

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA- BEJAIA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Fondamentale

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Thème

Etude phénotypique des traits de virulence et de la sensibilité *vis-à-vis* de certains biocides chez les souches de *Klebsiella pneumoniae* d'origine environnementale

Présenté par :

LAIDI Céline & LARABI Yasmine

Soutenu le : 26/06/2023

Devant le jury composé de :

Mme CHIBANE Nouara	Univ. De Bejaïa	Présidente
Mme MAIRI Assia	Univ. De Bejaïa	Examinatrice
Mme BELHADI Karima	Univ. De Bejaïa	Encadrante

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

*Nous tenons à remercier tout d'abord notre Dieu **Allah**, le tout puissant de nous avoir donné la bonne santé, la patience, la force et la volonté pendant toutes ces années d'étude et pour réaliser ce travail.*

*Nous adressons notre vive gratitude et nos sincères remerciements à notre encadreur **M^{me} ZENATI Karima**, pour avoir bien voulu prendre en charge ce travail, on la remercie chaleureusement pour sa formidable gentillesse, pour son aide et pour ces précieux conseils.*

*Nous exprimons nos remerciements aux membres du jury, **Mme. CHIBANE Nouara et Mme. MAIRI Assia qui** nous ont honoré de leur présence et qui ont accepté d'examiner notre travail*

Nos profonds remerciements vont à l'ensemble du personnel du laboratoire de Microbiologie

Nous tenons à exprimer nos chaleureux remerciements à tous nos enseignants, qui nous ont accompagnés tout le long de notre cursus universitaire.

*Ces remerciements vont également son particulier au corps professoral et administratif de la faculté SNV de l'université de Bejaia **Abderrahmane Mira** pour tous les efforts fournis pour assurer aux étudiants une formation actualisée.*

Céline et Yasmine

Dédicaces

Je tiens à remercier le dieu tout-puissant de m'avoir accordé le courage, la patience et la volonté pour l'accomplissement de ce travail.



Du fond de mon cœur, je dédie humblement ce travail à tous ceux qui me sont chers, à tous ceux qui m'ont guidé jusqu'à ce jour mémorable.



À ma famille qui m'a donné une éducation précieuse, leur amour a façonné la personne que je suis aujourd'hui.



À mes chers parents qui m'ont guidé à travers les moments les plus difficiles de ce long parcours. Ma mère a été à mes côtés et m'a soutenu tout au long de ma vie, et mon père a sacrifié sa propre existence pour voir l'accomplissement de mes aspirations. Merci du fond du cœur, mes parents.



À mon cher frère Nassim et à ma chère sœur Fériel, qui m'ont toujours soutenu et encouragé pendant toutes ces années d'études. Votre soutien a été une lumière dans l'ensemble de mon parcours.



En mémoire de mon cher grand-père paternel et de ma très chère cousine Anaïs, vous êtes toujours présents dans mes pensées et dans mon cœur. Même dans ce moment de joie, mes pensées sont tournées vers vous. Reposez en paix.



✿ À mes admirables cousines Lisa, Manel et Sabine. ✿

✿ À tous mes adorables petits cousins, exception faite d'Amir, Nylia, Céline et Youba. ✿

✿ À mes plus adorables petits voisins, Silas et Ilyas. ✿

✿ À toute la famille LAIDI, sans exception, à tous ceux qui m'aiment et que j'aime. ✿

✿ À toutes mes adorables amies, Hanane, Saliha, Razika, Thiziri, Ines et Fatima. ✿

✿ À mon binôme Yasmine (mon frère). ✿

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers les sœurs jumelles et binômes Lynda et Nesrine pour leur aide, leur gentillesse et leur générosité.

« Je leur dédie mes réussites passées et à venir »

Céline

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

À mon père, merci pour ton travail, ta sagesse et ta générosité. Tu m'as guidé avec persévérance et dévouement. Tu m'as enseigné que rien n'est insurmontable avec le meilleur de soi.

À ma mère, ma confidente et mon modèle de résilience, je suis reconnaissant pour ta dévotion inlassable, ta tendresse et ta force inébranlable. Merci pour ton amour inconditionnel et ta foi en moi. Tu as façonné la personne que je suis.

À mes frères, Djahid, Mourad et Aimad, vous avez été mes modèles depuis le tout début. Votre courage, votre détermination et votre générosité m'ont inspiré à devenir la meilleure version de moi-même.

