	AMP/AMC/CZ
151	03/05/2021	H	73	PU	AN/AMC/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	C	AMP/NIT

152	06/05/2021	H	ND	PP	AN/CIP/IPM/SXT/ETP	C/ NIT/TZP	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/FOS/GEN
153	10/05/2021	F	ND	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC	AMP/NIT
154	11/05/2021	F	23	PU	AN/C/CAZ/CZ/CS/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP
155	17/05/2021	H	15J	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	/	AMP
156	17/05/2021	H	71	PU	AN/C/AMC/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	/	AMP
157	19/05/2021	F	41	PU	FOS/IPM/ETP	AN/NIT	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT/TZP
158	25/05/2021	F	24	PU	AN/CAZ/CTX/CIP/GEN/ IPM/SXT/ETP	C/NIT	AMP/AMC/CZ/FOS/TZP
159	27/05/2021	F	64	PU	AN/C/CAZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CZ/FOS
160	29/05/2021	H	ND	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP	AMC/C/ NIT/TZP	AMP
161	29/05/2021	H	72	PU	AN/FOS/IPM/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT
162	29/05/2021	F	43	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	/	AMP/AMC/CAZ/ CZ/CTX/NIT
163	03/06/2021	F	49	PP	AN/IPM/NIT/ETP/TZP	CIP	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/ CTX/FOS/GEN/SXT
164	08/06/2021	F	23	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP	NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/ CTX/SXT/TZP
165	09/06/2021	F	50	PU	AN/CIP/FOS/GEN/ IPM/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/C/CAZ/ CZ/CTX/SXT
166	09/06/2021	F	25	PU	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP	NIT	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/ CTX/SXT/TZP
167	11/06/2021	H	93	PU	AN/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP	C/NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/SXT/CIP
168	14/06/2021	H	17	PU	AN/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	C	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/NIT
169	21/06/2021	H	7	PP	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT/AMC	AMP
170	23/06/2021	F	65	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	AMC	AMP
171	26/06/2021	H	56	AP	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	/	AMP/FOS
172	29/06/2021	H	19	PP	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/ C/NIT	AMP
173	01/07/2021	F	ND	PP	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/NIT	AMP
174	05/07/2021	F	66	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/ETP	/	AMC/AMP/C/SXT/NIT/TZP
175	05/07/2021	H	63	PU	AN/CIP/FOS/GEN/ IPM/ETP/TZP	C/NIT	AMC/AMP/CZ/ CAZ/SXT/CTX
176	08/07/2021	F	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/ETP/TZP/NIT	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX
177	14/07/2021	F	39	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	AMC	AMP/FOS

178	15/07/2021	F	41	PU	FOS/IPM/ETP	AN	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/SXT/NIT/TZP
179	17/07/2021	H	10J	PU	AN/CIP/FOS/GEN/ IPM/ETP/TZP	/	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/SXT/NIT
180	18/07/2021	F	31	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/TZP
181	19/07/2021	F	68	PP	AN/C/FOS/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/ CIP/CTX/GEN
182	25/07/2021	H	ND	PU	AN/FOS/GEN/IPM/ETP	TZP	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/CIP/SXT
183	25/07/2021	H	92	PU	AN/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP	C/CIP/ NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/SXT
184	26/07/2021	F	66	PU	AN/FOS/IPM/ETP/SXT	GEN/TZP	AMC/AMP/C/CIP/NIT/ CAZ/CZ/CTX
185	27/07/2021	F	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/TZP	/	AMC/AMP/SXT/ CAZ/CZ/CTX/NIT
186	27/07/2021	H	ND	PP	AN/CIP/FOS/GEN/ IPM/ETP/TZP	C/NIT	AMC/AMP/SXT/CAZ/CZ/CTX
187	01/08/2021	F	42	PP	AN/C/FOS/IPM/ETP/TZP	CIP/NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/GEN/SXT
188	05/08/2021	F	24	PU	AN/CIP/FOS/GEN/ IPM/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/SXT
189	05/08/2021	H	67	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/SXT/CTX
190	06/08/2021	H	84	PU	CIP/IPM/ETP/TZP/SXT	/	AN/AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/FOS/GEN/NIT
191	06/08/2021	F	41	PU	AN/FOS/IPM/ETP	/	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT/TZP
192	09/08/2021	F	34	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	AMC/ C/NIT	AMP
193	10/08/2021	F	74	PU	AN/CIP/GEN/IPM/ SXT/ETP/TZP/NIT	C	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/FOS
194	10/08/2021	F	77	PU	C/AN/AMC/CAZ/CZ/CTX/ CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP
195	14/08/2021	H	92	PU	AN/C/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	AMC	AMP/CZ
196	18/08/2021	H	20	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	NIT/TZP	AMC/AMP
197	23/08/2021	F	39	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	AMC	AMP/FOS
198	29/08/2021	H	ND	PU	AN/CAZ/CZ/FOS/IPM/ETP	TZP	AMC/AMP/C/CIP/GEN/SXT/NIT
199	02/09/2021	H	ND	PU	AN/NIT	/	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP
200	04/09/2021	F	28	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/FOS/ GEN/IPM/TZP/SXT/ETP	NIT	AMC/AMP
201	05/09/2021	F	41	PU	IPM/ETP/FOX	AN	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/FOS/GEN/SXT/TZP
202	05/09/2021	F	68	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/IPM/TZP/ETP	C	AMC/AMP/CIP/FOS/ GEN/SXT/NIT
203	06/09/2021	H	77	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/NIT/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX

204	10/09/2021	F	21	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/C/ FOS/GEN/IPM/TZP/SXT/ETP	NIT	AMP/AMC
205	11/09/2021	H	83	PU	CIP/SXT/ETP/TZP	IPM	AN/AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/FOS/NIT/FOX
206	13/09/2021	F	41	PU	IPM/ETP/FOX	AN	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/FOS/GEN/SXT/TZP/NIT
207	15/09/2021	H	ND	PU	AN/C/FOS/IPM/TZP/ETP/FOX	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT
208	15/09/2021	F	53	PU	AN/AMC/C/CAZ/CIP/GEN/ IPM/TZP/SXT/ETP/FOX	CTX	AMP/CZ/FOS/NIT
209	15/09/2021	H	77	PU	AN/CAZ/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/TZP/SXT/ETP	C/FOX	AMC/AMP/CZ/NIT
210	16/09/2021	H	ND	PU	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/TZP/ SXT/ETP/FOX	C	AMC/AMP/CAZ/CZ/NIT/CTX
211	17/09/2021	F	82	PU	C/AN/CAZ/CS/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/TZP/ETP	NIT	AMC/AMP/CZ/SXT
212	19/09/2021	H	77	PU	AN/CTX/CAZ/CIP/FOS/ GEN/IPM/TZP/SXT/ETP	C/FOX	AMC/AMP/CZ/NIT
213	23/09/2021	H	ND	PU	AN/FOS	NIT/ETP	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/IPM/SXT/TZP/FOX
214	27/09/2021	F	39	PU	C/CAZ/CZ/CTX/CIP/GEN/ IPM/SXT/TZP/AN/ETP/TZP	/	AMP/AMC/FOS
215	30/09/2021	F	ND	PU	AN/FOS/GEN	/	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/IPM/SXT/TZP/NIT/ETP
216	03/10/2021	H	40	PU	ETP/NIT/CIP/CTX/SXT/ IPM/AN/GEN/CAZ	C/TZP	AMP/AMC/CZ/FOS
217	03/10/2021	H	ND	PU	AN/IPM/ETP	/	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CIP/ CTX/SXT/TZP/NIT/FOS/GEN
218	05/10/2021	F	ND	PU	AN/C/CZ/FOS/TZP/SXT/ GEN/CIP/CAZ/CTX/AN/IPM/ETP	NIT	AMP/AMC
219	05/10/2021	F	42	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/GEN/IPM/TZP	/	AMP/AMC/C/CIP/ FOS/SXT/NIT/ETP
220	07/10/2021	H	81	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP	TZP	AMP/AMC/CAZ/ CZ/CTX/SXT/NIT
221	11/10/2021	F	37	PU	AN/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/FOX	/	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/NIT/TZP
222	12/10/2021	H	73	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/FOX	C/NIT	APM/AMC
223	13/10/2021	H	ND	PU	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/FOX	C/NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/SXT/TZP
224	13/10/2021	F	71	PU	AN/C/FOS/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT
225	15/10/2021	F	38	PU	AN/C/FOS/IPM/NIT/ETP/FOX	TZP	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT
226	19/10/2021	F	ND	PU	FOS/NIT/ETP/IPM	AN/ TZP/FOX	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT
227	20/10/2021	F	ND	PU	CAZ/CTX/CIP/GEN/SXT/AN/ TZP/FOS/IPM/NIT/ETP	/	AMP/AMC/CZ/FOX
228	20/10/2021	H	ND	PU	AN/FOS	NIT	AMP/AMC/C/CZ/CAZ/CTX/ GEN/SXT/TZP/IPM/ETP/FOX
229	21/10/2021	F	30	PU	AN/C/CTX/CIP/GEN/IPM/ SXT/FOX/CAZ/CZ	NIT/TZP	AMP/AMC/FOS
230	24/10/2021	F	11	PU	AN/C/CTX/CIP/GEN/IPM/SXT/CAZ	FOX	AMP/AMC/CZ/FOS/NIT/TZP

231	26/10/2021	H	10	PU	AN/C/FOS/IPM/ETP/TZP/FOX	CIP/NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/ GEN/SXT
232	27/10/2021	F	42	PU	AN/FOS/GEN/IPM/ETP	/	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/SXT/NIT/TZP/FOX
233	28/10/2021	F	83	PU	AMC/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/NIT/ GEN/SXT/TZP/AN/FOS/IPM/ETP	/	AMP
234	03/11/2021	H	67	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/FOX/TZP	NIT	AMP/AMC
235	03/11/2021	H	79	PU	AN/CTX/CIP/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP	C/NIT	AMP/AMC/FOS/FOX
236	04/11/2021	F	41	PP	AN/CTX/CIP/GEN/IPM/ SXT/CAZ/FOS/ETP/TZP	C/NIT	AMP/AMC/CZ/FOX
237	04/11/2021	F	49	PP	AN/C/CIP/GEN/IPM/SXT/ FOS/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX
238	05/11/2021	F	63	PU	AN/CIP/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC/C/CAZ/ CZ/CTX/FOS/SXT
239	05/11/2021	H	71	PP	AN/FOS/IPM/ETP/TZP/FOX	C/ CIP/NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/ CTX/GEN/SXT
240	07/11/2021	F	ND	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP	/	AMP/AMC/NIT
241	07/11/2021	F	23	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC
242	08/11/2021	F	38	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC
243	11/11/2021	F	38	PU	AN/C/FOS/IPM/NIT/ETP/FOX	TZP	AMP/AMC/SXT/CAZ/ CZ/CTX/CIP/GEN
244	16/11/2021	F	11	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/CAZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC/CZ
245	17/11/2021	F	19	PU	AN/CTX/CIP/GEN/IPM/ SXT/CAZ/ETP/TZP/FOX	C	AMP/AMC/CZ/FOS/NIT
246	18/11/2021	F	45	PU	AN/C/CTX/CIP/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	AMC/NIT	AMP/FOS
247	18/11/2021	H	62	PP	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	CTX/CAZ/CZ/FOX/AMP/AMC
248	20/11/2021	H	10M	PU	AN/C/CIP/GEN/IPM/ SXT/ETP/TZP/CAZ	NIT	CTX/FOS/CZ/AMP/AMC
249	22/11/2021	F	46	PU	AN/CIP/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT/C	CTX/SXT/CZ/AMP/AMC/CAZ
250	22/11/2021	H	54	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ TZP/CAZ/CZ/CTX/FOX	NIT/C	AMP/AMC/FOS
251	24/11/2021	F	42	PU	AN/C/GEN/IPM/TZP/FOX	NIT	CTX/SXT/CZ/AMP/AMC/CAZ
252	27/11/2021	F	5	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/NIT/CAZ/ETP/TZP	FOX	AMP/AMC/CZ
253	27/11/2021	H	66	PU	AMC/AMP/C/GEN/IPM/ SXT/ETP/TZP/CAZ/CZ/CTX/FOX	CIP	AN/FOS/NIT
254	01/12/2021	H	67	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMC/AMP
255	05/12/2021	F	46	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX
256	05/12/2021	F	58	PU	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/FOX	NIT	AMP/AMC/C/SXT/ CAZ/CZ/CTX/TZP

257	05/12/2021	H	ND	PU	AN/C/CTX/GEN/IPM/SXT/ CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX/NIT	/	AMP/AMC/FOS/CIP
258	06/12/2021	F	ND	PV	AN/CTX/GEN/IPM/SXT/CAZ/ CZ/ETP/TZP/FOX/NIT/FOS/CIP	C	AMP/AMC
259	08/12/2021	F	5	PU	AN/C/CTX/GEN/IPM/SXT/ CAZ/ETP/CIP	NIT	AMP/AMC/FOS/CZ/TZP
260	11/12/2021	F	41	PU	AMP/AMC/C/CTX/GEN/SXT/ CAZ/CZ/TZP/FOS/NIT/CIP	/	FOX/ETP/IPM/AN
261	15/12/2021	F	57	PU	AN/C/CIP/GEN/IPM/ ETP/TZP/FOX/FOS	/	AMP/AMC/CZ/CAZ/ CTX/SXT/NIT
262	16/12/2021	H	32	PP	AN/CIP/GEN/IPM/ETP/TZP/FOS/SXT	NIT	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/FOX
263	16/12/2021	H	82	PU	FOS/AN	NIT	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/ GEN/CIP/IPM/SXT/ETP/TZP/FOX
264	16/12/2021	F	23	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/FOX	NIT/C	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/FOS
265	18/12/2021	H	7	AP	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX/NIT	/	AMP/AMC
266	18/12/2021	F	69	PU	AN/CTX/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/CAZ/ETP/TZP	C	AMP/AMC/CZ/NIT/FOX
267	19/12/2021	H	80	PU	AN/GEN/IPM/SXT	TZP/ETP	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/ CTX/FOS/CIP/NIT/FOX
268	19/12/2021	F	25	PU	AN/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	C/NIT	AMP/AMC
269	20/12/2021	F	27	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC
270	21/12/2021	H	2M	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC
271	21/12/2021	H	61	AP	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX/NIT	/	AMP/AMC
272	22/12/2021	F	41	PP	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/SXT/CTX
273	23/12/2021	F	87	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	/	AMP/AMC/CAZ/CZ/FOX/CTX
274	25/12/2021	F	40	PP	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC
275	28/12/2021	F	28	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/ETP/TZP/FOX/NIT	/	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX
276	29/12/2021	F	19	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ TZP/FOX/CAZ/CZ/CTX/FOS	NIT/C	AMP/AMC
277	01/01/2022	F	22	PV	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC
278	02/01/2022	F	89	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/FOX
279	02/01/2022	F	24	PU	AN/C/CTX/CIP/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC/FOS
280	04/01/2022	F	29	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ TZP/FOX/CAZ/CZ/CTX/FOS	NIT/C	AMP/AMC
281	06/01/2022	H	ND	PU	AN/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT/C	AMP/AMC/CAZ/CZ/ SXT/CTX/CIP/FOS
282	06/01/2022	F	39	PU	AN/CTX/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX/NIT	/	AMP/AMC/C
283	08/01/2022	H	26	AP	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/ FOX/CAZ/CZ/CTX/NIT/AMP/AMC	C	FOS

284	08/01/2022	H	ND	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/ FOX/CAZ/CZ/CTX/NIT/AMP/AMC	C	FOS
285	08/01/2022	H	48	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX/NIT	/	AMP/AMC
286	09/01/2022	F	40	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC
287	12/01/2022	F	26	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC
288	12/01/2022	H	69	PU	CTX/CIP/GEN/SXT/CAZ/ETP/TZP	C/IPM	AMP/AMC/AN/CZ/NIT/FOS/FOX
289	13/01/2022	H	ND	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/ FOX/CAZ/CZ/CTX/NIT/AMP/AMC	C	FOS
290	13/01/2022	F	50	PU	AMP/C/CTX/GEN/SXT/ CAZ/CZ/TZP/FOX/CIP/IPM/ETP	AMC/NIT	AN/FOS
291	13/01/2022	F	49	PU	AN/C/CTX/CIP/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC/FOS
292	14/01/2022	F	22	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ TZP/FOX/CAZ/CZ/CTX/FOS	NIT/C	AMP/AMC
293	14/01/2022	F	23	PU	CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/ TZP/FOX/CAZ/CZ/CTX/AMP/C	AMC/NIT	AN
294	15/01/2022	F	38	PU	AN/CTX/CIP/GEN/IPM/ SXT/CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC/FOS/C
295	20/01/2022	F	ND	PU	CIP/GEN/FOS/C/IPM/SXT/ETP/ TZP/FOX/CAZ/CZ/CTX/NIT/AMP	AMC	AN
296	24/01/2022	H	ND	PU	AN/C/CIP/GEN/IPM/SXT/ CAZ/ETP/TZP	CTX/NIT	AMP/AMC/FOS/CZ/FOX
297	25/01/2022	F	29	PU	AN/C/FOS/IPM/NIT/ETP/TZP/FOX	CIP	AMP/AMC/CZ/CAZ/ CTX/GEN/SXT
298	27/01/2022	H	ND	PU	AN/IPM/ETP	NIT	AMP/AMC/C/CZ/CAZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/SXT/TZP/FOX
299	30/01/2022	F	79	PU	GEN/C/IPM/ETP/TZP/FOX/ CAZ/CZ/CTX/AN	AMC/NIT	AMP/CIP/FOS/SXT
300	31/01/2022	F	77	PU	AN/CTX/CIP/GEN/IPM/SXT/ CAZ/CZ/ETP/TZP/FOX/NIT	/	AMP/AMC/FOS/C
301	01/02/2022	H	72	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ TZP/FOX/CAZ/CZ/CTX/FOS	NIT/C	AMP/AMC
302	02/02/2022	F	21	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ FOX/CAZ/CZ/CTX/FOS/NIT/C	/	AMP/AMC/TZP
303	08/02/2022	H	91	PP	AN/CIP/GEN/FOS/IPM/SXT/ ETP/TZP/FOX/CAZ/CTX	C	AMP/AMC/NIT/CZ
304	10/02/2022	F	30	PU	AN/CIP/GEN/FOS/IPM/SXT/ ETP/TZP/FOX/CAZ/CTX/C/CZ		AMP/AMC/NIT
305	10/02/2022	F	33	PV	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ FOX/CAZ/CZ/CTX/FOS/NIT/C	TZP	AMP/AMC
306	10/02/2022	F	36	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ FOX/CAZ/CZ/CTX/FOS/NIT/C/TZP	AMC	AMP
307	11/02/2022	F	41	PU	AMP/AMC/C/CTX/GEN/SXT/ CAZ/CZ/TZP/FOS/NIT/CIP	AN	IPM/ETP/FOX
308	16/02/2022	H	76	PU	C/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ FOX/FOS/NIT/TZP/AN	/	AMP/AMC/CZ/CAZ/CTX
309	20/02/2022	F	18	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/C/TZP	NIT	AMP/AMC/CZ/FOS/FOX