A mon frère Amine merci d'être ce frère exceptionnel, plein de bienveillance, d'humour et d'amour

A mes petits neveux Aksel, Ales, Masten et à ma nièce Leana, ma petite force je vous aime

A mon binôme et amie Céline (mon frère)

A toute ma famille ainsi que mes amies

Yasmine

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Introduction	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Taxonomie et description du genre	4
II. Biotope	5
III. Facteurs de virulence de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	9
IV. Biofilm.....	13
VI. Diversité des souches de <i>Klebsiella</i> sp selon leur pathogénicité.....	14
VII. Diversité de la résistance aux biocides et aux antibiotiques	16

Chapitre II : Partie Expérimentale

I. Origine des souches étudiées.....	19
II. Détection phénotypique des facteurs de virulence	19
II.1. Détection de la capsule.....	19
II.2. Test d'hyperviscosité	19
II.3. Recherche sur la production de lipase	19
II.4. Recherche sur la production de protéase	19
II.5. Recherche d'Hémagglutination	20

II.6 Résistance au sérum	20
II.7 Recherche d'hémolysine.....	20
II.8 Mise en évidence de la sécrétion de Sidérophores sur milieu gélosé CAS.....	20
III. Recherche de la formation de biofilm : Détection de la production de slime sur gélose au Rouge Congo Agar.....	20
IV. Etudes de l'efficacité du désinfectant BACTINYL SAVON LIQUIDE INSTRUMENTATION à usage hospitalier sur la croissance des souches de K. pneumoniae.....	21

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats.....	23
I.1 Détection de la présence de la capsule chez les souches de Klebsiella pneumoniae.....	23
I.2 Evaluation la production l'hypermucoviscosité	23
I.3 Evaluation la production lipase.....	24
I.4 Recherche la production de protéase	24
I.5 Recherche d'hémagglutinine	25
I.6 La résistance au sérum humain.....	25
I.7 Recherche d'hémolysine.....	25
I.8 Mise en évidence de la sécrétion de Sidérophores sur milieu gélosé CAS.....	26
I.9 Evaluation de la formation de biofilm Méthode du Rouge Congo Agar.....	26
I.10 Etudes de l'efficacité des désinfectants à usage hospitalier sur la croissance des souches de K.pneumoniae.....	27
Discussion	28
Conclusion	32

Références bibliographie

Annexes

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

BCP : Lactosé au Bromocrésol Pourpre

BLSE : β -Lactamases à Spectre Étendu

BMR : Bactéries Multirésistantes

Cacl₂ : Chlorure de calcium

CKp : Klebsiella pneumoniae classique

EBLSE : Entérobactéries Productrices de Bêtalactamase à Spectre Etendu

EPC : Entérobactéries Productrices de Carbapénèmase

EPS: Exopolysaccharides

Fim : Mutants Fimbriae

HvKp : Klebsiella pneumoniae Hypervirulente

KPC: Klebsiella pneumoniae Carbapenemase

KpSC: Klebsiella pneumoniae Species Complex

MarR: Multiple Antibiotic Resistance Regulator

MBP: Maintenance By Pass

MLST: Multilocus-Sequencing Typing

NDM-1: New Delhi Metallo-bêtalactamase

ST: Sporadic sequence Type

TCS : Systèmes de régulation à Deux Composants

Liste des figures

Figure 01 : Arbre phylogénétique basé sur le génome du complexe d'espèces <i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
Figure 02 : <i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
Figure 03 : Aspect des colonies de <i>K. pneumoniae</i> sur milieu gélosé (Mac Conkey).....	6
Figure 04 : Comparaison des infections causées par les différentes souches de <i>K. pneumoniae</i>	8
Figure 05 : Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de <i>K. pneumoniae</i>	9
Figure 06 : Représentation des différentes étapes de la formation d'un biofilm.....	13
Figure 07 : Caractéristique des souches dites « classique » et hypervirulentes.....	15
Figure 08 : Détection de la capsule par l'encre de chine.....	23
Figure 09 : « String test » positif sur une souche SMI 20 de <i>K. pneumoniae</i>	23
Figure 10 : Aspect de la production de lipase chez les souches Bar01 et SMI20.....	24
Figure 11 : Aspect de la production de protéase chez les souches S68 et S20.....	24
Figure 12 : Mise en évidence de l'hémagglutination.....	25
Figure 13 : Hémolysine négative.....	25
Figure 14 : Détection de la production de Sidérophores.....	26
Figure 15 : Aspect de colonies noires productrice de slime.....	26
Figure 16 : Résultat de la sensibilité des souches de <i>K.pneumoniae</i> au désinfectant...2	

Introduction

Introduction

Klebsiella pneumoniae est une entérobactérie à Gram-négatif largement répandue, que l'on trouve dans divers environnements tels que les sols, les eaux de surface, ainsi que dans le système digestif humain. En milieu hospitalier, cette bactérie se transforme en un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales, notamment des voies respiratoires et urinaires. Grâce à sa capacité à former des biofilms, cette bactérie présente la capacité de coloniser efficacement les tissus épithéliaux en particulier les voies respiratoires supérieures et le tractus digestif ainsi que les dispositifs médicaux invasifs (**Joseph, 2022**).

La virulence (du mot latin pour toxique) est définie comme la capacité d'un organisme à provoquer une maladie chez un hôte particulier. La virulence résulte de l'impact cumulé d'une ou de plusieurs propriétés spéciales, ou facteurs de virulence, qui servent à distinguer une bactérie pathogène (**Salah et al., 2019**). Les facteurs de virulence comprennent différentes adhésines, la production d'hémolysine, la résistance au sérum, la formation de biofilms et autres (**Wu et al., 2022**).