310	21/02/2022	H	29	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ FOX/CAZ/CZ/CTX/FOS/NIT/C	/	AMP/AMC/TZP
311	21/02/2022	H	58	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ TZP/FOX/CAZ/CZ/CTX/FOS/NIT/C	/	AMP/AMC
312	21/02/2022	F	75	PU	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP	NIT/TZP	AMP/AMC/C/CZ/CAZ/ CTX/SXT/FOX
313	21/02/2022	H	88	PU	AMC/C/CTX/GEN/TZP/FOS/ NIT/CIP/FOX/AN/IPM/ETP	/	AMP/CZ/CAZ/SXT
314	21/02/2022	F	95	PP	AN/C/GEN/IPM/NIT/ ETP/FOX/TZP	CIP	AMP/AMC/CZ/CAZ/ CTX/SXT/FOS
315	22/02/2022	H	ND	PU	C/CAZ/CZ/FOS/CTX/ IPM/ETP/FOX/TZP	/	AMC/AMP/AN/CIP/ GEN/SXT/NIT
316	22/02/2022	F	33	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/C/TZP/CZ/FOS/FOX	NIT	AMP/AMC
317	23/02/2022	H	77	PU	AN/FOS/IPM/ETP/FOX	C/TZP	AMP/AMC/CZ/CAZ/ CTX/CIP/SXT/NIT
318	24/02/2022	H	ND	PU	FOS/IPM/ETP/FOX/C/TZP/AMP/AMC/ CZ/CAZ/CTX/CIP/SXT/NIT	/	AN
319	24/02/2022	H	64	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	C/NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/FOS/FOX
320	25/02/2022	H	85	PU	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/FOX/AN/ CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	/	C/CS/FOS
321	26/02/2022	F	59	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/C/TZP/CZ/FOS/FOX/NIT	AMC	AMP
322	26/02/2022	F	72	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX	C	AMP/AMC
323	27/02/2022	F	ND	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/CZ/FOS/FOX	C	AMP/AMC/NIT/TZP
324	28/02/2022	F	26	PU	AN/C/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/TZP/CZ/FOS	NIT	AMP/AMC/FOX
325	28/02/2022	F	28	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/C/TZP/CZ/FOS/FOX/NIT	AMC	AMP
326	02/03/2022	F	ND	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/TZP/CZ/FOS/FOX	AMC/C	AMP/NIT
327	05/03/2022	F	40	PU	FOX/NIT/AN/C/CIP/GEN/IPM/ SXT/ETP/CAZ/CTX/TZP/CZ	/	AMP/AMC/FOS
328	06/03/2022	H	21J	PU	AN/C/CIP/GEN/IPM/ETP/TZP/FOS/FOX	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/SXT
329	07/03/2022	H	ND	PU	FOX/NIT/AN/C/CIP/GEN/IPM/ SXT/ETP/CAZ/CTX/TZP/CZ	/	AMP/AMC/FOS
330	09/03/2022	H	ND	PU	AN/C/CIP/GEN/IPM/ETP/ TZP/FOS/FOX/AMC/CAZ/CZ/CTX/SXT	NIT	AMP
331	10/03/2022	F	ND	PU	AN/IPM/ETP/CAZ/CTX/ TZP/CZ/FOS/FOX/C	CIP/NIT	AMP/AMC/GEN/SXT
332	11/03/2022	H	7J	PU	AN/C/IPM/ETP/TZP/FOS/FOX	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT
333	12/03/2022	H	72	PU	AN/C/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX	/	AMP/AMC/CIP
334	12/03/2022	F	ND	PU	AN/C/IPM/ETP/TZP/FOS/FOX/ NIT/CIP/GEN/SXT	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX
335	14/03/2022	F	75	PU	AN/IPM/ETP/FOS/GEN		AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/C/ CIP/SXT/NIT/TZP/FOX

336	17/03/2022	F	47	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/TZP/CZ/FOS/FOX/C	AMC/NIT	AMP
337	17/03/2022	H	82	PU	AN/CIP/IPM/ETP/CAZ/CTX/ TZP/CZ/FOS/FOX	NIT/GEN	AMP/AMC/C/SXT
338	20/03/2022	H	67	PP	AN/C/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP	TZP	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/NIT/FOX/FOS
339	22/03/2022	F	59	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/TZP/NIT/FOS/FOX/C	AMC	AMP/CZ
340	23/03/2022	H	86	PP	AN/C/CAZ/CTX/CIP/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CZ/FOX/FOS
341	27/03/2022	F	70	PP	AN/CIP/FOS/IPM/ETP/NIT	/	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ GEN/SXT/TZP/FOX
342	29/03/2022	H	57	AP	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/C/TZP/CZ/FOS/FOX/CS	NIT	AMP/AMC
343	05/04/2022	F	80	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX	C	AMP/AMC
344	07/04/2022	H	72	PU	AN/FOS/IPM/ETP	CIP/NIT	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ GEN/SXT/TZP/FOX
345	10/04/2022	H	77	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/NIT/TZP/CZ/C/FOX	/	AMP/AMC/FOS
346	13/04/2022	F	ND	PU	AMP/AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ ETP/CAZ/CTX/C/TZP/FOS/FOX	/	AMC/CZ/NIT
347	14/04/2022	F	79	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/TZP/CZ/C/FOX	NIT	AMP/AMC/FOS
348	21/04/2022	F	ND	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CTX/NIT/CZ/FOS/FOX/C	TZP	AMP/AMC/CAZ
349	25/04/2022	F	29	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX	C	AMP/AMC
350	28/04/2022	H	70	PU	AN/FOS/IPM/ETP	NIT	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/SXT/TZP/FOX
351	28/04/2022	F	31	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX/C/AMP	/	AMC
352	05/05/2022	H	42	PP	AN/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/TZP/CZ/FOS	/	AMP/AMC/C/CIP/NIT/FOX
353	05/05/2022	F	47	PU	AN/GEN/SXT	TZP	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/CIP/FOS/NIT/FOX
354	05/05/2022	F	ND	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/TZP/CZ/FOX/C/AMP	NIT	AMC/FOS
355	07/05/2022	F	81	PU	FOX/AN/AMP/AMC/CAZ/CZ/ CTX/SXT/CIP/FOS/GEN/AN/C/NIT	/	C/CS/FOS
356	07/05/2022	F	20	PU	AN/C/IPM/ETP/ETP/CZ/TZP	CIP/AMC	CAZ/CZ/FOS/GEN/SXT/AMP
357	08/05/2022	F	24	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/NIT/TZP/CZ/FOX/C/AMP	/	AMC/FOS
358	09/05/2022	H	ND	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX/C	/	AMP/AMC
359	10/05/2022	H	36	AP	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/TZP/CZ/FOS/FOX/C	AMC/NIT	AMP
360	10/05/2022	F	71	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX/C	/	AMP/AMC

361	13/05/2022	H	ND	PU	C	/	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/NIT/TZP/ CZ/FOS/FOX/AMP/AMC
362	16/05/2022	H	66	PU	FOX/AN/AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/ SXT/CIP/FOS/GEN/AN/C/NIT	/	C/CS/FOS
363	17/05/2022	F	71	PU	AN/IPM/ETP/TZP/CIP/SXT/NIT/FOX	/	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/ CTX/FOS/GEN
364	19/05/2022	H	70	PU	AN/CAZ/FOS/IPM/ETP/FOX	AMC/C/ NIT/TZP	AMP/CZ/CIP/GEN/SXT
365	22/05/2022	H	ND	PU	AN/GEN/IPM/ETP/CAZ/ CTX/TZP/CZ/FOS	/	AMC/AMP/C/CIP/SXT/NIT
366	25/05/2022	H	70	PU	AN/FOS/IPM/NIT	ETP	CIP/GEN/SXT/CAZ/CTX/ TZP/CZ/FOX/AMP/AMC
367	26/05/2022	F	ND	PU	AN/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/CTX/ NIT/TZP/CZ/FOS/FOX/AMC	/	AMP/C/CIP
368	27/05/2022	F	35	PU	AN/FOS/IPM/ETP/FOX	TZP	C/CIP/GEN/SXT/CAZ/CTX/ NIT/CZ/AMP/AMC
369	30/05/2022	F	83	PU	FOX/AN/AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/ SXT/CIP/FOS/GEN/AN/C/NIT	/	C/CS/FOS
370	31/05/2022	F	59	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/NIT/TZP/FOS/FOX/C	AMC/CZ	AMP
371	31/05/2022	F	72	PU	AN/GEN/IPM/ETP/CAZ/CZ/CTX/ TZP/FOX/C	TZP	AMP/AMC/CIP/FOS/SXT/NIT
32	01/06/2022	H	66	PU	FOX/AN/AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/ SXT/CIP/FOS/GEN/AN/C/NIT	/	C/CS/FOS
373	01/06/2022	H	74	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX	/	AMP/AMC/C
374	01/06/2022	H	ND	PU	AMP/AMC/C/CTX/GEN/SXT/CAZ/ CZ/TZP/FOX/NIT/CIP/IPM/ETP	/	AN/FOS
375	03/06/2022	F	40	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX/C	AMC	AMP
376	09/06/2022	F	ND	PU	AMP/AMC/AN/CIP/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX/C	/	GEN
377	13/06/2022	F	96	PU	AN/GEN/IPM/ETP/CAZ/CZ/ CTX/TZP/FOX/TZP/SXT/NIT	/	AMP/AMC/CIP/FOS/C
378	14/06/2022	F	16	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/ CAZ/CTX/NIT/TZP/C/FOS/FOX	/	AMP/AMC/CZ
379	14/06/2022	F	84	PU	CAZ/CTX/CIP/GEN/SXT/AN/ TZP/FOS/IPM/ETP	NIT	AMC/AMP/C/CZ
380	14/06/2022	F	67	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/FOX	C	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/FOS/NIT
381	18/06/2022	H	55	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/FOS/IPM/ NIT/ETP/TZP	AMC	AMP/C/CIP/GEN/SXT/FOX
382	22/06/2022	H	76	PU	AN/NIT	CIP	AMP/AMC/C/GEN/SXT/FOX/ AN/CAZ/CZ/CTX/FOS/IPM/ETP
383	22/06/2022	F	31	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/FOX	NIT	AMP/AMC/SXT/CAZ/ CZ/CTX/TZP
384	22/06/2022	F	83	PU	AN/GEN/SXT	C	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/IPM/ETP/NIT/TZP
385	22/06/2022	F	27	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/CAZ/ CTX/NIT/TZP/CZ/FOS/FOX/C/AMC	/	AMP
386	26/06/2022	F	44	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/GEN/ IPM/TZP/SXT/ETP/FOX	AMC/NIT	AMP/C/CIP/FOS

387	26/06/2022	H	45	PU	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/IPM/SXT/NIT/ETP	GEN/TZP	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/IPM/SXT/ETP/NIT
388	26/06/2022	H	57	PU	AMC/C/CAZ/CIP/IPM/ SXT/ETP/GEN/TZP/FOS	NIT	AMP/CZ/CTX
389	26/06/2022	F	60	PU	AN/C/CAZ/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/FOX	NIT	AMP/AMC/CZ/CTX/TZP
390	27/06/2022	H	ND	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/IPM/ ETP/FOX/TZP	AMC/NIT	AMP/C/CIP/FOS/GEN/SXT
391	28/06/2022	H	ND	PU	AN/CAZ/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	/	AMP/AMC/C/CZ/CTX/FOX
392	29/06/2022	H	62	PP	AN/C/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC/CZ/FOX
393	29/06/2022	H	69	PU	AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP	C/NIT	AMP/AMC/CAZ/CZ/ CTX/FOS/TZP/FOX
394	30/06/2022	H	78	PU	AN/CAZ/CIP/FOS/GEN/ IPM/NIT/ETP/TZP	/	AMP/AMC/C/CZ/CTX/SXT/FOX
395	30/06/2022	F	47	PP	AN/C/CAZ/FOS/ IPM/ETP/TZP/FOX	AMC/CIP/ NIT	AMP/CZ/CTX/SXT/GEN
396	30/06/2022	F	70	PU	CZ/CTX/GEN/SXT/AMP/CIP/ AN/C/CAZ/FOS/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMC
397	03/07/2022	H	4M	AP	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ NIT/ETP/TZP/FOX	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/SXT
398	03/07/2022	H	3	AP	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/NIT/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/SXT/FOX
399	04/07/2022	H	65	PP	AMC/AN/C/CAZ/CIP/ FOS/GEN/IPM/ETP/TZP	/	AMP/CZ/CTX/SXT/NIT
400	06/07/2022	H	4M	AP	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/NIT/ETP/TZP/FOX	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/SXT
401	11/07/2022	H	76	PU	AMC/FOX/CAZ/CZ/CTX/SXT/AN/ C/CIP/FOS/GEN/IPM/NIT/ETP/TZP	/	AMP
402	13/07/2022	F	3M	AP	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	C/NIT	AMC/AMP/FOX/CAZ/CZ/CTX
403	13/07/2022	F	36	PU	AMC/FOX/CAZ/CZ/CTX/AN/ CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP/FOS
404	14/07/2022	F	58	PP	AMP/CS/FOX/CAZ/CZ/CTX/AN/ CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	/	AMC
405	14/07/2022	H	71	PU	AN/AMC/FOX/GEN/CAZ/CTX/ AN/CIP/IPM/SXT/ETP/TZP	/	AMP/FOS
406	17/07/2022	H	64	PP	AN/CAZ/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	FOX	AMC/AMP/CZ/CTX/CIP/NIT
407	17/07/2022	F	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ NIT/ETP/FOX/TZP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/SXT
408	18/07/2022	H	80	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/FOX/TZP	NIT	AMC/AMP
409	20/07/2022	F	64	PU	C/CS/FOS/NA	AN	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/ FOX/TZP/ATM
410	20/07/2022	F	47	PU	FOX/CS/AMC/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP/C/FOS	/	AMP
411	21/07/2022	F	ND	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/FOS/ GEN/IPM/NIT/ETP/FOX/TZP	/	AMP/CIP/SXT
412	21/07/2022	H	66	PU	AMC/C/CAZ/CZ/CTX/ IPM/ETP/FOX/TZP	/	NA/AN/AMP/CIP/ FOS/GEN/SXT/NIT

413	23/07/2022	F	59	PU	FOX/CAZ/CTX/CIP/GEN/ IPM/SXT/NIT/ETP/TZP/AN/C/FOS	AMC/CZ	AMP
414	25/07/2022	F	50	PP	AN/AMC/C/CAZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	FOX/NIT	AMP/CZ/FOS
415	26/07/2022	H	71	PU	AN/C/CIP/GEN/IPM/ SXT/NIT/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/FOS/FOX/TZP
416	27/07/2022	F	73	PU	AN/AMC/CAZ/CZ/CTX/FOS/ GEN/IPM/ETP/FOX/TZP	/	AMP/C/CIP/SXT/NIT
417	27/07/2022	H	30	PU	FOX/C/CIP/SXT/NIT/AN/AMC/ CAZ/CTX/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP	/	AMP/CZ
418	31/07/2022	H	ND	PU	AN/AMC/CZ/CAZ/CTX/FOS/ GEN/ETP/IPM/TZP/FOX	NIT	AMP/C/CIP
419	03/08/2022	H	68	PU	AN/IPM/ETP	/	AMC/AMP/C/CZ/CAZ/CTX/CIP/ FOS/STX/NIT/GEN/TZP/FOX
420	04/08/2022	H	65	PP	AN/CAZ/CS/CTX/FOS/ GEN/IPM/TZP/ETP/SXT	FOX	AMC/AMP/C/CZ/CIP/NIT
421	04/08/2022	F	ND	PU	AMC/C/CZ/CAZ/CIP/FOX/AN/ CTX/FOS/GEN/IPM/TZP/ETP/SXT	NIT	AMP
422	08/08/2022	F	59	PU	AN/C/CS/CIP/GEN/ IPM/SXT/NIT/ETP	/	AMC/AMP/CZ/CAZ/ CTX/FOS/TZP/FOX
423	10/08/2022	F	75	PU	AN/CAZ/CTX/CS/CIP/FOS/ GEN/IPM/TZP/ETP/FOX	AMC/C/NIT	AMP/CZ/TZP
424	14/08/2022	H	65	PU	AN/C/CAZ/CTX/CS/CIP/ FOS/GEN/IPM/TZP/ETP	NIT	AMC/AMP/CZ/FOX/FOS
425	14/08/2022	F	32	PU	CS/FOX/AMP/CTX/NIT/AN/C/CAZ/ CIP/FOS/GEN/IPM/TZP/ETP/SXT	NIT	AMC/CAZ/CZ
426	14/08/2022	F	3	PP	AN/CS/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/FOX	NIT	AMC/AMP/C/CZ/ CAZ/CTX/SXT/TZP
427	15/08/2022	F	44	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP/FOX	NIT	AMC/AMP/C/CIP/FOS
428	15/08/2022	F	ND	PU	AN/C/CS/CTX/CIP/GEN/ IPM/TZP/NIT/ETP/SXT	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/FOS/FOX
429	16/08/2022	H	29	PP	AN/AMC/C/CS/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP/FOX	CAZ	AMP/CZ/CTX
430	16/08/2022	F	32	PU	CS/FOX/CZ/CTX/CAZ/AN/ CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/NIT/ETP	/	AMC/AMP/TZP
431	17/08/2022	F	54	PU	AMC/CS/FOX/CZ/CTX/CAZ/AN/ CIP/FOS.GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	/	AMP
432	18/08/2022	H	80	PU	CS/FOX/CZ/CTX/CAZ/AN/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMP/AMC
433	20/08/2022	F	ND	PU	AN/AMC/CS/CZ/CTX/CAZ/ CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT/FOX	AMP/C/FOS
434	20/08/2022	H	51	PU	AMC/C/CAZ/CZ/CS/CTX/FOS/ GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	/	AN/AMP/CIP/GEN/SXT/NIT
435	21/08/2022	H	87	PP	AN/C/CS/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/FOX
436	21/08/2022	H	68	PU	AN/C/CS/CIP/GEN/TZP/NIT/ETP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/FOS/FOX/TZP
437	22/08/2022	H	44	PP	AN/C/CAZ/CS/CTX/CIP/GEN/ FOS/IPM/SXT/ETP/FOX/TZP	AMC/NIT	AMP/CZ
438	24/08/2022	F	17	PU	AN/AMC/C/CS/CIP/GEN/ ETP/TZP/IPM/FOX	NIT	AMP/CAZ/CZ/CTX/FOS/SXT

439	25/08/2022	H	62	PP	AN/AMC/C/CAZ/CS/CIP/FOS/ GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/CZ/CTX/SXT
440	25/08/2022	H	6M	PU	AN/C/CS/CIP/FOS/GEN/ IPM/ETP/SXT/TZP	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/FOX
441	27/08/2022	F	ND	PU	AN/C/CAZ/CS/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/FOX	AMC/NIT	AMP/CZ/FOS/TZP
442	29/08/2022	F	ND	PU	AN/AMC/CZ/CIP/ FOS/IPM/SXT/ETP/FOX	GEN/NIT	AMP/CZ/CAZ/CIP/CTX
443	29/08/2022	H	6M	AP	AN/C/CZ/FOS/IPM/ETP/FOX/TZP	CIP	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/GEN/SXT/NIT
444	30/08/2022	F	28	PU	AN/C/CAZ/CS/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CZ/SXT/FOX
445	01/09/2022	H	76	PU	AN/CS/FOS/IPM/ETP	AMC/ FOX/TZP	AMP/C/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/SXT/NIT
446	03/09/2022	F	78	PU	AN/C/CS/CIP/FOS/GEN/ SXT/IPM/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX
447	04/09/2022	H	ND	PU	AN/CAZ/CS/CZ/CTX/GEN/ IPM/SXT/ETP/FOX	AMC/ CIP/NIT	AMP/C/FOS/TZP
448	05/09/2022	H	86	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/ CS/CIP/IPM/NIT/ETP/TZP/FOX	/	AMP/FOS/GEN/SXT
449	06/09/2022	H	69	PP	AN/C/CS/FOS/GEN/IPM/ETP/FOX	CAZ/NIT	AMC/AMP/CZ/CTX/ CIP/CIP/SXT/TZP
450	07/09/2022	H	63	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CS/ FOS/IPM/ETP/TZP/FOX	AMC/NIT	AMP/C/CIP/GEN/SXT
451	07/09/2022	F	64	PU	CS/C	/	NA/FOX/AMC/AMP/ CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/NIT/ ETP/TZP/AN/C/CS/FOS
452	08/09/2022	F	ND	PU	CS/C//AN//CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP	TZP	AMP/AMC/CAZ/CZ/CTX/FOX
453	08/08/2022	H	1M	PU	AMC/CAZ/CZ/CTX/FOX/TZP/CS/ AN/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	NIT	AMP
454	10/09/2022	H	ND	PU	AMC/NIT/CAZ/CTX/FOX/TZP/CS/ C/AN/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	CZ	AMP
455	11/09/2022	F	30	PU	AMC/CAZ/CTX/FOX/CS/C/AN/ CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	CZ/ NIT/TZP	AMP
456	12/09/2022	F	8	PU	AN/C/CS/FOS/IPM/ ETP/TZP/FOX	AMC/NIT	AMP/CAZ/CZ/CTX/ CIP/GEN/SXT
457	14/09/2022	H	06M	AP	AN/C/FOS/GEN/IPM/SXT/ NIT/ETP/TZP/FOX	AMC/ CAZ/CIP	AMP/CZ/CTX
458	15/09/2022	F	58	PP	AMC/CTX/CAZ/CIP/AN/C/FOS/ GEN/IPM/SXT/CS/ETP/TZP	NIT/FOX	AMP/CZ
459	18/09/2022	F	77	PU	FOX/CS/CZ/NIT/CTX/CAZ/CIP/ AN/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/NIT	AMC	AMP/SXT
460	18/09/2022	F	ND	PU	CS/SXT/CTX/CAZ/CIP/AN/FOS/ GEN/IPM/ETP/TZP/NIT	FOX	AMC/AMP/CZ/NIT
461	18/09/2022	F	82	PU	AMC/CZ/FOX/CS/SXT/CTX/ CAZ/CIP/AN/ETP/GEN/IPM/TZP	NIT	AMP/FOS
462	19/09/2022	F	8	PU	AN/C/CS/CIP/FOS/IPM/ETP/TZP/FOX	AMC/NIT	AMP/CZ/CAZ/CTX/GEN/SXT
463	19/09/2022	H	6M	AP	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/ETP/TZP/SXT	NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/FOX

464	19/09/2022	F	6	PU	AMC/CZ/CAZ/CTX/FOX/AN/C/ CIP/FOS/GEN/APM/ETP/TZP/SXT	NIT	AMP
465	20/09/2022	F	57	PP	CAZ/CTX/AN/C/CIP/FOS/ GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	/	AMP/AMC/CZ/FOX
466	21/09/2022	H	27	PU	C/CIP/IPM/ETP/TZP/FOX	GEN/NIT	AMP/AMC/CZ/CAZ/ CTX/FOS/SXT
467	22/09/2022	F	31	PU	CAZ/CTX/AN/C/CIP/FOS/ GEN/IPM/ETP/TZP/SXT	NIT	AMP/AMC/CZ/FOX
468	24/09/2022	H	94	PU	AMC/CZ/FOX/NIT/CAZ/CTX/ AN/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/SXT	C	AMP
469	27/09/2022	H	63	PU	AMP/C/CIP/GEN/SXT	AMC/NIT	AMP/C/CIP/GEN/SXT
470	02/10/2022	F	31	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/GEN/ IPM/SXT/ETP/FOX/CS/TZP	NIT	AMP/FOS
471	04/10/2022	H	78	PU	AN/FOS/IPM/ETP/FOX	NIT/TZP	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT
472	04/10/2022	F	40	PP	FOX/AMC/C/CAZ/CIP/GEN/ SXT/TZP/AN/FOS/IPM/ETP	NIT	AMP/CZ/CTX/
473	05/10/2022	F	29	PU	CS/FOX/CZ/CTX/AMC/C/CAZ/ CIP/GEN/SXT/TZP/AN/IPM/ETP	NIT	AMP/FOS
474	09/10/2022	H	29	PP	AN/C/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/FOS/FOX
475	17/10/2022	F	27	PU	AMC/CAZ/CZ/CTX/FOS/FOX/NIT/ AN/C/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	/	AMP
476	19/10/2022	F	31	PU	AN/C/CIP/IPM/NIT/ETP/TZP/FOX	/	AMC/AMP/CZ/CAZ/ CTX/FOS/GEN/SXT
477	22/10/2022	H	67	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/SXT
478	29/10/2022	F	25	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	/	AMC/AMP/CZ/CAZ/ CTX/SXT/NIT
479	31/10/2022	F	24	PU	AMC/CZ/CAZ/CTX/FOX/AN/C/ CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/SXT	NIT	AMP
480	31/10/2022	F	39	PU	AMC/CZ/CAZ/CTX/FOX/AN/C/ CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/SXT	NIT	AMP
481	01/11/2022	F	58	PP	NIT/AMC/CZ/CAZ/CTX/SXT/AN/C/ CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	/	AMP/CZ
482	01/11/2022	F	73	PU	AN/C/CIP/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC/CZ/ CAZ/CTX/FOS/SXT
483	01/11/2022	F	ND	PU	AMC/CZ/CAZ/CTX/SXT/AN/CIP/ GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/FOS
484	01/11/2022	F	ND	PU	AN/AMC/C/CAZ/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/NIT/ETP/TZP/FOX	/	AMP/CZ/CTX
485	03/11/2022	H	ND	PU	NIT/AMC/CZ/CAZ/CTX/SXT/AN/C/ CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	/	AMP
486	05/11/2022	F	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP/AMC/CZ/CAZ/CTX/SXT
487	06/11/2022	H	79	PU	AN/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	/	AMC/AMP/C/CZ/CAZ/ CTX/CIP/SXT/NIT
488	09/11/2022	H	ND	PU	AN/IPM/ETP/FOS/GEN	/	AMC/AMP/C/CAZ/CZ//CTX/ CIP/GEN/SXT/NIT/FOX/TZP
489	10/11/2022	H	47	PU	AN/IPM/ETP	NIT	FOS/AMC/AMP/C/CAZ/CZ/ CTX/CIP/GEN/SXT/FOX/TZP

490	13/12/2022	F	ND	PU	AN/FOS/CAZ/CZ/CTX/CIP/ GEN/SXT/FOX/IPM/ETP	C	AMC/AMP/NIT/TZP
491	16/11/2022	H	52	PU	AN/AMC/C/CTX/CIP/GEN/ IPM/NIT/ETP/FOX/TZP	/	AMP/CAZ/CZ/FOS/SXT
492	17/11/2022	H	89	PU	AN/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP	C/FOX	AMC/CZ/NIT
493	17/11/2022	H	38	PU	C/AN/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CZ/FOX/FOS
494	20/11/2022	H	60	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/FOX/TZP	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/SXT
495	29/11/2022	H	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ ETP/SXT/NIT/TZP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/FOX
496	30/11/2022	H	56	PP	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ ETP/SXT/TZP/FOX	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/NIT
497	03/12/2022	H	80	PU	AN/C/CIP/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	/	AMC/AMP/CZ/CAZ/ CTX/FOS/SXT/NIT
498	04/12/2022	H	ND	PP	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/SXT/TZP	FOX	AMC/AMP/C/CAZ/CZ/CTX/SXT
499	05/12/2022	H	77	PU	AN/C/IPM/ETP/TZP/FOX	CIP/NIT	AMC/AMP/C/CZ/CTX/ CAZ/FOS/GEN/SXT
500	05/12/2022	F	29	PU	AN/CIP/FOX/GEN/IPM/TZP/ETP	NIT	AMC/AMP/C/CZ/CAZ/CTX/SXT
501	07/12/2022	F	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP//FOX	NIT/TZP	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX
502	07/12/2022	F	67	PU	CAZ/CTX/NIT/TZP/AN/C/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	/	AMC/AMP/CZ/FOX/FOS
503	07/12/2022	F	45	PU	AN/C/CIP/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/ CTX/FOS/SXT
504	07/12/2022	F	59	PU	AMC/CZ/CAZ/CTX/FOS/AN/ CIP/IPM/ETP/TZP/FOX	C/ GEN/NIT	AMP/SXT
505	08/12/2022	F	23	PU	AN/C/CIP/GEN/NIT/FOS/ IPM/ETP/TZP/FOX	/	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/SXT
506	10/12/2022	H	49	PU	AN/CZ/CAZ/CTX/IPM/ETP/FOX/TZP	AMC	AMP/C/CIP/FOS/GEN/SXT/NIT
507	11/12/2022	H	70	PU	AN/FOS/GEN/IPM/ETP/FOX/TZP	/	AMC/AMP/C/CZ/CAZ/ CTX/CIP/SXT/NIT
508	14/12/2022	H	51	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/FOS/ IPM/FOX/ETP	AMC/TZP	AMP/C/CIP/GEN/SXT/NIT
509	17/12/2022	F	29	PP	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CS/FOX/CIP/ FOS/GEN/IPM/NIT/ETP/CTX/TZP	NIT	AM/SXT
510	21/12/2022	F	24	PU	AN/C/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/SXT/NIT/ETP/TZP	/	AMC/AMP/CZ/FOX
511	23/12/2022	H	70	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/SXT/NIT/TZP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/FOX
512	25/12/2022	H	10	PU	CIP/FOS/IPM/ETP/FOX/TZP	C/GEN/ NIT	AN/AMC/AMP/ CAZ/CZ/CTX/SXT
513	25/10/2022	F	ND	PU	AN/CAZ/CTX/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP	C/NIT	AMC/AMP/CZ/FOS/FOX
514	25/12/2022	F	13	PP	AN/CAZ/CIP/GEN/IPM/ ETP/TZP/SXT/NIT	C	AMC/AMP/CZ/FOS/FOX
515	26/12/2022	F	28	PP	AMC/CZ/FOS//FOX/CS/C/NIT/AN/ CAZ/CTX/CIP/GEN/IPM/SXT/TZP	/	AMP
516	29/12/2022	F	27	PU	AN/C/CTX/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/ETP/FOX/CZ/CAZ	NIT	AMC/AMP/TZP
517	03/01/2023	F	23	PU	AN/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP/FOX	C/NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX
518	08/01/2023	F	19	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/CIP	NIT	AMP

519	10/01/2023	F	84	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/CIP	NIT	AMP
520	11/01/2023	H	35	PP	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/CIP	NIT	AMP
521	13/01/2023	H	70	PU	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/FOX/ AN/CIP/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/NIT	/	AN/C/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/NIT/TZP
522	15/01/2023	H	ND	PU	AN/FOS/IPM/ETP/FOX	C	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/ CIP/GEN/SXT/NIT
523	15/01/2023	H	62	PU	AN/CTX/CAZ/CIP/FOS/ GEN/IPM/TZP/SXT/ETP	C/NIT	AMC/AMP/CZ/FOX
524	16/01/2023	H	34	PU	ANC/C/CZ/CTX/CAZ/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/FOX	/	AMC/AMP/NIT/TZP
525	17/01/2023	H	61	PU	AN/C/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	NIT	AMC/AMP/CZ/ CAZ/CTX/CIP/SXT
526	18/01/2023	H	74	PU	AN/C/FOS/IPM/ETP/TZP/FOX	/	AMC/AMP/CZ/CA/CTX/ CIP/GEN/SXT/NIT
527	20/01/2023	H	70	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP/FOX	/	AMC/AMP/CAZ/ CZ/CTX/SXT/NIT
528	21/01/2023	H	88	PU	AN/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	AMC/C	AMP/CZ/FOX
529	22/01/2023	H	ND	PU	AN/IPM	/	AMP/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/SXT/NIT/ ETP/TZP/FOX
530	24/01/2023	F	48	PP	AN/C/CTX/CAZ/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	NIT	AMC/AMP/CZ/FOX
531	25/01/2023	F	40	PP	AN/CIP/GEN/IPM/TZP	/	AMC/AMP/C/CZ/CAZ/ CTX/FOS/SXT/NIT/ETP/FOX
532	25/01/2023	F	69	PU	C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/FOX/TZP	NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/SXT
533	25/01/2023	F	22	PU	AN/AMC/C/CAZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/TZP/FOX	/	AMP/FOS
534	25/01/2023	H	59	PU	NA/C/CIP/GEN/IPM/ETP/FOX/TZP	NIT	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/FOS/SXT/NIT/FOX
535	30/01/2023	H	ND	PU	AN/C/CIP/FOS/IPM/ETP/FOX	NIT/TZP	AMC/AMP/CZ/CAZ/ CTX/GEN/SXT
536	31/01/2023	F	82	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ SXT/ETP/TZP/FOX	NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX
537	03/02/2023	F	37	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/FOX/TZP	/	AMC/AMP/CAZ/CZ/ CTX/SXT/NIT
538	04/02/2023	F	ND	PU	AN/AMC/C/CAZ/CTX/CIP/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/FOX	C	AMP/CZ/FOS/NIT
539	04/02/2023	H	62	PU	AN/AMC/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/NIT/ETP/TZP	C	AMP/SXT
540	06/02/2023	F	29	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/FOX/TZP	AMC	AMP
541	07/02/2023	F	ND	PU	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/FOX/TZP	NIT	AMC/AMP/C/CAZ/ CZ/CTX/SXT
542	07/02/2023	F	ND	PU	C/AMC/AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/FOX/TZP	/	AMP
543	11/02/2023	H	53	PU	AN/CIP/FOS/GEN/IPM/ETP/TZP	C/FOX	AMC/AMP/CAZ/ CZ/CTX/SXT/NIT
544	14/02/2023	H	56	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/NIT/ETP/FOX/TZP	AMC/C	AMP
545	16/02/2023	F	ND	PV	AN/CAZ/CZ/CTX/CIP/GEN/ IPM/SXT/FOX/ETP/TZP	AMC	AMP/C/FOS/NIT

546	23/02/2023	F	28	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/FOX/TZP	AMC/NIT	AMP
547	24/02/2023	H	31	PP	AN/CAZ/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/NIT/ETP/TZP	C	AMC/AMP/CZ/CTX
548	26/02/2023	H	ND	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/FOX	NIT	AMC/AMP/TZP
549	26/02/2023	H	51	PU	AN/CAZ/CZ/CTX/IPM/ETP/FOX	AMC/TZP	
550	26/02/2023	H	86	PU	AN/C/GEN/NIT	CIP	AMC/AMP/CAZ/CZ/CTX/ FOS/IPM/SXT/ETP/FOX/TZP
551	27/02/2023	H	28	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/FOX/TZP	AMC/NIT	AMP
552	28/02/2023	H	ND	PU	AN/C/CAZ/CIP/FOS/GEN/IPM/SXT/ETP	NIT	AMC/AMP/CZ/CTX
553	04/03/2023	H	72	PU	AN/C/CAZ/CTX/CIP/FOS/GEN/ IPM/SXT/NIT/ETP/FOX	AMC/ CZ/TZP	AMP
554	06/03/2023	F	29	PU	AN/AMC/CZ/CAZ/FOS/GEN/ CIP/CTX/IPM/SX/ETP/FOX	C/NIT/ TZP	AMP
555	08/03/2023	H	78	PU	AN/CAZ/CTX/CIP/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP	C/NIT	AMC/AMP/CZ/FOS/FOX
556	08/03/2023	F	27	PU	AN/AMC/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/ FOS/GEN/IPM/SXT/ETP/TZP/FOX	NIT	AMP
557	12/03/2023	H	85	PU	AN/C/CAZ/CZ/CTX/FOS/GEN/ IPM/SXT/ETP/TZP/FOX	AMC/NIT	AMP/CIP
558	13/03/2023	H	10	PU	AN/C/CIP/FOS/GEN/ETP	NIT/TZP	AMC/AMP/CZ/CAZ/ CTX/SXT/FOX
559	14/03/2023	H	ND	PU	AN/IPM/SXT/ETP	C/NIT	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/ CIP/FOS/GEN/FOX/TZP
560	14/03/2023	H	86	PU	AN/C/GEN/NIT	/	AMC/AMP/CZ/CAZ/CTX/CIP/ FOS/IPM/SXT/ETP/FOX/TZP
561	20/03/2023	H	24	PU	AN/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/SXT/ETP/TZP	C/NIT	AMC/AMP/CZ/FOX
562	22/03/2023	F	29	PV	AN/C/CAZ/CZ/CTX/CIP/GEN/ IPM/SXT/ETP/FOX/TZP	AMC/NIT	AMP/FOS
563	26/03/2023	F	77	PU	AN/C/CZ/CAZ/CTX/CIP/FOS/ GEN/IPM/ETP/FOX	NIT	AMC/AMP/SXT

F: Femme, H: Homme, ND: Non déterminé, M: Mois, J: Jours, NP: Nature de prélèvement, S: Sensible, I: Intermédiaire, R: Résistant, PU: Prélèvement urinaire, PP: Prélèvement de pus, PV: Prélèvement vaginal, AP: Autre prélèvement, AMC: Amoxicilline/Acide clavulanique, AMP: Ampicilline, TZP: Pipéracilline/Tazobactam, IPM: Imipénème, ETP: Ertapénème, CZ: Céfazoline, CTX: Céfotaxime, CAZ: Ceftazidime, AN: Amikacine, GEN: Gentamicine, C: Chloramphénicol, CS: Colistine, SXT: Sulfamide/Triméthoprim, NIT: Nitrofurantoïne, NA: Acide nalidixique, CIP: Ciprofloxacine, FOS: Fosfomycine, FOX: céfoxitine.

2.1. Incidence de *K. pneumoniae* selon le sexe à Ferdjioua

Dans la présente étude rétrospective qui a été réalisée sur une période de Mars 2020 à Mars 2023 sur 563 échantillons de *K. pneumoniae* isolés au laboratoire d'analyses médicale Mirouh de Ferdjioua, la population infectée était majoritairement féminine avec un nombre de 315 (55,95 %), et 248 chez les hommes (44,04 %) (**Tableau 30, Figure 34**). ce résultat est en accord avec celui de nos collègues de Master 2020 dans le même laboratoire dans une période de Janvier 2015 à Février 2020, qui ont trouvé que parmi 475 patients infectés par *K. pneumoniae*, 325 (68,42%) étaient des femmes et 146 des hommes (30,74%). De même un résultat proche a été rapporté par **Teghonong et al. (2020)** au niveau des hôpitaux côtiers du Cameroun où ont révélé que sur 412 patients infectés par *K. pneumoniae*, 230 (55,8%) étaient des femmes et 182 des hommes (44,2%).

Au contraire au Maroc les résultats obtenus par **Arslan et al. (2012)**, ont déclaré sur un total de 205 patients infectés par *K. pneumoniae*, 91 (44,39%) étaient des femmes et 114 (55,60%) des hommes, où la répartition des nourrissons selon le sexe et l'âge a montré que l'IUN est une pathologie fréquente, avec une prédominance chez les garçons de moins d'un an. Aussi, les résultats d'**Al-Baz et al. (2022)** en Egypte, sur une période du 1er Janvier 2021 à 31 décembre 2021 pour déterminer la prévalence et le profil de résistance aux antimicrobiens des infections hospitalières causées par CR-Kp à l'hôpital universitaire d'Al-Ahrar, ont montré que la majorité des patients étudiés infectés par CR-Kp (n=36) étaient des hommes 21 (58,3%) alors que chez les femmes étaient 15 (41,7%). Aussi au Venezuela, Restrepo et al (2017), ont déclaré un nombre total 8 (36,4%) de femmes infectées par *Klebsiella*, légèrement inférieur à celui des hommes 14 (63,6%).