Au fil des années, *Klebsiella pneumoniae* a développé un arsenal de facteurs de virulence pour infecter et engendrer des dommages chez l'hôte (**Paczosa et al., 2020**). Il existe des souches pathogènes qui se distinguent des souches commensales par l'acquisition de plusieurs facteurs de virulences (**Ebongue et al., 2015**). En fonction des facteurs de virulence acquis et de leur tropisme tissulaire, ces souches ou pathogènes peuvent être à l'origine d'infection du tube digestif, des voies respiratoires, de la méningite, du sepsis et en particulier des infections des voies urinaires (**Wayenberg et al., 2013**).

Les biocides englobent divers produits tels que les désinfectants, les antiseptiques, les antibiotiques, les antiparasitaires, les pesticides, les insecticides et les raticides. Ils sont largement utilisés dans de nombreux domaines, notamment la médecine humaine et vétérinaire, l'industrie agroalimentaire et l'agriculture (**Carenco, 2017**). Le domaine médical est aussi un consommateur avéré de ce type de produits (**Gluczkiewicz, 2010**). Chaque année, les établissements de soins utilisent plusieurs milliers de tonnes de telles substances pour effectuer la désinfection des surfaces, de l'instrumentation médicale et comme antiseptiques. Ces produits jouent un rôle crucial dans la lutte contre les infections nosocomiales et la prévention de la transmission d'organismes infectieux (**Lasek, 2018**).

L'environnement hospitalier constitue un réservoir potentiel de microorganismes multirésistants souvent responsables des infections nosocomiales. Il est fortement contaminé par des microorganismes provenant tant de l'homme que de l'environnement spécifique à

l'établissement (**Chedia et al, 2008**). De nombreux facteurs de virulences ont été rapportés en Algérie au sein de l'environnement hospitalier notamment sur le plan génotypique tel que les adhésines, les Siderophore, les LPS, les toxines mais également sur le plan phénotypique tel que la capsule, l'effet bactéricide du sérum, l'hypermucoviscosité et la formation de biofilms (**Atmani et al., 2013**).

La situation la plus alarmante en ce qui concerne les entérobactéries est l'acquisition et la combinaison de facteurs de virulence et de résistance aux antibiotiques (**Iraz et al., 2015**). Les espèces bactériennes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, en particulier les souches de *K. pneumoniae*, expriment un niveau élevé de résistance acquise à la majorité des antibiotiques dont les B-lactamines. Les gènes codant pour ces enzymes sont transmis par des plasmides et coexistent avec des gènes de résistance à d'autres antibiotiques, d'où l'origine de la multirésistance des entérobactéries productrices BLSE et de carbapénèmases (**Braun et al., 2014 ; Cahill et al., 2019 ; Wu et al., 2022**). La virulence et la multirésistance aux antibiotiques des entérobactéries notamment *K. pneumoniae* devient un véritable problème de santé publique dans le monde entier notamment en Algérie (**Benbrahim et al., 2021**). La présente étude s'inscrit dans la campagne de la lutte et de la prévention contre les infections liées aux soins et présente comme objectif d'améliorer le niveau de connaissance sur le degré de pathogénicité des souches de *K. pneumoniae* productrices de carbapénémase et de BLSE isolées de l'environnement hospitalier de nos hôpitaux par

- Détection de certains facteurs de virulence
- Evaluation de la formation de biofilm
- Etudes de l'efficacité de certains désinfectants à usage hospitalier sur la croissance des souches de *K. pneumoniae*

Synthèse Bibliographique

I. Taxonomie et description du genre

I.1 Historique du genre Klebsiella

La première description du genre *Klebsiella* date de la fin du XIXe siècle. Un bacille capsulé fut isolé chez un patient présentant un rhinosclérome par Anton Von Frisch en 1882 (Loïc de Pontua et al., 2008). Au cours de la même année un microbiologiste allemand Carl Friedländer mit en évidence ce même microorganisme dans des poumons de patients décédés de pneumopathie. Quelques années après avoir été nommé bacille de Friedländer, le genre *Klebsiella* a enfin de compte été nommé par Treviscan (1885) en hommage au microbiologiste allemand Edwin Klebs et de ses nombreux travaux sur les maladies infectieuses (Long et al., 2017 ; Joseph, 2022).

I.2 Position taxonomique et composition spécifique du genre Klebsiella

L'histoire du genre *Klebsiella* est caractérisée par une taxonomie sans cesse remaniée et vivement débattue reflétant l'histoire florissante et pleine de rebondissements de la systématique bactérienne (Leroy, 2015).

K. pneumoniae est subdivisé en trois clusters à savoir *K. pneumoniae subsp. Pneumoniae*, *K. pneumoniae subsp. ozaenae* et *K. pneumoniae subsp. Rhinoscleromatis* (Jasim et Farhan, 2020). Le genre *Klebsiella* comprend actuellement une grande diversité d'espèces, y compris des espèces appartenant au complexe d'espèces *K. pneumoniae* (KpSC) et d'autres espèces de *Klebsiella* (*K. indica*, *K. spallanzanii*, *K. huaxiensis*, *K. oxytoca*, *K. grimontii*, *K. pasteurii* et *K. michiganensis*) qui partagent en moyenne seulement 90 % d'identité nucléotidique avec KpSC. L'utilisation de la technique de typage moléculaire par MLST (Multilocus Sequencing Typing), les espèces *K. terrigena*, *K. planticola* et *K. ornithinolytica* ont été transférées au genre *Raoultella* (Dong et al., 2022).

Il est maintenant clair que les isolats identifiés comme *K. pneumoniae* par des techniques d'identification microbiologique standard comprennent en fait sept taxa distincts étroitement apparentés connus sous le nom de complexe d'espèces *K. pneumoniae* (KpSC) (figure 1) : *K. pneumoniae sensu stricto* (Kp1), *K. quasipneumoniae subsp. Quasipneumoniae* (Kp2), *K. variicola subsp. Varicola* (Kp3), *K. quasipneumoniae subsp. Similipneumoniae* (Kp4), *K. variicola subsp. Tropica* (Kp5), *K. quasivariicola* (Kp6) et *K. africana* (Kp7) (Hennart et al., 2022 ; Hawkey et al., 2023).

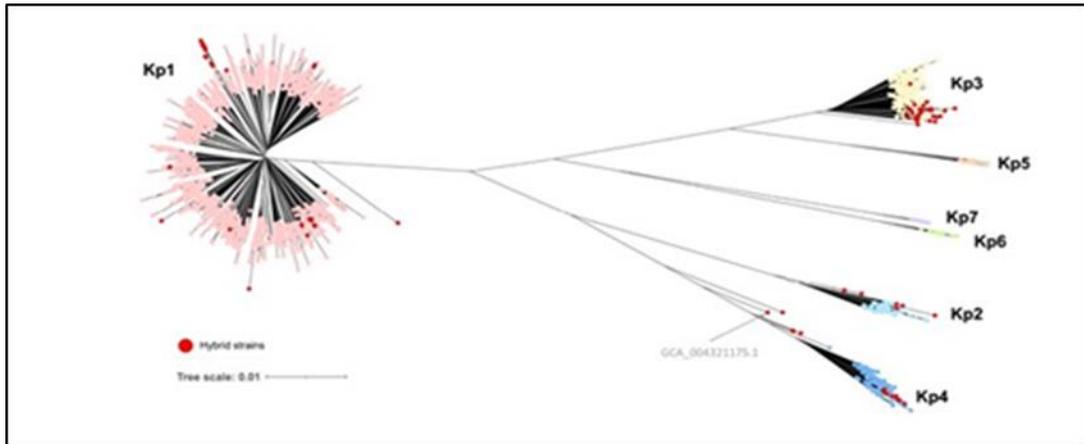


Figure 1 : Arbre phylogénétique basé sur le complexe d'espèces génomique de *Klebsiella pneumoniae* (Hennart et al.,2022)

II. Biotope

II-1 Caractères morphologiques

Klebsiella, appartient à la famille des Enterobacteriaceae qui renferme un large éventail de genres biochimiquement distincts, y compris l'espèce modèle *Escherichia coli* et les pathogènes humains notoires tels que *Salmonella*, *Yersinia*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Raoultella*, *Cronobacter*, etc. (Dong et al., 2022). La majorité des bactéries appartenant à la famille des Enterobacteriaceae partagent les caractéristiques communes suivantes : bacilles à Gram négatif en forme de bâtonnet non sporulé, immobiles chez *Klebsiella* ou mobiles par ciliature pérित्रiche, non exigeante en culture, aérobie-anaérobie facultatifs avec un métabolisme fermentatif, des activités catalase et nitrate réductase positive (Jasim et Farhan, 2020).



Figure 2 : *Klebsiella pneumoniae* (Ricard, 2021)

II.2 Habitat

K. pneumoniae peut survivre dans une multitude de niches écologiques, à la fois libres et associées à l'hôte (Wyres et al., 2020). C'est une bactérie ubiquitaire qui peut être retrouvée dans divers habitats de l'environnement (sols, eaux, végétaux) en tant que saprophyte (Wang et al. 2020). Elle est également connue pour coloniser les surfaces muqueuses des animaux et des humains au niveau des voies nasopharyngées et du système digestif comme commensale. C'est un pathogène opportuniste, à l'origine de nombreuses infections nosocomiales et communautaires et peut être associée à plusieurs épidémies liées à la contamination de l'environnement de soin (Joseph, 2022). Les principaux réservoirs pathogènes de *Klebsiella* se trouvent au niveau du tractus gastro-intestinal et au niveau des mains du personnel hospitalier (Pavageau, 2017).