En effet, il y a des maladies qui ciblent plus un sexe qu'un autre, la prévalence de l'infection urinaire est plus élevée chez les femmes que chez les hommes, où l'urètre féminin est court (3-4 centimètres) et topographiquement proche du vagin et du périnée qui sont régulièrement colonisés par des bactéries d'origine fécale. Par opposition, l'urètre masculin est long de 20 centimètre environ et est moins exposé aux infections. Aussi la cystite est 50 fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme, surtout les femmes sexuellement actives. De plus l'antécédent maternel d'IU et survenue d'IU dans l'enfance exposent à la récurrence des infections urinaires chez la femme jeune.

Par contre, les hommes ont un système anatomique différent des voies urinaires avec des sécrétions de prostate contenant des substances inhibitrices comme les protéines

cationiques qui, dans l'ensemble, pourraient jouer un rôle important dans la lutte contre l'invasion des bactéries pathogènes urinaires (Azar et Ebadi, 2017).

Tableau 30. Incidence de *K. pneumoniae* selon le sexe de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua.

Sexe	Nombres de souches	pourcentage %
Femmes	315	55,95
Hommes	248	44,04
Total	563	100

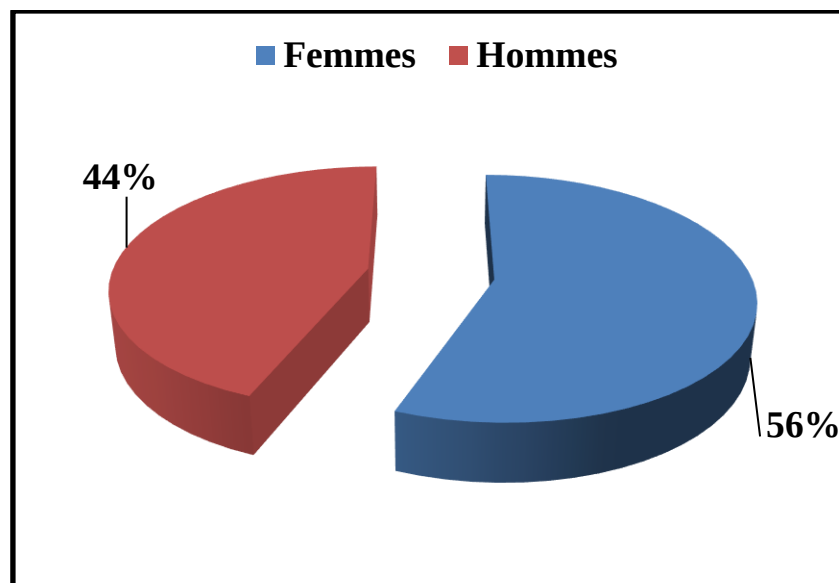


Figure 34. Incidence de *K. pneumoniae* selon le sexe de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua.

2.2. Incidence de *K. pneumoniae* selon l'âge à Fredjioua

D'après les classes d'âge, la répartition a été faite sur quatre catégories; nouveaux nés (< 1 an), les enfants (1 à 18 ans), les adultes (19 à 64 ans) et les personnes âgées (≥ 65 ans). Dans notre étude, la catégorie la plus touchée par *K. pneumoniae* est celle des adultes, avec un pourcentage de 54,54% (n=246), suivi par la catégorie des personnes âgées (≥ 65 ans) (34,81%) (n=157), puis les enfants avec 5,76% (n=26), et enfin le pourcentage le plus faible est observé chez les nouveau-nées avec 4,88% (n=22). Les données d'âge sont manquantes chez 112 personnes (19,89%) (**Tableau 31, Figure 35**).

Les présents résultats sont similaires à ceux de nos collègues de Master 2020, aussi ils sont similaires à ceux de **Restrepo et al. (2017)** au Venezuela dans un hôpital public de Caracas qui ont trouvé que les adultes prennent le pourcentage le plus élevé (54.5%). De même les résultats sont proches de ceux d'**Al-Baz et al. (2022)** en Egypte, où la majorité des patients étudiés infectés par CR-Kp étaient des hommes et l'âge moyen était de 36-86 ans.

Au contraire les résultats sont incompatibles avec l'étude de **Teghonong et al. (2016)** au Cameroun qui ont révélé que le pourcentage le plus élevé est chez les Nouveaux nés (< 1 an) (26,0%). De même au Canada, La majorité des souches est retrouvée chez des patients âgés entre 60 et 89 ans, la majorité des souches KPC (71,4 %) a été retrouvée dans ce groupe d'âge (**Lefebvre, 2013**). Aussi au Madagascar, une étude a montré que le pourcentage le plus élevé (50%) a été enregistré chez les personnes âgées (≥ 60 ans), suivi par les personnes âgées entre 40-50 ans avec une fréquence de 22.2%, et le reste des patients <20 ans environ 16,6%, et la proportion la plus faible pour les patients entre 20-39 ans est (11.1%) (**Rakotovao-Ravahatra et al., 2022**).

De nombreuses études ont confirmé que parmi les facteurs de risque d'IU par une bactérie multi-résistante (BMR) dont les EBLSE, figure un âge avancé, généralement supérieur à 65 ans (**Sbiti, 2017**). Ainsi que la sénescence est susceptible de perturber la réponse immunitaire dans son initiation et sa régulation. Où le déficit immunitaire touche à la fois, l'immunité cellulaire, l'immunité humorale et les cellules phagocytaires (**Hammami et al., 2007**).

De plus, des facteurs prédisposant à l'infection induits par certaines états pathologiques comme les maladies chroniques (diabète), cancers, et aussi la dénutrition,

l'immobilisation peuvent eux-mêmes favoriser la survenue d'infections (Salmon et al., 1988).

Tableau 31. Incidence de *K. pneumoniae* selon l'âge de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua, Mila

Groupe d'âge	Nombre de souches	Pourcentage %
Nouveaux nés (< 1 an)	22	4,88
Enfants (1 à 18 ans)	26	5,76
Adultes (19 à 64 ans)	246	54,54
Personnes âgées (≥ 65 ans)	157	34,81
Total	451	100

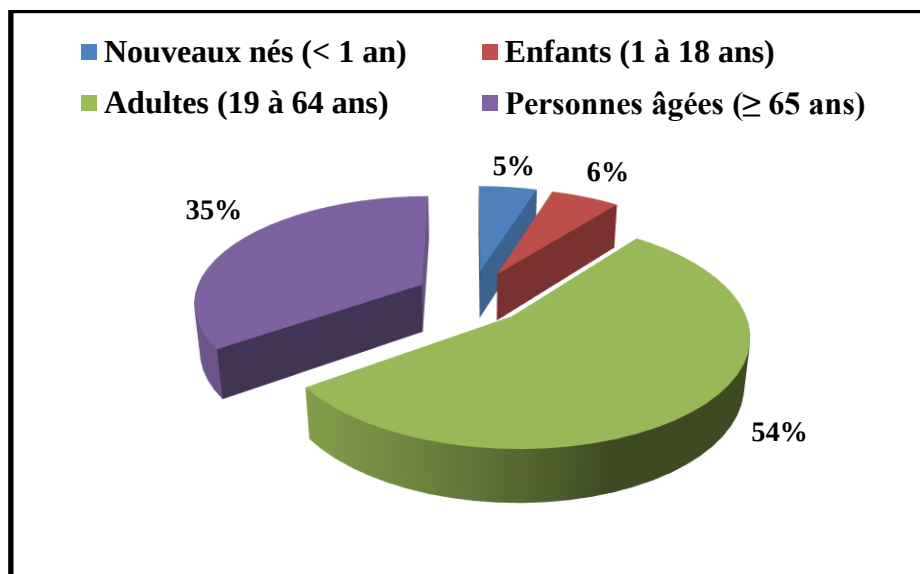


Figure 35. Incidence de *K. pneumoniae* selon l'âge de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua, Mila

2.3. Incidence de *K. pneumoniae* selon la nature du spécimen à Ferdjioua

Sur le totale 563 isolats de KP, les urines présentaient 85,07% (n=479) est considéré le pourcentage le plus élevé, puis 11,01% (n=62) de pus, en revanche le taux le plus faible a été enregistré dans les prélèvements vaginale 1.42% (n=8), et les autre prélèvements environ 2.48% (n=14) (**Tableau 32, Figure 36**). Nous notons que les résultats obtenus étaient proches des résultats de nos collègues de Master 2020, où le pourcentage des souches de *K. pneumeniae* prédominante d'urine a été observée (80,8%).

Cependant, nous avons observé une augmentation notable sur le nombre des souches dans le pus par apport à Boubendir et al. (2018).

Aussi, **Cedah et al. 2021** dans une période de 2018 à 2021 au niveau de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine, ont trouvé que le pourcentage le plus élevé à été observé dans l'urine avec une fréquence de 67%, suivi par le pus 17%, sauf que le pourcentage le plus faible est observé dans l'autre prélèvement (hémoculture, sonde urinaire, sonde vésicale) avec 16%.

A l'opposé, en Egypte les résultats montrent que le pourcentage dominant est dans le crachat 52,8%, puis 34,5% dans le sang, ensuite 9,2%, 2,1% dans le pus, et enfin 1,4% dans l'écouvillon de site opératoire (**Al-Baz et al., 2022**). La même chose pour l'étude de **Lefebvre, 2013** au Canada, Les souches de type KPC ont été isolées à partir d'écouvillonnages rectaux (47 souches, 67,1 %) réalisés dans le cadre d'un dépistage où était considéré comme le pourcentage le plus élevé, suivi d'urines (7 souches, 10,0 %), de sécrétions respiratoires (5 souches, 7,1 %), d'hémocultures (3 souches, 4,3 %), de pus (1 souche, 1,4 %) et d'autres sites (5 souches, 7,1 %). Pour 2 souches (2,9 %), l'origine du prélèvement n'était pas spécifiée. Aussi, au Cameroun les infections causées par *K. pneumoniae* ont été confirmées par un nombre de 225 (54,6%) (**Teghonong et al., 2020**).

Selon **Khalifa et Khedher, 2012**, les infections urinaires (IU) sont parmi les pathologies les plus fréquentes dans les infections bactériennes, et *K. pneumoniae* est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans ce genre d'infections. Aussi **Larabi et al. (2003)**, confirme que *K. pneumoniae* sécrète une uréase qui alcalinise l'urine, dont le pH naturellement acide empêche la prolifération des germes.

Pinganaud et Rainfray (2004), ont déclaré que les facteurs associés de façon significative avec un risque élevé d'infection urinaire sont généraux comme le grand âge, le sexe féminin, des capacités fonctionnelles très limitées, la présence d'un cathéter veineux, ou plus spécifiques de la sphère urinaire comme le sondage urinaire à demeure, l'incontinence urinaire et fécale et les pathologies prostatiques. D'autres facteurs favorisants sont identifiés dans la littérature, comme les antécédents d'accidents vasculaires cérébraux, la déshydratation, le diabète, la dénutrition, une antibiothérapie antérieure, une hospitalisation récente.

Tableau 32. Incidence de *K. pneumoniae* selon le type de spécimen de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua.

Types de prélèvements	Nombre	Pourcentage %
Urine	479	85,07
Pus	62	11,01
Vagin	8	1,42
Autres	14	2,48
Total	563	100

Autre prélèvements (crachat : 1,24% [n=7], plaie: 0,18% [n=1], liquide péritonéal: 0,18% [n=1], abcès hépatique: 0,18% [n=1], liquide kystique: 0,18% [n=1], spermoculture: 0,18% [n=1], liquide pleurale: 0,18% [n=1], fistus cutané: 0,18% [n=1]).

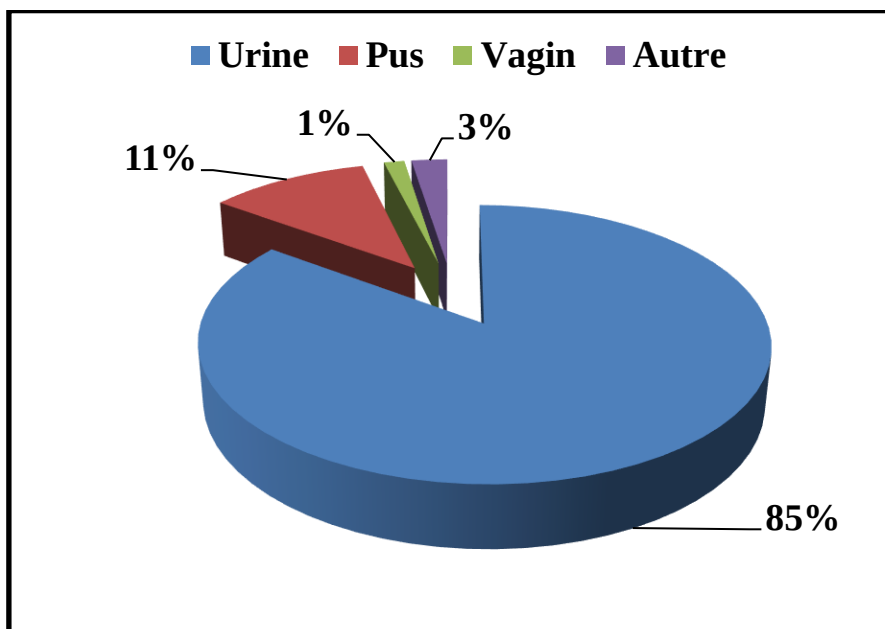


Figure 36. Incidence de *K. pneumoniae* selon le type de spécimen de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua.

2.4. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua

Le **Tableau 33** présente les pourcentages de résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques dans la région de Ferdjioua dans une période de Mars 2020 à Mars 2023.

Tableau 33. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* de Mars 2020 à Mars 2023 à Ferdjioua.

Familles			ATB	N° de test	N° de Résistance	% de Résistance	ATB
Béta-lactamines	Pénicillines	Associations bêta-lactamines/inhibiteurs de β lactamases	AMC	562	391	69,57	AMC
			TZP	542	94	17,34	TZP
		Aminopénicillines	AMP	562	552	98,22	AMP
	Céphalosporines	(C1G)	CZ	560	328	58,57	CZ
		(C2G)	FOX	341	89	26,09	FOX
		(C3G)	CAZ	563	240	42,62	CAZ
			CTX	550	247	44,9	CTX
		Carbapénèmes	IPM	551	28	5,08	IPM
	ETP		547	36	6,58	ETP	
	Aminosides			AN	550	39	7,09
GEN				555	103	18,55	GEN
Quinolones		(Q1G)	NA	3	2	66,66	NA
		(Q2G)	CIP	556	111	19,61	CIP
Phénicolés			C	551	122	22,14	C
Sulfamides et associations			SXT	540	214	39,62	SXT
Nitrofuranes			NIT	545	144	26,42	NIT
Polypeptides			CS	80	1	1,25	CS
Autres			FOS	555	153	27,56	FOS

ATB: Antibiotiques, AMC: Amoxicilline/Acide clavulanique, AMP: Ampicilline, TZP: Pipéracilline/Tazobactam, IPM: Imipénème, ETP: Ertapénème, CZ: Céfazoline, CTX: Céfotaxime, CAZ: Ceftazidime, AN: Amikacine, GEN: Gentamicine, C: Chloramphénicol, CS: Colistine, SXT: Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, NIT: Nitrofurantoïne, NA: Acide nalidixique, CIP: Ciprofloxacine, FOS: Fosfomycine, FOX: céfoxitine.

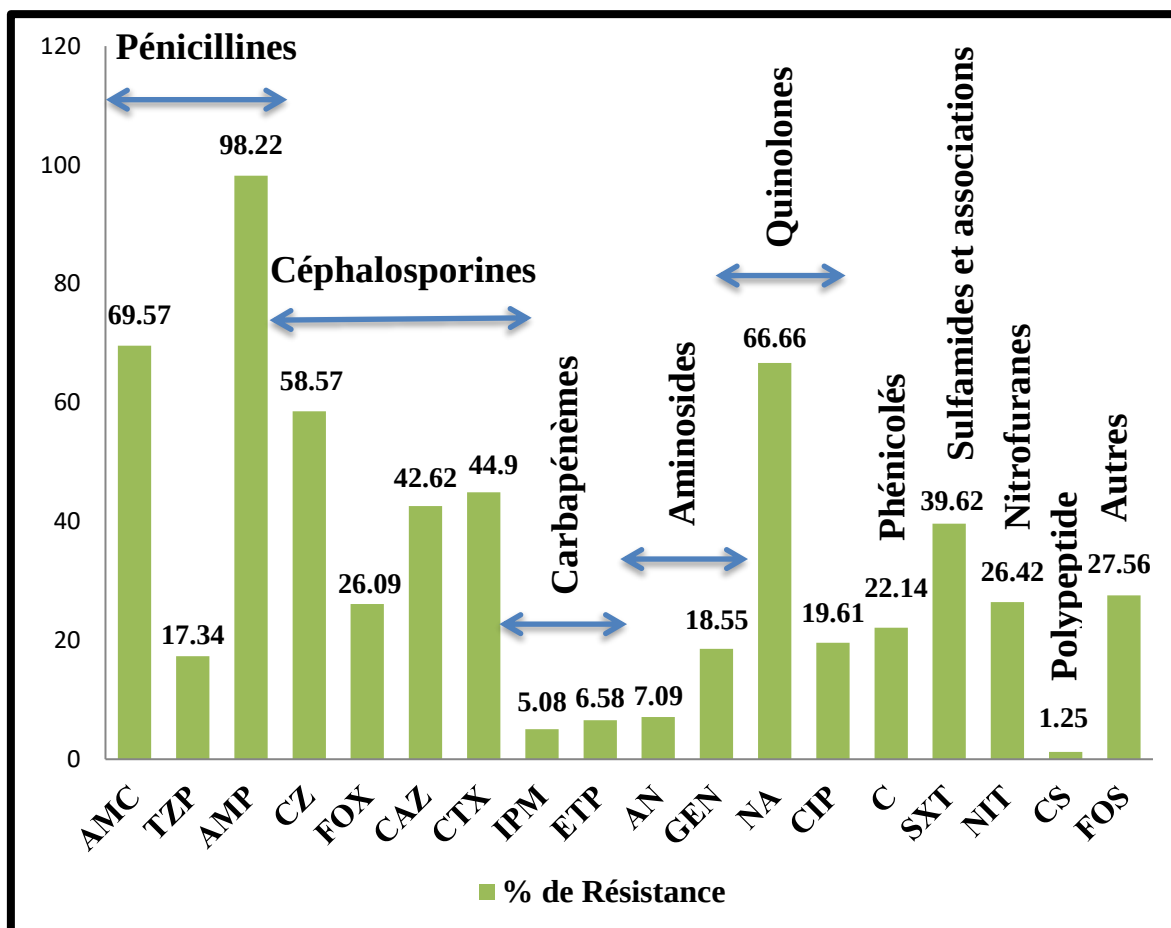


Figure 37. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* de 2020 à 2023 à Ferdjioua.

AMC: Amoxicilline/Acide clavulanique, AMP: Ampicilline, TZP: Pipéracilline/Tazobactam, IPM: Imipénème, ETP: Ertapénème, CZ: Céfazoline, CTX: Céfotaxime, CAZ: Ceftazidime, AN: Amikacine, GEN: Gentamicine, C: Chloramphénicol, CS: Colistine, SXT: Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, NIT: Nitrofurantoïne, NA: Acide nalidixique, CIP: Ciprofloxacine, FOS: Fosfomycine, FOX: céfoxitine,

1. La résistance de *K. pneumoniae* aux β -lactamines

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille, qui regroupe les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames, est caractérisée par la présence constante du cycle β -lactame associé à des cycles et des chaînes latérales variables qui expliquent les propriétés pharmacocinétiques et le spectre d'activité des différents produits (Cavallo et al., 2004). La résistance aux β -lactamines est principalement associée à l'expression des β -lactamases codées par un plasmide ou

chromosome capables d'inactiver les β -lactamines (**Doménech-Sánchez et al., 1999 ; Sugawara et al., 2016**).

Etant donné que les antibiotiques β -lactamines pénètrent dans la membrane externe de nombreuses bactéries gram-négatives par les porines, la résistance aux antibiotiques peut également être causée par la perte ou la carence en porines. Récemment, démontré que cette stratégie de résistance aux antimicrobiens fonctionne également chez *K. pneumoniae*. Où la perte de porines OmpK35 et OmpK36 est une cause importante de résistance à certains antimicrobiens, en particulier les antibiotiques β -lactamines. Parce que même l'hydrolyse par les β -lactamases devient inefficace pour produire des niveaux élevés de résistance si les bactéries continuent à permettre l'afflux rapide de β -lactames à travers les larges canaux porines (**Doménech-Sánchez et al., 1999 ; Sugawara et al., 2016**).

1.1. La résistance aux pénicillines

Le taux de résistance le plus élevé est enregistré dans la famille des pénicillines exactement dans les aminopénicillines de pourcentage 100%. Ce résultat est compatible avec l'étude d'**Arafa et al. (2009)** qu'ont confirmés que le taux de résistance naturelle à l'ampicilline et l'amoxicilline était 100% résistant.

Pour l'association pénicilline/inhibiteur β -lactamases, l'amoxicilline + acide clavulanique aussi a enregistré un pourcentage élevé (69,57%). Ce résultat est proche à celui de l'étude rétrospective de **Cedah et al. (2021)** au niveau de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine où ils ont enregistré 60% de résistance.

Au contraire, il est remarqué que la résistance de *K. pnemuniae* à l'AMC est plus faible par rapport aux résultats obtenus par nos collègues de Master 2020, qui ont signalé un taux de résistance à AMC de 76,73%.

Pour le pipéracilline/tazobactam (TZP), il présente une fréquence de résistance de 17,34%, ce qui proche du résultat de nos collègues de Master 2020 (10,42%). Par contre, le pourcentage de résistance de cette antibiotique en Arabie saoudite était plus élevé que notre résultat, et ça ce qui est montré par **Al-Zalabani et al. (2020)** où elle a atteint 58,7%. La même chose en Egypte dans l'étude d'**Al-Baz et al. (2022)**, où ils ont trouvé un pourcentage de 76,80% des souches résistantes.

✓ **Mécanismes de résistance aux pénicillines**

La résistance à la pénicilline s'est développée dans les années 1950, aux céphalosporines de première génération dans les années 1970 et aux céphalosporines de troisième génération dans les années 1990 (**Carle, 2009**). Le mécanisme responsable de la résistance aux pénicillines est l'hyperproduction de pénicillinases.

• **Phénotype pénicillinase à bas niveau**

K. pneumoniae est naturellement résistante aux amino- et carboxy-pénicillines. Cette résistance peut être due en raison de la production d'une enzyme SHV (SHV-1) provient d'une mutation dans le gène chromosomique (SHV) (variable sulfhydryle) (**Joly et Reynaud, 2002 ; Pool, 2004 ; Robin et al ; 2012**).

• **Phénotype pénicillinase à haut niveau**

Responsable d'une résistance pour les amino- et carboxy-pénicillines, et aussi pour les molécules qui possédant des inhibiteurs de β -lactamases ainsi qu'aux céphalosporines de première et deuxième génération (**Jarlier et Nordmann, 2000 ; Zahar et Moumil, 2013**). **Pérez-Moreno et al. (2011)** déclaré que la forte prévalence d'une diminution de la sensibilité à l'AMC parmi les isolats de *K. pneumoniae* par la production d'IRT-11 ou d'OXA-1, deux pénicillinases codé par ce gène blaOXA-1 placé dans un intégron de classe 1 et lié à qnrS2 ou au gène blaIRT-11 (E3).

• **β -lactamases à large spectre**

β -lactamases à large spectre, en particulier les enzymes de type TEM (TEM-1, TEM-2) ou SHV (SHV-1) sont les principales responsables de la résistance acquise aux pénicillines et aux céphalosporines de première génération (**Cavallo et al., 2004**). Et TEM30 (IRT-2) responsables de la prévalence élevée de diminution de la sensibilité de *K. pneumoniae* aux associations pénicillines/inhibiteurs de β -lactamines (**Pérez-Moreno et al., 2011**).

1.2. La résistance aux céphalosporines

Les résultats pour les céphalosporines ont montré des taux différents dans chaque génération, où les céphalosporines de 1^{ère} génération associé à CZ enregistrent la résistance la plus élevée (58,57%) suivie par les céphalosporines de 3^{ème} génération associé à CAZ et

CTX avec un pourcentage (44,9%) et enfin les céphalosporines de 2^{ème} génération associé à FOX enregistrent la résistance la plus faible (26,09%).

• Céphalosporines de première génération

Dans notre étude, un seul antibiotique de cette génération est administré, c'est le dégazoline qui montre une résistance d'un pourcentage 58,57%, dont il est élevé de résultat de nos collègues de Master 2020 (43,6%). D'autre part, au Maroc où le céfalotine a été considéré en tant que représentant de cette génération, ils ont trouvé un pourcentage de résistance est plus faible (35%).

• Céphalosporines de deuxième génération

Pour la fréquence d'antibiorésistance aux C2G (FOX), un taux de résistance au céfoxitine de 27,65% est enregistré. Ce qui est très faible par rapport aux résultats obtenus dans 3 pays: Egypte, Arabie Saoudite, Canada avec des pourcentages de résistance de 71,80% ; 57,5% ; 73% respectivement.

• Céphalosporines de troisième génération

La fréquence de la résistance de *K. pneumoniae* au céfotaxime est atteint 44,9% qui est très proche du résultat de nos collègues de Master 2020 (43,6%), le présent résultat est plus faible de celui obtenu par **Bellini et Troilet, (2016)** en Italie (56,5%). Aussi en Iran un pourcentage de résistance plus élevé a été signalé (60,7%) (**Sheikhabgheri et al., 2022**).

A l'inverse au Maroc, il a été enregistré un taux de résistance très faible (6,30%).

✓ Mécanismes de résistance aux Céphalosporines

La résistance de *K. pneumoniae* aux céphalosporines est due aux β -lactamases plasmidique de classe C d'ambler (céphalosporinases) qui présentent une résistance à l'ensemble des β -lactamines excepté les carbapénèmes et notamment aux C3G par acquisition d'un gène plasmidique (AmpC). (**Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006; Gueudet et al., 2010**). Les types les plus importants composant la famille de gènes blaAmpC sont: CMY, DHA, FOX et MOX. Au cours de l'évolution, l'incorporation de gènes de résistance dans le chromosome bactérien s'est déroulée, blaCMY-2 a été le premier gène de résistance identifié au sein du chromosome de *K. pneumoniae* (**Bush et Jacoby 2010**).

On peut noter que certaines bêta-lactamases à spectre élargi sont caractérisées par une activité faible vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération en particulierment céfotaxime, ceftazidime et ceftriaxone par contre les céphamycines demeurent stables vis-à-vis des β -lactamase à spectre élargi. Ces phénotypes sont la conséquence de la production de β -lactamases plasmidiques appelées «à spectre élargi» en raison du nombre plus élevé de substrats qu'elles sont capables d'inactiver par référence aux β -lactamases «à spectre élargi» classiques de type TEM-1 ou 2 ou SHV-1, dont elles dérivent par mutations ponctuelles (**Jarlier et Nordmann, 2000 ; Boukadida et al., 2002**). Aussi il existe un autre type de β -lactamases a spectre étendu il s'agit de CTX-M, enzymes hydrolysant le CTX, la CRO plus efficacement que CAZ (**Gniadkowski, 2001; Villegas et al., 2004**).

Les oxacillinases de classe D (OXA-48) sont capables d'hydrolyser les C1G et C2G. Tandis que, le type SHV-38 (Métallo- β -lactamases) codé par des chromosomes fournissant une sensibilité réduite à la ceftazidime. L'enzyme PAR-2 favorise la résistance aux ceftazidime (**Poole 2004**).

1.3. La résistance aux carbapénèmes

D'après notre étude, les antibiotiques imipénème et ertapénème, ont enregistré des taux faibles de résistance de 5,08% et 6,58% respectivement. Le pourcentage d'antibiorésistance à l'imipénème (5,08%) est plus faible par rapport à l'étude de **Lefebvre, (2013)** et **Restrepo et al. (2017)** où ont montré un pourcentage de résistance de 97% au Canada, et 95,5% au Venezuela. Aussi en Egypte par **Al-Baz et al. (2022)**, où ils ont trouvé que 25,40% des souches résistantes, la même chose chez **Al-Zalabani et al. (2020)** en Arabie Saoudite et **Bellini et Troilet, (2016)** en Italie, qui ont déclaré un taux de résistance de 38,4% et 32,9% respectivement.

Cet antibiotique est resté efficace contre le *K. pneumoniae* dans plusieurs autres études à travers le monde, et elles ont montré que cette souche était très fortement ou complètement sensible à l'imipénème.

Pour l'ertapénème, elle occupe un pourcentage de 6,58% qui est plus faible par rapport aux résultats des **Bellini et Troilet, (2016)** en Italie (32,9%), aussi au Canada, **Lefebvre, (2013)** où a été montré que le taux de résistance contre *K. pneumoniae* atteint 100%.

✓ **Mécanismes de résistance aux carbapénèmes**

La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des bêta-lactamases. Le premier mécanisme associe la production d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou une BLSE à une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des protéines transmembranaires que sont les porines. Le second mécanisme de résistance aux carbapénèmes est lié à l'expression de bêta-lactamases à forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes, les carbapénémases (**Nordmann et Carrer, 2010**).

• **Les carbapénémases de classe A**

Les plus fréquentes, sont les carbapénémases de type KPC, IMI2, GES qui hydrolysent efficacement les carbapénèmes et sont partiellement inhibés par l'acide clavulanique (**Queenan et Bush, 2007 ; Nordmann et Carrer, 2010**). Les gènes blaKPC-3 et blaKPC-2 sont les plus communs. Les gènes blaKPC résident sur le transposon Tn4401 qui lui-même est inséré au sein de plasmides, cela facilitant la dissémination de ces gènes vers d'autres espèces bactériennes. Un exemple de transfert inter-espèce est celui du gène blaKPC-3 de *K. pneumoniae* à *E. coli* (**Nordmann et Carrer, 2010 ; Dortet et al., 2013**).

• **Les carbapénémases de classe B**

Les métallo- β -lactamases (MBL) sont des enzymes hydrolysent efficacement la majorité des β -lactamines dont les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénèmes, à l'exception de l'aztréonam. D'autre part, les MBLs ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ou le tazobactame. Jusque récemment, les MBLs les plus fréquemment identifiées appartenaient à la famille de VIM (Verona integron-encoded metallo- β -lactamase) et IMP (imipenemase). Décrites fin 2008, les MBLs de la famille de NDM (New Delhi metallo- β -lactamase) dans un isolat de *K. pneumoniae* et ils ont largement disséminé dans le monde entier. Les MBLs de type KHM-1 (Kyorin Health Sciences metallo- β -lactamase) et GIM-1 (German imipenemase) ont été décrites beaucoup plus rarement chez les entérobactéries. Les taux de résistance aux carbapénèmes sont assez variables d'une souche à l'autre (**Walsh et al., 2005 ; Dortet et al., 2013**).

Les gènes de ces MBLs sont, le plus souvent, plasmidiques et associés au sein d'intégrons et de transposons, structures qui assurent la mobilité de ces gènes de résistance et la multi-résistance aux antibiotiques des souches (Nordmann et Carrer, 2010).

• Les carbapénèmases de classe C et D

La carbapénémase de classe D, OXA-48, décrite tout d'abord chez *K. pneumoniae*, hydrolyse, par contre, beaucoup plus fortement les carbapénèmes et n'hydrolyse pas les céphalosporines de 3^{ème}. Son activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique. OXA-48 est souvent associée à d'autres bêta-lactamases, en particulier des BLSEs, ce qui contribue à la multirésistance des souches. En l'absence d'autres bêta-lactamases, les souches qui ne produisent qu'OXA-48 peuvent ne présenter qu'une légère diminution de la sensibilité aux carbapénèmes. Le réservoir naturel de ce gène OXA-48 a été identifié ; il s'agit de *Shewanella sp*, ce qui suggère le transfert de ce gène de résistance en milieu aqueux. Le gène d'OXA-48 est localisé au sein d'un transposon comportant deux séquences d'insertion identiques assurant mobilité et expression. (Nordmann et Carrer, 2010 ; Dortet et al., 2013).

2. La résistance de *K. pneumoniae* aux aminosides

Concernant l'antibiorésistance aux aminoglycosides, le pourcentage de l'amikacine (AN) était 7,09% et la Gentamicine (GEN) était 18,55 %. Ces résultats sont proches par rapport à l'étude de nos collègues de Master 2020 qui ont signalé que le résultat de la résistance était 20,05% pour la Gentamicine et 5,68% pour l'amikacine. De même pour l'étude d'Arslan et al. (2012) au Maroc, qui déclaré que le pourcentage de la résistance de l'amikacine était 5% et la Gentamicine était 21 %.

À l'inverse on obtenue des différentes résultats pour les deux antibiotique (GEN, AN) dans des divers pays, où le GEN a été enregistré des taux de résistance élevé dans l'étude d'Al-Baz et al. (2022) en Egypte, Rakotovao-Ravahatra et al. (2022) en Madagascar, et de Lefebvre, 2013 au Canada, avec des pourcentages 44,4%, 38,9%, et 38% respectivement. Concernant les études de Teghonong et al. (2020) au Cameroun, Restrepo et al. (2017) en Venezuela et Al-Zalabani et al. (2020) en Arabie Saoudite, ils ont rapporté aussi des fréquences de résistance plus élevée par rapport à notre étude avec 76%, 54,5%, 52,2% respectivement. Pour la fréquence d'antibiorésistance spécifique aux l'amikacine, un taux de résistance de 43% en Egypte, 36,3% en Arabie Saoudite, 22,7% au

Venezuela a été enregistré, dont il est plus élevé que nos résultats. Par contre, Madagascar et Cameron ont affirmé une sensibilité totale pour l'amikacine.

✓ Mécanismes de résistance aux aminosides

Les antibiotiques aminosidiques ou aminoglycosides sont des molécules de petite taille, polaires et polycationiques, présentes un large spectre et sont bactéricide. Dans le cytoplasme bactérien, l'aminoglycoside se fixe à des sites spécifiques de la sous-unité 30S principalement et, accessoirement, de la sous-unité 50S des ribosomes (la streptomycine ne se lie qu'à une seule protéine de la sous-unité 30S). La constitution particulière des ribosomes bactériens assure la sélectivité d'action des aminoglycosides vis-à-vis de ces cellules (**Van Bambeke et Pharm, 2007**)

Comme la plupart des entérobactéries, *K. pneumoniae* présente une résistance aux aminosides gentamicine et à la nétilmicine alors que leur résistance à l'amikacine, ciprofloxacine est faible (**Benzaid et al, 2017**). Le mécanisme le plus courant de la résistance clinique aux aminoglycosides est leur modification structurale par des enzymes exprimées dans des organismes résistants, ce qui compromet leur capacité à interagir avec l'ARNr. Il existe trois classes de ces enzymes:

- Les aminosides phosphatases (APH): Phosphorylation d'un groupement hydroxyle.
- Les aminosides nucléotidyltransférases (ANT): nucléotidylation d'un groupement hydroxyle.
- Les aminosides acétyltransférases (AAC): Acétylation d'un groupement aminé (**Denyer et al., 2008**).

Ces enzymes sont codées sur des éléments génétiques mobiles: les plasmides, ce qui permet leur échange entre les bactéries. Lorsqu'un aminoside est modifié par des enzymes bactériennes sa fixation sur l'ARN 16S peut être affectée et se traduire par la perte de son activité (**Partridge et al., 2009**).

Ainsi que la découverte de l'ARNr 16S méthylase en 2003, appartenant à la famille du gène *ArmA*, qui code pour des enzymes qui empêchent les aminoglycosides dans *K. pneumoniae* par une méthylation des nucléotides spécifiques, situés au niveau du site A de l'ARNr 16S, site de liaison des aminosides sur le ribosome, ce qui empêche la liaison de ces antibiotiques à la sous-unité 30S ribosomale (**Galimand et al., 2003 ; Doi et al., 2016**).

Aussi la résistance aux aminosides est également associée à des modifications de la perméabilité cellulaire en raison de modifications dans les pompes d'efflux AcrAB-TolC et KpnEF et en raison de la perte de la porine putative, KpnO (**Padilla et al., 2010**).

3. La résistance de *K. pneumoniae* aux quinolones

• Quinolones de première génération

Pour la résistance aux Q1G, on a trouvé un pourcentage pour l'acide nalidixique avec 66,66% (testé 3 fois seulement), ce qui est élevé par rapport aux résultats de **Bellini et Troilet, 2016** en Italie avec une résistance de 55,7% et **Rakotovao-Ravahatra et al. 2022** au Madagascar avec un pourcentage de 38,90%. Mais en Iran, un pourcentage plus faible a été rapporté 14,5 % (**Sheikhabgheri et al 2022**).

• Quinolones de deuxième génération

Concernant la situation de la résistance aux Q2G, on a trouvé un pourcentage de résistance pour le ciprofloxacine de 19,61%. Par rapport à l'étude de nos collègues de Master 2020, ce résultat est légèrement plus élevé (15,16%), la même chose au Maroc où il était 14% (**Arslan et al. 2012**). Mais au Madagascar et Iran les résultats sont élevés, **Rakotovao-Ravahatra et al. (2022)** et **Sheikhabgheri et al. (2022)** ont enregistré un taux de résistance 33,3% et 35% respectivement.

Par contre, dans les pays suivants elle occupe un pourcentage plus élevé. En Egypte, la résistance était 47,9% (**Al-Baz et al., 2022**), et en Cameroun était 49% (**Teghonong et al., 2020**), aussi en Italie enregistre un pourcentage de 55,7% (**Bellini et Troilet, 2016**), en plus au Canada et Arabie saoudite, **Lefebvre, 2013** et **Al-Zalabani et al. (2020)** ont déclaré un taux de résistance 50% et 61,1% consécutivement. Mais au Venezuela, il atteint un pourcentage de 81% (**Restrepo et al., 2017**).

✓ Mécanismes de résistance aux quinolones

La résistance aux quinolones est principalement de nature chromosomique, ce qui lui confère une propagation lente et évite la transmission du gène entre espèces bactériennes différentes. Trois mécanismes de résistance aux quinolones sont actuellement reconnus (**Van Bambeke et Pharm, 2007**).

- Mutations qui modifient les cibles médicamenteuses ADN-Gyrase au niveau de la sous unité GyrA et la sous unité ParC de topoisomérase IV ce qui provoque la réduction de l'affinité de l'antibiotique pour sa cible: il résulte de ce mécanisme une résistance croisée entre l'ensemble des quinolones mais avec des degrés de résistance différents selon les

molécules ; la ciprofloxacine étant toujours plus active que l'ofloxacine, la péfloxacine et ces dernières plus actives que l'acide nalidixique.