II.3 Caractères cultureux

K. pneumoniae se développe sur les milieux de culture d'isolement pour entérobactéries à savoir Drigalski, Hektoen, Mac Conkey, Eosine bleu de méthylène (EMB) (Gadou, 2019), mais également sur gélose lactosé au bromocrésol pourpre (BCP) et sur milieu sélectif (Rambach ou ChromAgar). Après une incubation de 18 à 24 h à 37°C, les colonies sont d'un diamètre de 3 à 4 mm, lisses, bombées, brillantes, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine (Ferrand, 2022).

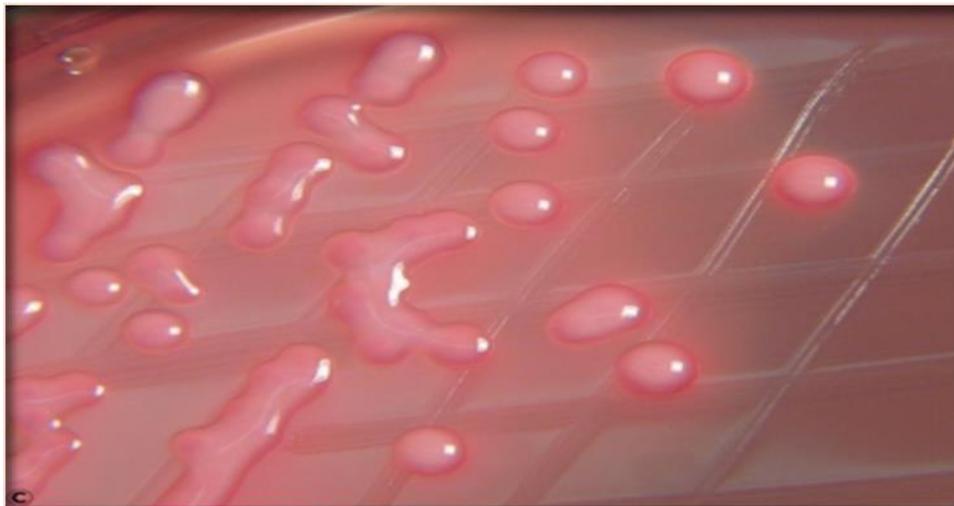


Figure 3 : Aspect des colonies de *K. pneumoniae* sur milieu gélosé (Mac Conkey) (Ricard, 2021)

II.4 Caractères antigéniques et infectieux

Klebsiella pneumoniae partage des antigènes communs avec d'autres entérobactéries, à l'exception de l'antigène flagellaire en raison de son incapacité à se déplacer. Les antigènes présents comprennent les antigènes O ou somatiques, les antigènes capsulaires (K) et les antigènes d'adhérence également appelés fimbriae (**Gadou, 2019**).

K. pneumoniae est un pathogène opportuniste responsable d'infections communautaires et de diverses infections associées aux soins, en particulier celles acquises à l'hôpital, connues sous le nom d'infections nosocomiales (**Gadou, 2019**). Ces infections peuvent entraîner des pneumonies, des infections urinaires, des infections cutanées et des bactériémies (**MERCIECCA, 2022**). Elle fait partie du groupe de pathogènes ESKAPE (*Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa et Enterobacter*), genres et espèces les plus fréquemment retrouvés parmi les souches cliniques multi-résistantes (**Wyres and Holt, 2018; Wyres et al., 2020**).

La majorité des infections à *Klebsiella pneumoniae* sont causées par des souches dites "classiques", Il s'agit du sous-type le plus courant des souches de *K. pneumoniae* et qui a acquis une notoriété accrue en raison de sa capacité à développer une multirésistance aux antibiotiques (**Alharbi et al., 2023**).

Contrairement aux souches "hypervirulentes" qui peuvent provoquer des infections chez des individus immunocompétents en dehors de l'environnement hospitalier (**MERCIECCA, 2022**). Les patients infectés présentent plusieurs sites d'infection et/ou développent une propagation métastatique ultérieure, ce qui est un phénomène rare pour les autres membres de la famille des Enterobacteriaceae (**Russo et Marr, 2019**).