- L'acquisition ou la surexpression d'une pompe à efflux fonctionnant par échange contre les protons réduit la concentration des quinolones dans la bactérie.
- Une imperméabilité de la bactérie par réduction de l'expression du gène OmpK36 codant pour les porines (Jacoby, 2005 ; Van Bambeke et Pharm, 2007).

4. La résistance de *K. pneumoniae* aux phénicolés

Quant à la résistance de *K. pneumoniae* aux phénicolés, on a observé une valeur de 22,14%. Ce taux est légèrement plus élevé que celui nos collègues de Master 2020 (16,58%) et Rakotovao-Ravahatra et al. (2022) au Madagascar au taux de pourcentage de 16,7%.

✓ Mécanismes de résistance aux phénicolés

Chloramphénicol inhibe la synthèse des protéines en se liant à la sous-unité ribosomale 50S et en empêchant l'étape peptidyltransférase. Une diminution de la perméabilité de la membrane externe et un efflux actif ont été identifiés chez les bactéries Gram-négatives cependant, le principal mécanisme de résistance est l'inactivation du médicament par la chloramphénicol acétyltransférase. Cela se produit à la fois chez les espèces Gram-positives et Gram-négatives, mais les gènes *cat*, généralement trouvés sur les plasmides, partagent peu d'homologie (Denyer et al., 2008). Le chloramphénicol est également substrat de très nombreuses pompes à efflux, surtout chez les bactéries à Gram-négatif (Van Bambeke et Pharm, 2007).

5. La résistance de *K. pneumoniae* aux sulfamides

D'après l'état de résistance aux sulfamides de notre région, on a enregistré des taux de résistance pour le triméthoprim/sulfaméthoxazole (SXT) 39,62%, Ce résultat est proche de l'étude de nos collègues de Master 2020 qui ont déclaré une résistance de 37,63% et la même chose pour l'étude de Sheikhabgheri et al. (2022) en Iran où le taux de résistance était 41%. Et légèrement faible par rapport à celui obtenu au Maroc où ils ont affirmé des taux de résistance 46% Arslan et al. (2012).

Par contre, en Arabie Saoudite la résistance au SXT était plus élevée 67% (**Al-Zalabani et al., 2020**), ainsi qu'au Madagascar et Venezuela était 77,8% et 72,3% consécutivement.

✓ **Mécanismes de résistance aux sulfamides**

Les gènes folP, sul1, sul2, sul3 confèrent la résistance aux sulfamides chez *k. pneumoniae* (**Wyres et al., 2016**). A l'égard des sulfamidés, une mutation chromosomique conduit à la résistance par hyperproduction d'acide para-aminobenzoïque ou par modification de la structure de la dihydroptéroate synthétase, réduisant son affinité pour l'antibiotique. Par ailleurs, l'acquisition d'un plasmide permet le développement de résistance par diminution de l'affinité de la dihydroptéroate synthase pour le sulfamidé ou par réduction de la perméabilité bactérienne aux sulfamidés. Vis-à-vis de diaminopyrimidines, une surproduction de dihydrofolate réductase survient rapidement au cours d'un traitement, tandis qu'une deuxième dihydrofolate réductase d'origine plasmidique conduit à une résistance très élevée (**Van Bambeke et Pharm, 2007 ; Denyer et al., 2008**).

6. La résistance de *K. pneumoniae* aux nitrofuranes

En analysant nos résultats, on observe une résistance de 26,42% pour le nitrofurantoïne. Ce résultat est proche de ceux de nos collègues de Master 2020 où la résistance au NIT était 23,84%.

Alors qu'au Maroc, le pourcentage de ces souches résistances était plus faible où il était 8% (**Arslan et al. 2012**).

✓ **Mécanismes de résistance aux nitrofuranes**

La résistance aux nitrofuranes est principalement médiée par des mutations dans le *nfsA* et/ou le *nfsB*, qui codent toutes les deux pour des nitroreductases, ces enzymes permettent une réduction de l'activité de la réductase bactérienne confère la résistance croisée à l'ensemble des nitrofuranes. Cette résistance peut être soit chromosomique, soit plasmidique. Par ailleurs, on voit émerger des souches porteuses de plasmides de multirésistance (aminoglycosides et nitrofuranes) (**Van Bambeke et Pharm, 2007**).

7. La résistance de *K. pneumoniae* aux polypeptides

A partir de nos résultats, on trouve que le pourcentage de résistance de KP à la colistine (CS) était 1,25%. Ce dernier est plus faible par rapport aux résultats de nos collègues de Master 2020 et aussi au Canada, où ils ont enregistré un taux de résistance 27,23% et 28% respectivement (**Lefebvre, 2013**).

Mais en Arabie Saoudite la résistance est très élevée où ils ont déclaré un taux de 40,7% (**Al-Zalabani et al., 2020**).

✓ Mécanismes de résistance aux polypeptides

La résistance à la colistine est liée à des modifications de la composition du LPS des bactéries à gram-négatif. Ces modifications ont toutes comme conséquence de diminuer la charge négative du LPS, essentiellement via l'ajout de résidus chargés positivement, entraînant ainsi une diminution d'affinité de la colistine (elle-même chargée positivement) pour sa cible d'action. D'autres mécanismes de résistance plus rarement incriminés sont la synthèse d'une capsule externe (qui absorbe la colistine par trapping et empêche ainsi sa fixation sur le LPS) ou la surexpression de certaines pompes à efflux (entraînant l'expulsion de l'antibiotique de la bactérie vers le milieu extra-cellulaire). Les altérations du LPS sont liées à des modifications du lipide A comprenant le plus souvent l'addition de deux types distincts de groupement cationiques (phosphoéthanolamines [pEtN] ou 4-amino-4-désoxy-L-arabinose [L-Ara4N]) (**Denyer et al., 2008 ; Rudy Lechantre, 2017**).

L'émergence d'une résistance plasmidique à la colistine et transférable d'une espèce à une autre a été rapportée pour la première fois fin 2015 sous la dénomination de MCR-1. La protéine MCR-1 fait partie de la famille des phosphoéthanolamine transférase dont l'expression chez *E. coli* et chez *K. pneumoniae* aboutit à l'addition de pEtN sur le lipide A. Les modifications du LPS par l'ajout de pEtN confèrent des niveaux de résistance aux polymyxines plus faibles que celui conféré par l'ajout de L-Ara4N. Ceci explique que les souches avec le mécanisme de résistance MCR-1 présentent un bas niveau de résistance (**Rudy Lechantre, 2017**).

8. La résistance de *K. pneumoniae* aux fosfomycine

Concernant la résistance au FOS la fréquence 27,56% est considérée comme proche des résultats rapportés par **Cedah et al. (2021)** (25%), alors que pour l'étude de nos collègues de Master 2020 montre une résistance faible de pourcentage (25%) à ce antibiotique.

✓ Mécanismes de résistance aux fosfomycine

La fosfomycine est un antibiotique bactéricide qui inhibe la biosynthèse de la paroi cellulaire en se liant irréversiblement à l'acétyl transférase UDP-N acétylglucosénol (MurA), une enzyme essentielle pour la biosynthèse du peptidoglycane.

La résistance à la fosfomycine peut résulter soit de mutation (s) chromosomique(s), soit, plus rarement, être médiée par un gène plasmidique. Différents mécanismes de résistance ont été décrits jusqu'à ce jour. Le premier mécanisme de résistance, le plus fréquent, consiste en une diminution de la perméabilité à la fosfomycine par des mutations chromosomiques altérant les systèmes de transport de la fosfomycine, soit par mutation directe du gène codant pour les transporteurs (glpT et/ou uhpT), soit par mutation des régulateurs de ceux-ci (uhpA, cyaA, ptsI). Des mutations de cyaA et de ptsI ont également été associées à une diminution des capacités d'adhésion aux cellules épithéliales. Le second mécanisme de résistance décrit correspond à une modification de la cible, MurA, par mutation du site de liaison à la fosfomycine (Cys115) ou d'un autre site (**Pourbaix et Guérin, 2016**).

Enfin, le troisième mécanisme de résistance, habituellement plasmidique, consiste en la présence d'enzyme modifiant la fosfomycine et l'inactivant. Ces résistances plasmidiques peuvent être transférables, notamment chez *E. coli*. Les trois principales enzymes responsables (FosA, FosB et FosX) appartiennent à la famille des métalloenzymes et agissent par addition nucléophile sur le carbone 1 (C1) de la fosfomycine, ouvrant ainsi le cycle époxyde de l'antibiotique et l'inactivant (**Pourbaix et Guérin, 2016**).

Bref, l'augmentation progressive de la résistance aux pénicillines, aux C1G, C2G et aux C3G avec l'apparition des BLSE, puis la diminution de l'efficacité des inhibiteurs de β -lactamases et finalement la production de carbapénémases inactivant les carbapénèmes

restreignent considérablement l'arsenal thérapeutique dont nous disposons et rendent le traitement antibiotique des infections résistantes de plus en plus complexe (Carle, 2009).

2.5. La résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* selon la nature du spécimen

A partir des résultats obtenus dans notre étude, nous avons trouvé que *K. pneumoniae* à une multi-résistance aux antibiotiques avec des taux différents selon le type de spécimen **Tableau 34**.

Tableau 34. Antibiorésistance de 563 souches de *K. pneumoniae* isolées à Ferdjioua de Mars 2020 à Mars 2023, selon la nature du spécimen.

Familles		Béta-lactamines					Aminosides	Quinolones		Phénicolés	Sulfamides et associations	Nitrofuranes	Polypeptides	Autres
Spécimen		AMC	CZ	FOX	CTX	IPM	GEN	NA	CIP	C	SXT	NIT	CS	FOS
Urine	T	477	476	285	466	467	471	3	472	467	458	463	64	472
	R	335	270	72	205	27	91	2	105	110	191	127	1	138
	%R	70,23	56,72	25,26	43,99	5,78	19,32	66,66	22,24	23,55	41,70	27,42	1,56	29,23
Vagin	T	8	8	5	8	8	8	0	8	8	7	8	1	8
	R	4	1	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0	2
	%R	50	12,5	0	12,5	0	0	0	0	12,5	0	25	0	25
Pus	T	63	62	40	62	62	62	0	62	62	62	60	13	61
	R	41	48	14	32	0	10	0	5	11	19	12	0	12
	%R	65,07	77,41	35	51,61	0	16,12	0	8,06	17,74	30,64	20	0	19,67
Autres	T	14	14	11	14	14	14	0	14	14	13	14	2	14
	R	11	9	3	9	1	2	0	1	0	4	3	0	1
	%R	78,57	64,28	27,27	64,28	7,14	14,28	0	7,14	0	30,76	21,42	0	7,14

T: Nombre de test, R: Résistance, AMC: Amoxicilline/Acide clavulanique, IPM: Imipénème, CZ: Céfazoline, CTX: Céfotaxime, GEN: Gentamicine, C: Chloramphénicol, CS: Colistine, SXT: Triméthoprine/Sulfaméthoxazole, NIT: Nitrofurantoïne, NA: Acide nalidixique, CIP: Ciprofloxacine, FOS: Fosfomycine, FOX: céfoxitine.

Autre prélèvements (crachat : 1,24% [n=7], plaie: 0,18% [n=1], liquide péritonéal: 0,18% [n=1], abcès hépatique: 0,18% [n=1], liquide kystique: 0,18% [n=1], spermoculture: 0,18% [n=1], liquide pleurale: 0,18% [n=1], fistus cutané: 0,18% [n=1]).

2.5.1. Résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* dans l'urine

Le pourcentage le plus élevé présenté dans l'amoxicilline/acide clavulanique (70,23%) et l'acide nalidixique (66,66%), où ce dernier a été testé 3 fois seulement.

Aussi, la résistance a enregistré des fréquences élevées pour le céfazoline 56,72%, le céfotaxime et le triméthoprim/sulfaméthoxazole avec des pourcentages de 43,99% et 41,70% respectivement. Alors qu'elle était plus faible pour la colistine (1,56%), l'imipénème (5,78%), la gentamicine (19,32%), le ciprofloxacine (22,24%), le chloramphénicol (23,55%), le céfoxitine (25,26%), le nitrofurantoïne (27,42%) et le fosfomycine (29,23%).

Ces fréquences de résistance sont proches des résultats obtenus par nos collègues de Master 2020 où ils ont trouvé que le taux de la résistance aux l'amoxicilline/Acide clavulanique, le triméthoprim/sulfaméthoxazole, le fosfomycine, le nitrofurantoïne et le gentamicine est 76,58%, 39,51%, 23,43%, 21,89% et 21,2% respectivement. Mais le taux de résistance est plus faible par rapport à céfazoline (42,73%), le céfotaxime (36,3%), ciprofloxacine (16,98 %) et le chloramphénicol (15,06%). Alors qu'il est élevé pour l'imipénème (13,84%).

Les résultats de résistance aux antibiotiques dans les urines d'**Arslan et al. (2012)** au Maroc, ont remarqué une forte résistance au l'amoxicilline/acide clavulanique (100%). Aussi il a trouvé des résistances plus ou moins faibles par rapport à la présente étude pour l'imipénème (0%) et le ciprofloxacine (14%). Tandis qu'il a enregistré une résistance proche pour la triméthoprim/sulfaméthoxazole (46%) et la gentamicine (21%). Par contre, ils ont enregistré des pourcentages très faibles pour le nitrofurantoïne (8%) et le céfotaxime (6,3%). D'autre part il a déclaré que parmi les échantillons d'urine, *K. pneumoniae* a été le 2^{ème} organisme le plus isolé après *E. coli*.

Selon une autre étude en Iran conduite par **Sheikhabagheri et al. (2022)**, ils ont remarqué une résistance identique avec le triméthoprim/sulfaméthoxazole (41%), cependant, ils ont observé une résistance proche pour gentamicine (23,9%). Pour les autres antibiotiques ils ont trouvé pour céfotaxime et ciprofloxacine une résistance plus élevé que ceux de nos résultats (60,7% et 57,3% respectivement). Ainsi une résistance faible a été détectée pour l'amoxicilline/acide clavulanique (57,3%) par rapport à notre résultat.

Dans une autre étude à Madagascar conduite par **Rakotovao-Ravahatra et al. (2022)**, ils ont observé une fréquence de résistance très proche pour l'amoxicilline/acide clavulanique (72,2%). Alors que le taux de résistance de chloramphénicol (16,7%) était faible par rapport à l'étude présente. Cependant, une résistance élevée au ciprofloxacine (33,3%) est observée. Par contre, le triméthoprim/sulfaméthoxazole (77,8%), le céfotaxime (61,10%) et la gentamicine (38,9%), ont une forte résistance.

2.5.2. La résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* dans le pus

Les résultats trouvés dans le pus ont montré que les pourcentages les plus élevés de résistance de *K. pneumoniae* ont été enregistrés pour le céfazoline (77,41%), suivi par l'amoxicilline/acide clavulanique (65,07%) et le céfotaxime (51,61%).

Alors que la résistance faible remarquée dans le pus concerne: le céfoxitine (35%), triméthoprim/sulfaméthoxazole (30,64%), nitrofurantoïne (20%), fosfomycine (19,67%), chloramphénicol (17,74%), gentamicine (16,12%), ciprofloxacine (8,06%), alors que pour la colistine et l'imipénème étaient de 0%.

Au Pakistan, **Hussain et al. (2014)** ont trouvé que le pourcentage de résistance à céfotaxime était (56%) et qui est proche de ceux de notre résultat.

Les résultats d'étude de nos collègues de Master 2020, ont signalé des taux de résistance plus élevés par rapport à nos résultats pour les antibiotiques : l'amoxicilline/acide clavulanique (75,75%), triméthoprim/sulfaméthoxazole (47,05%) nitrofurantoïne (31,57%) chloramphénicol (25%) ciprofloxacine (14,28%) et l'imipénème (6,06%). Alors qu'ils ont trouvé des pourcentages faibles dans le céfazoline (57,14%), le céfotaxime (45,45%) et la gentamicine (9,67%).

D'autre part, **Boubendir et al. (2018)** ont montré que céfotaxime (48,5%) a montré un résultat proche de notre travail, et le pourcentage de résistance de l'amoxicilline/acide clavulanique (81,8%) était élevé. Mais les autres antibiotiques : triméthoprim/sulfaméthoxazole (60,6%) et colistine (48,5%) étaient faibles.

A l'inverse, l'étude de **Balasubramanian et al. (2021)** en Arabie Saoudite montre que la résistance pour les antibiotiques : le céfotaxime (80,8%), le ciprofloxacine (87,6%), l'imipénème (94,5%), et la gentamicine (98,6%), était plus élevée par rapport à nos résultats, mais le nitrofurantoïne (8%) présente une résistance faible.

2.5.3. La résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae* dans le vagin

Le profil de résistance associé au vagin est l'amoxicilline/acide clavulanique (50%), le nitrofurantoïne et le fosfomycine (25%). Ces pourcentages de résistances sont les plus élevés pour ces antibiotiques dans le vagin. Alors que le taux de résistance faible a été enregistré dans le céfazoline, le céfotaxime et le chloramphénicol avec 12,5%, et les antibiotiques : la colistine, le ciprofloxacine, la gentamicine, le triméthoprim/sulfaméthoxazole, le céfoxitine, et l'imipénème ont pris le taux 0%.

Pour l'étude de nos collègues de Master 2020, ils ont enregistré un taux de résistance identique dans le ciprofloxacine (0%). Et ils ont trouvé une résistance élevée que ceux de notre résultat pour les antibiotiques: l'amoxicilline/acide clavulanique (94,44%), le céfazoline (42,85%) et le céfotaxime (40%), la colistine (34,48%) triméthoprim/sulfaméthoxazole (29,41%), la gentamicine (15,62%), et l'imipénème (11,76%). Alors qu'ils ont trouvé des faibles résultats pour le nitrofurantoïne (0%), le chloramphénicol (0%) et le fosfomycine (0%).

Selon l'étude de **Boubendir et al. (2018)**, ils ont trouvé une résistance proche de ceux de nos résultats pour le céfotaxime (17,9%); et pour l'amoxicilline/acide clavulanique (82,1%), le triméthoprim/sulfaméthoxazole (89,7%), la colistine (76,9%), et le céfazoline (59%), ils étaient considérés comme des taux élevé par rapport aux présents résultats.

Conclusion

Conclusion

La résistance bactérienne aux agents antimicrobiens est un problème d'importance croissante en pratique médicale. Parmi les bactéries multirésistantes, *K. pneumoniae* est la plus redoutable car elle est productrice de bêta-lactamases et possède d'autres mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques, en plus elle touche tous les groupes d'âges, la femme et l'homme et même en pédiatrie. Aujourd'hui elle est le chef de file des microorganismes responsables d'infections communautaires sévères et difficiles à traiter surtout les infections urinaires, où il apparaît dans l'urine majoritairement par rapport aux autres types de spécimens.

La présente étude rétrospective est effectuée sur 563 souches du *K. pneumoniae* isolées à partir de différents prélèvements pathologiques au laboratoire de Mirouh à Ferdjioua – Mila, entre mars 2020 et mars 2023, cet échantillon de données a permis de suivre l'évolution de la résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques dans la région de Mila.

L'évaluation de l'antibiorésistance des souches isolées aux antibiotiques recommandés pour le traitement des infections à *K. pneumoniae* a révélé une diminution de l'efficacité de plusieurs molécules testées. Nous notons une résistance importante à l'ampicilline, du fait que *K. pneumoniae* lui résiste naturellement et son utilisation thérapeutique en Algérie est inutile et constitue un échec thérapeutique. Le développement à l'amoxicilline/acide clavulanique, le céfazoline, le céfotaxime et le ceftazidime, est due à la production de différents enzymes qui dégradent ces molécules. Par ailleurs, l'imipénème, l'ertapénème, l'amikacine et la colistine restent les molécules les plus actives. De même, le pipéracilline/tazobactam, gentamicine et ciprofloxacine restent efficaces et peuvent être utilisés en antibiothérapie dans la région d'étude.