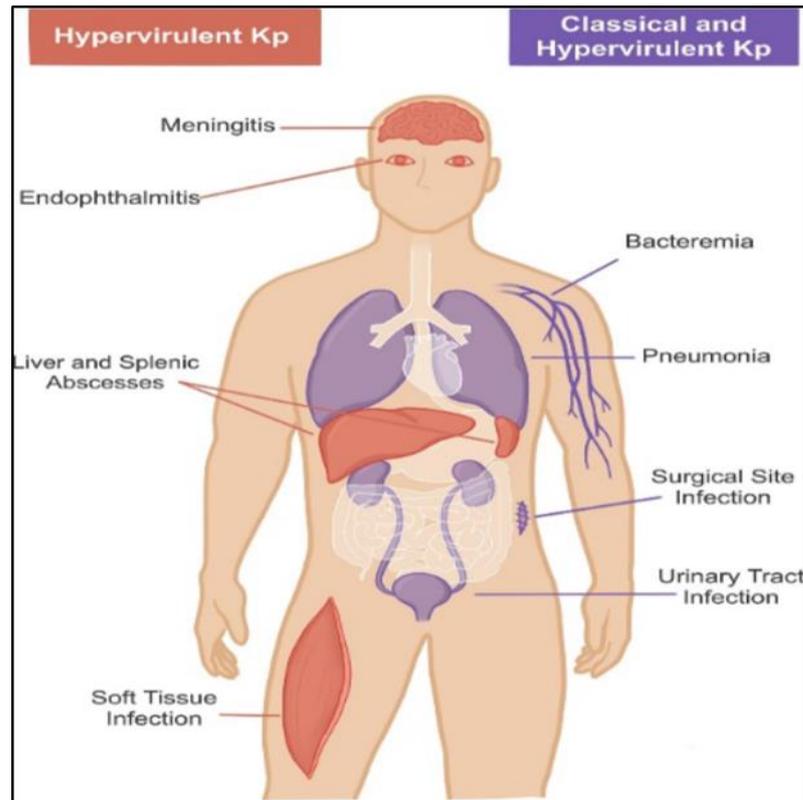


Figure 4. Comparaison des infections causées par les différentes souches de *K. pneumoniae*. Par opposition aux souches classiques, les souches hypervirulentes provoquent des infections communautaires prenant la forme d’abcès hépatiques, d’endophtalmies, de méningites ou encore d’infections des tissus mous (**Gauche / Rouge**). Dans des cas plus fréquents d’infections acquises à l’hôpital, les souches à la fois classiques (englobant les multi-résistantes) et hypervirulentes, peuvent engendrer chez l’Homme des bactériémies, des infections urinaires, des pneumonies ou encore des infections de plaies opératoires (**Droite / Violet**) (D’après Gonzalez Ferrer et al., 2021).

II.5 Génétique

Les génomes typiques de *K. pneumoniae* ont une taille de ~5-6 Mbp. et codent pour environ 5 000 à 6 000 gènes, la majorité de ce génome est donc constitué d’éléments variables ; il existe donc une grande variabilité intra-espèce. Ce pool de gènes variables, défini comme le génome accessoire pourrait être à l’origine de la diversité de phénotype observée parmi les isolats cliniques, expliquant l’efficacité de certaines souches à générer des infections (Wyres et al., 2020).

Une partie de ce génome accessoire est composée de gènes et d’îlots génétiques acquis par la bactérie via des transferts horizontaux, ainsi que d’éléments génétiques portés par des plasmides conjugatifs. Ces éléments mobiles permettent un « saut dans le temps » au niveau

évolutif avec une acquisition rapide de propriétés telles que des résistances antimicrobiennes, des traits de virulence ou des voies métaboliques permettant de s'adapter à un nouvel environnement (Joseph, 2022). Le génome accessoire fournit ainsi de nombreuses fonctions susceptibles d'aider la bactérie dans des processus spécifiques, et notamment pour la survie et la colonisation des sites infectieux (Martin and Bachman, 2018).

Cependant, une part importante des fonctions codées par le génome accessoire reste méconnue (Holt et al., 2015). Il est important de souligner que les déterminants de la pathogénicité de *K. pneumoniae* sont présents à la fois sur le génome accessoire mais également dans le core génome de la bactérie (Martin and Bachman, 2018).

III. Facteurs de virulence de *Klebsiella pneumoniae*

La virulence (du latin vénéneux) est définie comme la capacité d'un organisme à provoquer une maladie chez un hôte particulier. La virulence résulte de l'impact cumulé d'une ou plusieurs propriétés particulières, ou facteurs de virulence, qui permettent de distinguer les agents pathogènes potentiels des souches inoffensives. Les facteurs de virulence comprennent différentes adhésines, la production d'hémolysine, la résistance au sérum et la formation de biofilm, l'hypermucoviscosité, la capsule, les Siderophore, les toxines et les LPS (Hassan et al., 2011).