Enfin, l'augmentation continue de la résistance de *K. pneumoniae* aux antibiotiques pose un risque pour la santé parce qu'elle a restreint considérablement l'arsenal thérapeutique, et pour cela on propose les perspectives suivantes pour réduire la résistance:

- ✓ Limiter l'utilisation d'antibiotiques surtout de la famille carbapénème, qui sont alors devenus le dernier recours pour traiter les infections par cette souche bactérienne, car leur utilisation croissante et inadaptée provoque des nouveaux types de résistance spécifiquement l'apparition des carbapénémases. Ces dernières sont portées par les

plasmides et rendent les souches qui les possèdent résistantes aux carbapénèmes et dont *K. pneumoniae* est le représentant majeur.

- ✓ Isoler les malades porteurs de résistance aux carbapénèmases en milieu hospitalier sous antibiothérapie adaptée.
- ✓ Encourager une prescription plus judicieuse des antibiotiques sensibilisé pharmaciens et populations sur les dangers de l'auto-médicamentation.
- ✓ Mettre en place des mesures de prévention et de contrôle des infections dans les hôpitaux pour éviter la propagation de *K. pneumoniae* résistant aux antibiotiques.

D'autre part, il existe également des traitements alternatifs à l'utilisation d'antibiotiques pour lutter contre les infections causées par *K. pneumoniae* résistant aux antibiotiques tel que:

- ✓ L'utilisation de phages (phagothérapie), qui sont des virus qui infectent et tuent spécifiquement les bactéries, ainsi que l'utilisation de peptides antimicrobiens et de probiotiques.
- ✓ L'utilisation des plantes médicinales aromatiques à potentiel antimicrobien.
- ✓ Recherche et développement des nouveaux antibiotiques efficaces contre *K. pneumoniae* dans les environnements extrêmes et inhabituels.

Références

Références

- **Aarestrup, F.M. (2005).** The origin, evolution, and local and global dissemination of antimicrobial resistance. Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. 339-359.
- **Abdelhafid, B. (2018).** Multivariate Analysis of *Klebsiella pneumoniae* Antimicrobial Resistance Phenotypes Isolated from Different Clinical Specimens at Mila Hospital, Algeria. 4(1): 5-12.
- **Al-Baz, A.A., Maarouf, A., Marei, A., Abdallah, A.L. (2022).** Prevalence and Antibiotic Resistance Profiles of Carbapenem-Resistant *Klebsiella Pneumoniae* Isolated from Tertiary Care Hospital, Egypt. The Egyptian Journal of Hospital Medicine. 88(1): 2883-2890.
- **Al Doghaither, H., Gull, M. (2019).** Plasmids as Genetic Tools and Their Applications in Ecology and Evolution. In Plasmid. Intech Open. 70p.
- **Al-Zalabani, A., AlThobyane, O.A., Alshehri, A.H., Alrehaili, A.O., Namankani, M.O., Aljafri, O.H. (2020).** Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* antibiotic resistance in Medina, SaudiArabia. Cureus. 12(8).
- **Arafa, N., Smati, F., Scheftel, J. M., Meunier, O. (2009).** caracterisation phenotypique et genotypique de souches de *Klebsiella pneumoniae* subsp pneumoniae isolees a l'hopital universitaire de constantine, algerie. Sciences et Technologie. C, Biotechnologies. 43-49.
- **Arsalane, L., Zouhair, S., Amine, I.L., Louzi, L., Bouskraoui, M. (2012).** Infection urinaire du nourrisson (376 cas) dans un hôpital marocain (2009–2010) fréquence étiologique et prévalence de la résistance. Pathologie Biologie. 60(6): 90-91.
- **Ashurst, J.V., Dawson, A. (2021).** Medecine The Lies, The Greed and The Death. Order of the Good News.1115p.
- **Averhoff, B. (2004).** DNA transport and natural transformation in mesophilic and thermophilicbacteria. Journal of Bioenergetics and Biomembranes. 36(1): 25.
- **Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H. (2000).** Bactériologie Clinique. Ellipses Marketing. ISBN : 2729899081. 602p.

- **Azar, S.L., Ebadi, A.R. (2017).** Examen du schéma de sensibilité et de résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées à partir d'échantillons d'urine d'enfants atteints d'infections des voies urinaires de l'hôpital pour enfants de Tabriz en 2015. British Biomedical Bulletin. 5: 307.
- **Babakhani, S., Oloomi, M. (2018).** Transposons: les agents de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries. Journal of Basic Microbiology. 58(11): 905-917.
- **Balasubramanian, B., Benit, N., Agastian, P., Almaary, K.S., Dawoud, T.M., Elbadawi, Y.B., Aljowaie, R.M. (2021).** Carbapenemases producing *Klebsiella pneumoniae* from the pus of hospitalized patients: In-vitro antibiotic properties of Streptomyces against multidrug resistant infectious bacteria. Journal of Infection and Public Health. 14(7): 892-897.
- **Banu, H., Prasad, K.P. (2017).** Role of plasmids in microbiology. J. Aquac. Res. Development. 8(466): 2.
- **Bellini, C., Troilet, N. (2016).** Résistance aux antibiotiques: état des lieux en Europe et en Suisse et impact pour le praticien. Rev Med Suisse. 12: 1699-702.
- **Benzaid, F.A., Chiker, A., Rahal, M. (2017).** Enquête épidémiologique sur les infections urinaires nosocomiales causées par *Klebsiella pneumoniae* (Doctoral dissertation). 617-46.
- **Bindiya, E.S., Bhat, S.G. (2016).** Marine bacteriocins: A review. J. Bacteriol. Mycol. Open Access. 2(5): 00040.
- **Boerlin, P., Reid-Smith, R.J. (2008).** La résistance aux antimicrobiens: son émergence et sa transmission. Revues de recherche en santé animale. 9(2): 115-126.
- **Boukadida, J., Salem, N., Hannachi, N., Monastiri, K., Snoussi, N. (2002).** Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu. Archives de pédiatrie. 9(5): 463-468.
- **Bouvier, M., Demarre, G., Mazel, D. (2005).** Integron cassette insertion: a recombination process involving a folded single strand substrate. The EMBO journal. 24(24): 4356-4367.
- **Boyanova L. (2018)** Direct Gram staining and its various benefits in the diagnosis of bacterial infections. Postgraduate medicine. 130(1): 105-110.

- **Brock, T.D., Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. (2003).** Brock biologie des micro-organismes. UpperSaddle River (NJ): Prentice-Hall. 1019p.
- **Bryskier, A. (1999).** Antibiotiques. Agent antibactériens et antifongiques. Ellipses ; Paris. 54-436-445.
- **Bush K., Jacoby G.A. (2010).** Updated functional classification of β -lactamases. Antimicrobial agents and Chemotherapy. 54(3): 969-976.
- **Carle, S. (2009).** La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important. Pharmactuel. 42(2): 6-21.
- **Cavallo, J.D, Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., Garrabé, E. (2004).** Beta-lactams. EMC-Infectious Diseases. 1(3): 129-202.
- **Clewell, D.B. (2013).** Conjugaison bactérienne. Springer Science et médias d'affaires. 413p.
- **Coates, A., Halls, R.G., Hu, Y. (2011).** Novel classes of antibiotics or more of the same. British Journal of Pharmacology, 163(1): 184-194.
- **Daniel, L.H., Elisabeth, W.J. (2003).** Génétique: Les grands principes. (3.éd). Paris France: Dunod. 608p.
- **Del Grosso, M., Camilli, R., Barbabella, G., Blackman Northwood, J., Farrell, DJ., Pantosti, A. (2011).** Éléments de résistance génétique porteurs de sous-classes mef autres que mef (A) chez Streptococcus pyogenes. Agents antimicrobiens et chimiothérapie. 55(7): 3226-3230.
- **Deng, Y., Bao, X., Ji, L., Chen, L., Liu, J., Miao, J., Yu, G. (2015).** Resistance integrons: class 1, 2 and 3 integrons. Annals of clinical microbiology and antimicrobials. 14: 1-11.
- **Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., Cattoir, V. (2016).** Bactériologie médicale: techniques usuelles. 3^{ème} édition. 600p.
- **Denyer, S.P., Hodges, N.A., Gorman, S.P. (2008).** Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology. John Wiley and Sons. 494p.
- **Doi, Y., Wachino, J., Arakawa Y. (2016).** Aminoglycoside resistance: the emergence of acquired 16S ribosomal RNA methyltransferases. Infect. Dis. Clin. N. Am. 30: 532-37.

- Doménech-Sánchez, A., Hernández-Allés, S., Martínez-Martínez, L., Benedí, V.J., Albertí, S. (1999). Identification and characterization of a new porin gene of *Klebsiella pneumoniae*: its role in β -lactam antibiotic resistance. *Journal of bacteriology*. 181(9): 2726-2732.
- Dortet, L., Poirel, L., Nordmann, P. (2013). Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmases. *Feuillets de biologie*. 312: 1-13.
- Dublanchet, A. (2009). Des virus pour combattre les infections: la phagothérapie: renouveau d'un traitement au secours des antibiotiques. Favre. 247p.
- Dublanchet, A., Patey, O. (2017). La phagothérapie. Des virus pour combattre les infections. Renouveau d'un traitement au secours des antibiotiques. Lausanne: Favre SA. 7(2): 171-172.
- Fauchere, L., Avril, J. (2002). Microbiologie général et médicale. Ellipses. Paris. 365p.
- Fluit, A., Schmitz, F.J. (1999). Intégrons de classe 1, cassettes de gènes, mobilité et épidémiologie. *Journal européen de microbiologie clinique et des maladies infectieuses*. 18: 761-770.
- Galimand, M., Courvalin, P., Lambert, T. (2003). Plasmid-mediated highlevel resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae due to 16S rRNA methylation. *Antimicrob Agents Chemother*. 47: 2565-71.
- Georges, O., Jean-Michel, B., Pierre-Edouard, B., Albert, J., Fabienne, S., Michel, W., Fabrice, Z. (2009). Réanimation médicale. (1.éd). Elsevier Masson. 2000p.
- Gniadkowski, M. (2001). Evolution and epidemiology of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clinical Microbiology and Infection*. 7(11): 597-608.
- Guardabassi, L., Courvalin, P. (2006). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In: Aarestrup F.M. Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press: Washington. 1-18.
- Guerin, E., Cambray, G., Da Re, S., Mazel, D., Ploy, M.C. (2010). Les antibiotiques induisent la capture de gènes de résistance par les bactéries. *médecine/sciences*. 26(1): 28-30.

-
-
- **Gueudet, T., Richter, S., Szulc, M., Jehl, F. (2010).** Les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques: deux cas de *Klebsiella pneumoniae* produisant une céphalosporinase plasmidique. Médecine et maladies infectieuses. 3(40): 177-179.
 - **Hammami, S., Chakroun, M., Mahjoub, S., Bouzouaia, N. (2007).** Les infections du sujet age the elderly infections. Rev Tun Infectiol. 3: 1-8.
 - **Harbottle, H., Thakur, S., Zhao, S., White, D.G. (2006).** Genetics of antimicrobial resistance. Animal Biotechnology. 17(2): 111-124.
 - **Hooykaas, P.J.J., Roobol, C., Schilperoort, R.A. (1979).** Régulation du transfert des plasmides Ti d'*Agrobacterium tumefaciens*. Microbiologie. 110(1): 99-109.
 - **Hussain, T., Jamal, M., Nighat, F., Andleeb, S. (2014).** 3^{ème} Generation Cephalosporin Resistance in rd *Klebsiella pneumoniae* from Pus Samples. World Journal of Zoology. 9(4): 276-280.
 - **Jacoby, G.A. (2005).** Mechanisms of resistance to quinolones. Clinical infectious diseases. 41: 120-126.
 - **Jarlier, V., Nordmann, P. (2000).** Sensibilité aux antibiotiques: entérobactéries et β -lactamines. Précis de bactériologie clinique. ESKA, Paris, France. 649-665.
 - **Jeremy, W.D., Simon, F.P. (2010).** Molecular Genetics of Bacteria. (5.éd). Wiley-Blackwell. 400p.
 - **Jochen, G. (2020).** Genetik. (7.éd). Springer Spektrum Berlin, Heidelberg. 1036p.
 - **Joly, B., Reynaud, A. (2002).** Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic. 79-80-83.
 - **Kaiser, G. (2019).** Horizontal gene transfer in bacteria. Biology LibreText. 3(1): 3150.
 - **Karp, G. (2010).** Biologie cellulaire et moléculaire: Concepts and experiments. De Boeck Supérieur. 810p.
 - **Khalifa, A.B.H., Khedher, M. (2012).** Epidémiologie des souches de *Klebsiella spp.* uropathogènes productrices de β -lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien. Pathologie Biologie. 60(2): 1-5.

- **Kovács, A.T., Smits, W.K., Mironczuk, A.M., Kuipers, O.P. (2009).** Ubiquitous late competence genes in *Bacillus* species indicate the presence of functional DNA uptake Machinery. *Environ. Microbiol.* 11: 1911-22.
- **Kumari, P., Sharma, S., Guleria, A. (2022).** Transposable Elements and Epigenetic Mechanism: Implications and their Significance in Crop Improvement. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 11(03): 241-264.
- **Larabi, K., Masmoudi, A., Fendri, C. (2003).** Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis: à propos de 1930 cas. *Médecine et maladies infectieuses.* 33(7): 348-352.
- **Larcher, C. (2016).** Antibiogramme standard. 4p. <http://christelle.larcher.free.fr/wp-content/uploads/2016/11/antibiogrammestandard.pdf>
- **Lefebvre, B. (2013).** Rapport sur la surveillance de laboratoire des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes isolées au Québec entre octobre 2011 et décembre 2012. Laboratoire de santé publique du Québec. 1713-61.
- **Lemaoui, C. E., Layaida, H., Badi, A., Foudi, N. (2017).** Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Journal des Anti-infectieux.* 19(1): 12-19.
- **Liaid, A. (2014).** Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Thèse de magister, université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. 95p.
- **Licht, T.R., Wilcks, A. (2005).** Conjugative gene transfer in the gastrointestinal environment. *Advances in applied microbiology.* 58: 77-95.
- **Luciano, P., Jean Claude, L. (2015).** Microbiologie: biologie des procaryotes et de leurs virus. (1.éd). France: Dunod. 514p.
- **Mazaheri, N.R., Barton, M.D., Heuzenroeder, M.W. (2011).** Bacteriophage-mediated transduction of antibiotic resistance in enterococci. *Letters in Applied Microbiology.* 52(6): 559-564.
- **Merad, M., Merad, R. (2001).** Toxicité des antibiotiques. *Médecine du Maghreb.* 91.

- **Merlin, C., Toussaint, A. (1999).** Les éléments transposables bactériens. Société Française de Génétique. 15(8): 9.
- **Meyer, A. Deiana, J. Bernard, A. (2008).** Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. (2.éd). Biosciences et technique. 430p.
- **Meziani, M. (2012).** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques: Cas des entérobactéries et *pseudomonas*. Thèse de magister, université Mentouri, Constantine. 67p.
- **Michael, M., John, M. (2007).** Brock biologie de microorganisme. Pearson education France. 1047p.
- **Mohammadi, D. (2016).** Classification et mode d'action des antibiotiques https://mafiadoc.com/classification-et-mode-daction-desantibiotiquesdmohammedi_59f5888a1723dd262f4c908d.html.
- **Muylaert, A., Mainil, J. (2013).** Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur "contagiosité". In Annales de Médecine Vétérinaire. ULg-Université de Liège, Liège, Belgium.156: 109-123.
- **Nordmann, P., Carrer, A. (2010).** Les carbapénèmases des entérobactéries. Archives de pédiatrie 2010. 17: 154-162.
- **Novick, R.P. (1987).** Plasmid incompatibility. Microbiological reviews. 51(4): 381-395.
- **Padilla, E., Llobet, E., Doménech-Sànchez, A. (2010).** *Klebsilla pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. Antimicrob. Agents Ch. 54: 177-83.
- **Partridge, S.R., Tsafnat, G., Coiera, E., Iredell J.R. (2009).** Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. FEMS Microbiol. Rev. 33: 757-784.
- **Pérez-Moreno, M.O., Centelles-Serrano, M.J., Cortell-Ortolà, M., Fort-Galifa, I., Ruiz, J., Llovet-Lomberte, M.I., Picó-Plana, E., Jardí-Baiges. (2011).** Molecular epidemiology and resistance mechanisms involved in reduced susceptibility to Amoxicillin/clavulanic acid in *Klebsiella pneumoniae* isolates from a chronic care centre. International Journal of Antimicrobial Agents Spain. 37: 462-466.

- **Perry, J.J., Stanley, J.T., Lory, S., Grandadam, M. (2004).** Microbiologie: cours et questions de révision. Dunod. 880p.
- **Pinganaud, G., Rainfray, M. (2004).** Les infections urinaires chez les personnes âgées. NPG Neurologie-Psychiatrie-Gériatrie. 4(24): 15-21.
- **Ploy, M.C., Denis, F., Lambert, T. (2000).** Les intégrons: un système original de capture de gènes chez les bactéries. MS. Médecine sciences. 16(2): 255-259.
- **Ploy, M.C., Gassama, A., Chainier, D., Denis, F. (2005).** Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques. Immuno-analyse et Biologie spécialisée. 20(6): 343-352.
- **Ploy, M.C., Lambert, T., Couty, J.P., Denis, F. (2000).** Integrons: an antibiotic resistance gene capture and expression system. 483-487.
- **Point, U. (2018).** Le remède de la dernière minute: phagothérapie une thérapie prometteuse. Journal Algérien de Médecine. 26.
- **Pool, K. (2004).** Resistance to β -lactam antibiotics. Cellular and Molecular Life Science. 61: 2200-2223.
- **Pourbaix, A., Guérin, F. (2016).** Fosfomycine, place et intérêt dans un contexte de multirésistance. Journal des Anti-infectieux. 18(3): 85-97.
- **Prescott, H., Harley, J.P. Klein, D. (2007).** Microbiologie. (2.éd) française. De Boeck. 1137p.
- **Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D., Wiley, J.M., Sherwood, L.M., Woolverton, C.J. (2010).** Microbiologie. (3.éd). De Boeck. 1200p.
- **Queenan, A.M., Bush, K. (2007).** Carbapenemases: the versatile β -lactamases. Clin Microbiol. Rev. 20: 440-58.
- **Rahal, K., Belouni, R., Tali-Maamar, H., Boudouane, M., Missoum, M.F.K., Benslimani, A., Aboun, A. (2009).** Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 10th Evaluation Report, Project of the World Health Organization, People's Democratic Republic of Algeria. 18-123.