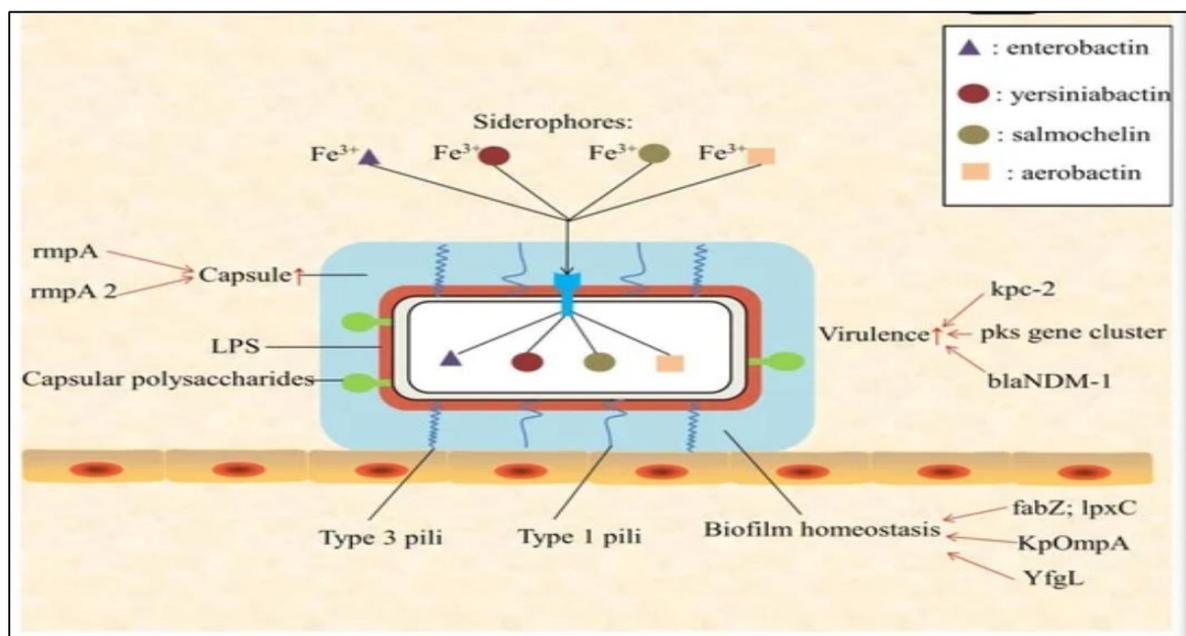


Figure 5: Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de *K. pneumoniae* (Wang et al., 2020).

III.1 Facteurs liés à la paroi

Deux types d'antigènes sont exprimés à la surface de *K. pneumoniae*. Ces deux antigènes contribuent à la pathogénie de cette bactérie. Le premier est l'antigène "O" qui est le composant du lipopolysaccharides et dont 9 types ont été identifiés. Le second est l'antigène capsulaire (K), un polysaccharide capsulaire dont 82 ont été décrits et 77 caractérisés (PAVAGEAU, 2017).

III.1.1 La capsule

La capsule est un facteur de virulence crucial qui peut protéger les bactéries de la phagocytose et inhiber la réponse immunitaire de l'hôte (Strakova et al., 2021 ; Huang et al., 2022). Elle donne aux colonies sur gélose une apparence plus ou moins muqueuse caractéristique. Sur les 82 antigènes capsulaires, 77 constituent une base de reconnaissance internationale et celles qui expriment les antigènes K1 et K2 sont considérées comme les plus virulentes (Wyres et al., 2020). Les souches de sérotype K1 sont associées au développement d'abcès hépatiques et à des complications métastatiques, notamment en Asie (PAVAGEAU, 2017).

III.1.2 Lipopolysaccharides (LPS)

Les lipopolysaccharides sont des composant essentiel de la membrane externe de Klebsiella, joue un rôle crucial en tant qu'endotoxine. Ils sont ancrés profondément dans la membrane bactérienne (Junior et Franco, 2020). La structure des LPS comprend trois composants essentiels : un composant lipidique A qui assure l'ancrage dans la membrane bactérienne, un noyau oligosaccharidique et une chaîne latérale terminale appelée antigène O (Riwu et al., 2022).

Le lipide A correspond à l'endotoxine des bactéries à Gram négatif et participe au pouvoir pathogène. Sa libération massive dans la circulation au cours des bactériémies conduit au choc endotoxinique (Petitjean et Schlemmer, 1997). Les différentes répétitions de l'antigène O expliquent les variations structurelles des LPS (Opoku-Temeng et al., 2019). Le rôle principal du LPS in vivo est de protéger *K. pneumoniae* du pouvoir bactéricide du sérum (Kassis-Chikhani, 2012). Ce dernier confère à la bactérie une résistance contre les mécanismes de destruction du système immunitaire, notamment ceux impliquant le complément (Huynh et al., 2017).

En l'absence de ce gène, les souches de *K. pneumoniae* sont moins capables de provoquer des infections des voies urinaires, des pneumonies et des septicémies (**Remya et al., 2019**).

III.1.3 Les adhésines

Les adhésines sont des molécules présentes à la surface des cellules bactériennes qui favorisent l'adhérence ou la fixation à d'autres cellules (**Riwu et al., 2022**). Les adhésines sont des molécules qui jouent un rôle important dans la défense primaire de l'hôte contre divers agents pathogènes (**Zhang, 2010**).

Les propriétés d'adhésion des entérobactéries sont généralement médiées par différents types de pili ou fimbriae. Les pili ou fimbriae sont des structures protéiques non flagellaires et filamenteuses formant des appendices à la surface des bactéries qui ont la capacité d'agglutiner les érythrocytes (**Gadou, 2019**). Les deux types de fimbriae les plus rencontrés chez *K. pneumoniae* sont le type 1 et le type 3. Ils sont formés de différentes sous-unités, *K. pneumoniae* les utilise à la fois pour se fixer aux cellules épithéliales hôtes (**Venkitapathi et al., 2022**).