-
-
- **Rakotovao-Ravahatra, Z.D., Rafaramalala, S.S., Rakotondraoelina, L.M., Rakotovao, A.L., Rasamindrakotroka, A. (2022).** *Klebsiella pneumoniae* urinary tract infection seen in the laboratory of the University Hospital of Befelatanana. Archives of Microbiology and Immunology. 6: 284-288.
 - **Ravi, A., Avershina, E., Ludvigsen, J., L'Abée-Lund, T.M., Rudi, K. (2014).** Les intégrons du microbiote intestinal comme réservoirs de transmission des gènes de résistance aux antibiotiques. Pathogènes. 3(2): 238-248.
 - **Reiner, K. (2010).** Catalase test protocol. American society for microbiology. 1-6.
 - **Restrepo, A.D.F., Nieves, M.A.V., Takiff, H. (2017).** Molecular characterization of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients in a Public Hospital in Caracas, Venezuela. Enfermedades infecciosas y microbiología clinica. 35(7): 411-416.
 - **Robin, F., Gibold, L., Bonnet, R. (2012).** Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries: comment les identifier en pratique quotidienne. Revue Francophone des laboratoires. 445: 47-58.
 - **Rodriguez-Villalobos, H., Struelens, M.J. (2006).** Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu: implications pour le réanimateur. Réanimation. 15(3): 205-213.
 - **Rudy, L. (2017).** Résistance à la colistine chez les bactéries à gram-négatif. 15: 10-53.
 - **Salmon, D., Leport, C., Vilde, J.L. (1988).** Facteurs de sensibilité à l'infection et l'immunité chez le sujet agé. Médecine et Maladies Infectieuses. 18: 311-318.
 - **Scavizzi, M, Labia R, Petitjean O, Elbhar A. (2000).** L'antibiogramme de l'analyse des populations bactériennes à la thérapeutique. J Antibiotiques 2: 122-134.
 - **Schumann, W. (2013).** Biologie bakterieller plasmide. Verlag vieweg. 222p.
 - **Sheikhabagheri, B., Ghozati, F., Shapouri, R. (2022).** Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* Urinary Tract Infections and Determination of Minimum Inhibitory Concentration to Common Antibiotics in Zanjan City Hospitals, Iran. Acta Microbiologica Bulgarica. 38-1.
 - **Shintani, M., Sanchez, Z.K., Kimbara, K. (2015).** Genomics of microbial plasmids: classification and identification based on replication and transfer systems and host taxonom. Frontiers in Microbiology. 6: 242.

- **Singleton, P. (2005).** Bactériologie: pour la médecine, la biologie et les biotechnologies: cours. (6.éd). Parise France: Dunod. 542p.
- **Sinha, S., Redfield, R.J. (2012).** Natural DNA uptake by *Escherichia coli*. PLoS One. 7(4): 35620.
- **Skurnik, D. (2009).** Les intégrons: structure et épidémiologie. Antibiotiques. 11(2): 116-129.
- **Solbi, S. (2013).** Effet du repiquage de *Pseudomonas aeruginosa* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilités aux antibiotiques. Thèse de doctorat d'état, université de Mohammed V-Souissi, Rabat. 79p.
- **Sugawara, E., Kojima, S., Nikaido, H. (2016).** *Klebsiella pneumoniae* major porins OmpK35 and OmpK36 allow more efficient diffusion of β -lactams than their *Escherichia coli* homologs OmpF and OmpC. Journal of bacteriology. 198(23): 3200-3208.
- **Teghonong, J., Cecile, O. E., Callixte, Y., Loick, K., Dieudonne, A. (2020).** Phenotypic Characteristics of *Klebsiella pneumoniae* Extended Spectrum β -Lactamases Producers Isolated in Hospitals in the Littoral Region, Cameroon. European Journal of Clinical and Biomedical Sciences. 6(1): 9-13.
- **Thomas, C.M., Nielsen, K.M. (2005).** Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. Nat. Rev. Microbiol. 3: 711-21.
- **Tortora, G.J., Case, C.L., Funke, B.R. (2016).** Microbiologie introduction. (12^{éd}). France: Pearson. 810p.
- **Van Bambeke, F., Pharm, S. (2007).** Pharmacologie et Pharmacothérapie anti-infectieuse. Syllabus Natl Belge Pharmacol. 1-134.
- **Van hoek, A.H., Mevius, D., Guerra, B., Mullany, P., Roberts, A.P., Aarts, H.J. (2011).** Acquired antibiotic resistance genes: An overview. Front. Microbiol. 2: 203.
- **Villegas, M.V., Correa, A., Perez, F., Zuluaga, T., Radice, M., Gutkind, G. (2004).** Colombian Nosocomial Resistance Study Group. CTX-M-12 β -lactamase in a *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate in Colombia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 48(2): 629-631.

- **Walsh, T.R., Toleman, M.A., Poirel, L., Nordamann, P. (2005).** Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? Clin. Microbiol. Rzv. 18: 306-325.
- **Woegerbauer, M., Bellanger, X., Merlin, C. (2020).** Cell-free DNA: an underestimated source of antibiotic resistance gene dissemination at the interface between human activities and downstream environments in the context of wastewater reuse. Frontiers in Microbiology. 11: 671.
- **Wong, W.R., Oliver, A.G., Linington, R.G. (2012).** Development of antibiotic activity profile screening for the classification and discovery of natural product antibiotics. Chemistry Biology. 19(11): 1483-1495.
- **Wyres, KL; Holt, KE. (2016).** Génomique des populations de *Klebsiella pneumoniae* et clones résistants aux antimicrobiens. Tendances en microbiologie. 24 (12): 944-956.
- **Yala, D., Merad, A.S., Mohamedi, D., OuarKorich, M.N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb. 91(1): 5-12.
- **Zahar, J.R. et Moumile K. (2013).** *Escherihia coli*, definition, épidémiologie des résistances. Service de microbiologie hygiène, CHU Necker Enfants malades. 105p.
- **Zielenkiewicz, U., Ceglowski, P. (2001).** Mechanisms of plasmid stable maintenance with special focus on plasmid addiction systems. Acta BiochimicaPolonica. 48(4): 1003-1023.

Annexe

Annexe. Résultats de l'antibiogramme de 72 souches de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital «les frères Meghlaoui», Mila de juillet 2019 à mars 2023. Selon le sexe, l'âge et la nature du prélèvement.

N°	Date	Sexe	Age	NP	Antibiogramme		
					S	I	R
1	14/07/2019	F	38	PV	/	CIP/NA/PEF/CTX/ AMC/CZ/FOX/ AX/VA/SXT/P	NO
2	30/07/2019	F	28	PU	CIP/IPM	/	AMC/AX/CZ/FOX/ CT/AN
3	06/08/2019	F	ND	PU	FF/IPM/AK/NA/CZ/ CTX/CIP/PEE	CT	AMC/CX/SXT
4	02/09/2019	F	ND	PP	IPM/CIP/AK	SXT/RP/AC/ CZ/AMC	PEF/FF
5	08/09/2019	H	04M	PU	IPM/CIP/SXT/CZ/PEF	NA	OX/NA/AMC/FF
6	29/09/2019	F	ND	PU	NO/PEF/AK/CIP/ SXT/CTX/CZ/AMC	/	FF
7	30/09/2019	H	04M	PU	IPM	/	NO/CIP/CTX/FF/ NA/FOX/AK
8	01/10/2019	F	27	PU	NA/AK/NO/CN/SXT/IPM/ CTX/CIP/AMC/CZ	/	/
9	01/10/2019	F	1	PU	AK/IPM/CTX/NO	/	SXT/CIP/CZ/AMC
10	06/10/2019	F	48	PU	AK/CZ/FOX/CTX/ IPM/CIP/CN/CT/NO	/	SXT/NA/AMC
11	22/10/2019	F	ND	PV	CTX/IPM	/	AMC/NA/CIP/SXT/ NO
12	26/10/2019	H	84	PP	IPM	CXT	AMC/C/FOX
13	03/11/2019	H	ND	PU	TC/CN/PC/NA/ CIP/SXT/AK/AUG/ CZ/ATM/CTX/TOB/ATM	/	/
14	10/11/2019	F	46	PP	CTX/CIP/CZ/AK/SXT	/	AMC/TI/VA/AX
15	11/11/2019	F	8M	PU	CIP/FOX	NO	CZ/AMC/CTX/SXT
16	12/11/2019	F	ND	PV	FOX/FF	CTX	AMC/CIP/CZ/PI/ SXT/AK
17	14/11/2019	F	ND	PU	/	NO/AMC/FOX	CZ/CTX
18	21/11/2019	F	42	PP	AK/FOX/ CTX/CIP/CZ	/	SXT/AX/AMC

19	21/11/2019	F	ND	PV	IPM/CS/AK	/	FOX/CZ/CTX/AMC/ AX/SXT
20	21/11/2019	F	ND	PP	FOX/IPM/AK	/	AX/AMC/CZ/CTX/CIP/SXT
21	03/12/2019	F	27	PU	CZ/CIP/CTX/NO	NA	FOX/AMC/SXT/AX/CN
22	17/12/2019	F	16	PU	IPM/CTX/FOX/AX	/	AK/NO/NA/CZ/CIP
23	17/12/2019	F	74	PU	AK/IPM/CTX/CZ/CIP	/	RP/P/CT/NO/NA/FOX/AX
24	17/12/2019	H	55	PU	FOX/CZ/AK/NA/ CTX/CIP/IPM	NO	FF
25	17/12/2019	H	76	PU	FOX/CIP/IPM	/	FF/AX/AK/NA
26	17/12/2019	F	45	PU	IPM	NO	CZ/AX/FOX/CIP/ CTX/FF/NA/AK
27	18/12/2019	F	58	PP	CIP/CTX/IPM/CZ/NA	/	AX/P/PT/FF
28	22/12/2019	F	ND	PP	IPM/AK/CIP/NA	/	CTX/AX/CZ/PT/RA/P/FF
29	24/12/2019	F	44	PV	AX/CIP/IPM/CZ	/	NO/AX/OX/P
30	26/12/2019	F	35	PU	AN/IPM/CIP/CTX/CZ/AK	NO/CX/CEP	AMC/T/AMP/CZ/TE/PI
31	31/03/2020	F	31	PV	IPM/CIP/FOX	/	CZ/AX/VA/FF/AK
32	13/09/2020	F	30	PU	NA/GEN/COT/CIP/ AK/C/CTX/AT	NO/CX/CEP	AMC/T/AMP/CZ/TE/PI
33	22/09/2020	F	ND	PU	PF/CX/CZ	NO	CAZ/CEZ/PI/CTX/ AMC/TI/AT/AMP/NA/GEN/COT
34	28/09/2020	F	48	PU	CX/CTX/CZ/AT/AK/CIP/ GEN/COT/PI/PF/CAZ/CEP	CL/NA/NO/TOB	AMC/AMP/TE
35	29/09/2020	F	ND	PU	PF/CIP	/	CAZ/CEP/TE/NO/NA/ COT/CL/NA/GEN/AMC/ AT/CZ/CX/AMP/CTX/TI
36	04/10/2020	F	29	PU	TOB/CZ/CL/GEN/CTX/	CEP/CX/AK	PF/TE/PI/CAZ/ANC/TI/ AMP/AT/CIP/NO/NA/COT
37	03/11/2020	H	ND	PU	CIP/CTX/TOB	/	SXT/TI/NA/AMP/ANC/ NI/TE/AMC/CZ/CEP/CAZ/CX/CL
38	11/11/2020	H	2M	PU	CX/CTX/CIP/TOB/PI/C/ NI/AT/NA/AK	/	AMC/AMP/CAZ/TI/FF/COT
39	01/12/2020	F	ND	PU	AK	AMC/CIP/NA/AT	CTX/CZ/CX/CAZ/CEP/ COT/GEN/FF/TE/TI/RP
40	06/12/2020	F	59	PU	AMC/CZ/CEP/CAZ/CTX/ AK/NA/AT/COT/PI/CIP/GEN	CX	TE/AMP/TI/RP/NIT/FF

41	20/12/2020	H	13M	PU	CIP/CN/CL/AK/AMC	NIT	COT/FF/RP/TI/TE/AT/ CAZ/CZ/CTX/FOX/CX/CEP
42	22/12/2020	F	ND	PU	CTX/CIP/AK/PR	AMC/TE/FF/ NIT/COT	CX/CEP/FOX/GA/CZ/CL/P/TI
43	03/01/2021	F	ND	PU	CIP/AK/CC/CX/ AMC/CTX	CZ	NA/AMP/TI
44	13/01/2021	H	56	PP	PI/CAZ/AT/AK/GEN/ CL/CTX/AMC/FOX	FF/CIP/CZ	OX/RP/CD/P/VA/COT/TI
45	24/01/2021	H	ND	PU	CIP/CL/AK/NA/GEN/NIT/ AMC/AT/CTX/FOX/CAZ	CZ	COT/AMP
46	11/05/2021	F	ND	PU	CTX/CX/C/TA/AK/ AMC/NIT/GEN/CN/PF	/	FO/COT/AMP/CZ
47	08/06/2021	F	38	PU	AMC/CZ/AK/CTX/ CX/CIP/AT/FO/C/CL	/	GEN/COT/CEP/AMP
48	27/06/2021	H	5M	PU	FO/C/AMC/GEN/ CX/CIP/CL/AK	CTX	AT/AMP/CZ/COT/CTX
49	31/08/2021	F	ND	PU	AK/CL/C/AT/AMC/ CAZ/CZ/CTX/CX/CIP	/	AMP/SXT/TIC/TE/NA/NIT
50	21/09/2021	H	ND	PU	CIP/COT/CL/ CX/C/CAZ/CTX/AMC/CZ	AT/AK	FOS/NIT/TI/TE/AMP
51	22/09/2021	F	40	PU	AT/C/NA/AMC/CTX/CAZ/ COT/AK/CIP/CL/NIT	/	TE/TI/AMP/CX/CZ/FO
52	22/09/2021	H	ND	PU	C/NA/AT/CTX/CAZ/CX/ AMC/NIT/COT/AK/ GEN/CIP/CL	CZ	TE/TI/AMP/FO
53	26/10/2021	F	47	PU	AMC/AT/C/GEN/CL/AK	NA/CIP	CX/AMP/CAZ/CTX/ TI/TE/NIT/COT/FO
54	22/11/2021	F	38	PU	CAZ/CL/AK/COT/ GEN/FO/NA/AT/F	CX/C	AMC/CTX/AMP/CZ/TI/TE
55	23/12/2021	F	ND	PU	COT/CZ/CAZ/CTX/F/FO/ AK/C/AMC/CL/AT/CIP	/	AMP/NA
56	10/01/2022	H	ND	PP	F/C/CIP/CL	NA	TC/CTX/AMP/COT/AML/ GEN/CAZ/CZ/AT/TOB
57	16/01/2022	F	28	PU	TC/AML/AMP	/	AT/C/NA/P/CTX/CAZ/ CZ/GEN/COT/CIP/AK
58	23/01/2022	H	ND	HC	FOX/NA/C/CIP/AK/CL	AUG/AT	CZ/AML/AMP/CAZ/ TC/COT/CTX/GEN
59	20/02/2022	H	62	PP	CL/AK/C	/	CAZ/CZ/AMP/CIP/COX/GEN/ AT/NA/TE/CTX/AUG/TC
60	22/02/2022	F	ND	PU	CZ/CTX/CAZ/CIP/AT/ AK/AUG/GEN/CL/C/NA	/	TE
61	01/03/2022	H	ND	PU	AK/CL/C/AT/AMC/CAZ/ CZ/CTX/CX/CIP	AN	AMP/AUG/CTX/TC/CZ/CAZ/ AML/TE/AT/G/COT/CIP
62	15/03/2022	F	ND	PU	/	/	GEN/COT/CIP/NA/ AML/AMP/TE/CAZ

63	15/03/2022	F	ND	PU	CL/C	AUG/AK	CAZ/CZ/TC/AMP/TE/AMC/ AT/CCT/GEN/NA/CIP
64	30/03/2022	H	ND	PU	AML/TE/AT/TC/CTX/ AUG/CAZ/AMP	/	COT/C/F/CL/AK/GEN
65	12/06/2022	H	9	PP	AML/AMP/AUG/TC/AMC	/	AK/GEN/C/CTX/ATM
66	11/08/2022	H	3	PP	AMC/PC/AMX/SXT	CTX	AK/TOB/GEN/ATM/CIP
67	30/08/2022	F	11M	PU	C/AK/CL	AUG	CTX/TC/AML/CIP/SXT/ATM
68	02/09/2022	H	10	PP	GEN/AK/CL/ATM/C	CXT	SXT/CIP/AML/AUG/TC
69	15/01/2022	H	ND	PU	AK/CL/ATM	/	C/NA/SXT/CIP/TC/ AML/CN/CZ/AUG
70	24/01/2023	F	65	PU	CTX/AK/C/ATM	CIP/NA/PEF/ CTX/AMC/ CIP/CZ/FOX/AX/ VA/SXT/P	NA/CZ/AUG/AML/CN/SXT
71	06/02/2023	F	ND	PU	C/NA/ATM/CTX/ AUG/CIP/AK/SXT	/	CZ/TC
72	05/03/2023	H	7M	PU	TC/CZ/PC/CTX/ ATM/SXT/AUG	CIP/NA/PEF /AMC/ CIP/CZ/FOX/AX/ VA/SXT/P	AK

AMP : Ampiciline, AMC, AUG, AML, AX: Amoxiciline + Acide clavulanique AMX, AC, AML: Amoxiciline, AN, AK: Amikacine, ANC: Acide nalidixique/Colistine, AT, ATM: Aztréonam, C, CL : Chloramphénicol, CAZ : Ceftazidime, CIP : Ciprofloxacine, CL, CS : Colistine, CC, CD: Clindamycine ; CN: Céfalexine, CZ: Céfazoline, CTX: Céfotaxime, CCT : Ticarcilline/Acide clavulanique, F : Furanes, FO, FF : Fosfomycine, FOX, CX : Céfoxitine, CEP : Céfaloïne, IPM : Imipénème, NA: Acide nalidixique, NIT: Nitrofurantoïne, OX: Oxaciline, P : Pénicilline G, PEF, PF: Pefloxacine, PI: Acide pipémidique, RA: Rifampicine, RP: Pristinomycine, SXT, COT: triméthoprim/sulfaméthoxazole, TE,TC : Tétracycline, TI,TIC : Ticarcilline, TOB: Tobramycine, VA: Vancomycine, NO: Nitoxoline

Résumé

Résumé

Dans cette étude rétrospective menée de mars 2020 à mars 2023 dans la région de Mila. Un total de 563 souches de *Klebsiella pneumoniae* ont été isolées et testées pour leur résistance aux antibiotiques. Le taux de résistance le plus élevé a été enregistré dans la famille des pénicillines comprenant l'ampicilline (98,22%) et l'amoxicilline/acide clavulanique (69,57%). En revanche, le pourcentage de résistance le plus faible a été remarqué chez la famille des carbapénèmes pour les antibiotiques imipénème (5.08%) et ertapénème (6.58%), qui sont les derniers espoirs de traitement.

Mots clés: *Klebsiella pneumoniae*, antibiotiques, résistance, carbapénèmes, pénicilline.

Abstract

In this retrospective study conducted from March 2020 to March 2023 in Mila region. A total of 563 strains of *Klebsiella pneumoniae* have been isolated and tested for antibiotic resistance. The highest resistance rates were recorded in the penicillin family which includes ampicillin (98.22%) and amoxicillin/ clavulanic acid (69.57%). In contrast, the lowest percentage of resistance in the carbapenem family was recorded with imipenem (5.08%) and ertapenem (6.58%), the last hope for treatment.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, antibiotics, resistance, carbapenems, penicillin.

المخلص:

في هذه الدراسة التي أجريت بأثر رجعي من مارس 2020 إلى مارس 2023 في منطقة ميلّة. تم عزل 563 سلالة من *Klebsiella pneumoniae* واختبار مقاومتها للمضادات الحيوية. تم تسجيل أعلى معدل مقاومة في عائلة pénicilline التي تضم ampicilline (98.22%) و amoxicilline/acide clavulanique (69.57%). في المقابل، تم تسجيل أقل نسبة من المقاومة في عائلة carbapénème بنسبة 5.08% في imipénème و 6.58% في ertapénème ، وهما الأمل الأخير للعلاج.

الكلمات المفتاحية: الكلبسيلا الرئوية، المضادات الحيوية، مقاومة، carbapénèmes، pénicilline.