Cette étape d'adhésion est cruciale pour la pathogénèse bactérienne, car elle est nécessaire à la fois pour le développement d'une infection et pour la colonisation d'un nouvel hôte (**Riwu et al., 2022**).

III.1.3.1 Fimbriae ou pili

Les fimbriae sont de fines structures en forme de filament présentes à la surface des bactéries, elles sont considérées comme des facteurs de virulence importants qui aident les bactéries à se fixer à des surfaces spécifiques de l'hôte (**Riwu et al., 2022**).

K. pneumoniae possède deux types de fimbriae essentiels, à savoir les fimbriae de type 1 (codés par l'opéron fimBEAICDFGH) et de type 3 (mrkABCDEF / mrkABCDEF) (**Kuo et al., 2023**), qui jouent un rôle dans la pathogénèse de la bactérie en se fixant aux surfaces biotiques (telles que l'urothélium de l'hôte humain) et abiotiques (comme les cathéters urinaires). Ces fimbriae permettent d'amorcer le processus de colonisation, de formation de biofilm et d'invasion bactérienne (**Karampatakis et al., 2023**).

III.2 Facteurs liés à la sécrétion

III.2.1 Les Sidérophores

Les Sidérophores sont des petites molécules sécrétées par la bactérie qui ont une forte affinité pour le fer III. Leur rôle est essentiel pour la croissance et la prolifération des bactéries car l'acquisition de fer est indispensable à leur survie. Différents types de Sidérophores, tels que l'entérobactine, la yersiniabactine, la salmochéline et l'aérobactine, sont exprimés par *K. pneumoniae* (**Riwu et al 2022**).

Les Sidérophores sont également des éléments indispensables pour la pathogénèse de *K. pneumoniae*. Ils peuvent avoir un impact direct sur l'immunité de l'hôte en régulant l'équilibre du fer cellulaire, en favorisant la propagation bactérienne, ainsi que la régulation de la production de nombreux facteurs de virulence (**Namikawa et al, 2022**).

III.2.2 L'Hypermucoviscosité

L'hypermucoviscosité est un phénotype observé chez certaines souches de *Klebsiella pneumoniae* il a été associée à l'évasion immunitaire et à l'hypervirulentes, il est considérée comme une caractéristique clé d'identification des souches hypervirulentes (**Dey et al, 2022**). Au fil du temps, l'hypermucoviscosité a été expliquée par une production excessive de polysaccharide capsulaire, mais de récentes études ont montré que la capsule et l'hypermucoviscosité ont des rôles différents dans la pathogénèse (**Mike et al, 2021**).

III.2.3 Toxine

Les bactéries pathogènes peuvent sécréter des toxines qui peuvent avoir des effets cytostatiques ou cytotoxiques sur les cellules hôtes, Les toxines représentent un effet direct et indirect dont le microbiote peut affecter les cellules hôtes (**Strakova et al, 2021**). *Klebsiella pneumoniae* présente différente toxine tel que l'hémolysine α , les cyclomodulines et la colibactine (**Faïs et al., 2018 ; Nougayrède et al., 2005 ; Galmiche et Boquet, 2001**).

IV. Quorum Sensing Systems

Le quorum Sensing (QS) est un mécanisme complexe qui permet la communication entre bactéries d'une même espèce ou entre espèces différentes au sein d'une même communauté (**Liu et al., 2020**). Le QS permet aux bactéries de synchroniser leurs

expressions génétiques en fonction de leurs densités cellulaires via la production, la libération, l'accumulation et la détection des petites molécules signal appelées auto-inducteurs (HAYEK, 2018).

Les AI (auto-inducteurs), dont la concentration est proportionnelle au nombre de bactéries, servent d'indicateur moléculaire de la densité bactérienne. À partir d'une certaine concentration de ces molécules, une réponse cellulaire est enclenchée par l'activation et la répression de gènes efficaces seulement lorsque la densité cellulaire est importante, pour mettre en place des phénotypes particuliers, comme la formation de biofilm, la virulence, la production d'exopolysaccharides, d'exoprotéases et de Sidérophores (Mion et al., 2019). Ce qui permet aux bactéries de libérer des facteurs de virulence et de causer des dommages à l'hôte (Rachma et al., 2022).

V. Biofilm

Les biofilms sont des amas bactériens irréversiblement attachés à une surface ou entre des cellules, enveloppés par une matrice composée d'exopolysaccharides (EPS), de protéines, d'ADN extracellulaire et d'un canal d'eau (Elkheloui et al., 2022). La capacité de *K. pneumoniae* à former des biofilms sur des surfaces biotiques et abiotiques est liée à la présence de divers facteurs de pathogénicité faisant partie du core génome, notamment la production de fimbriae (pili F, type I (Fim) type III (Mrk)) impliqués dans les étapes initiales d'adhésion (MERCIECCA, 2022).

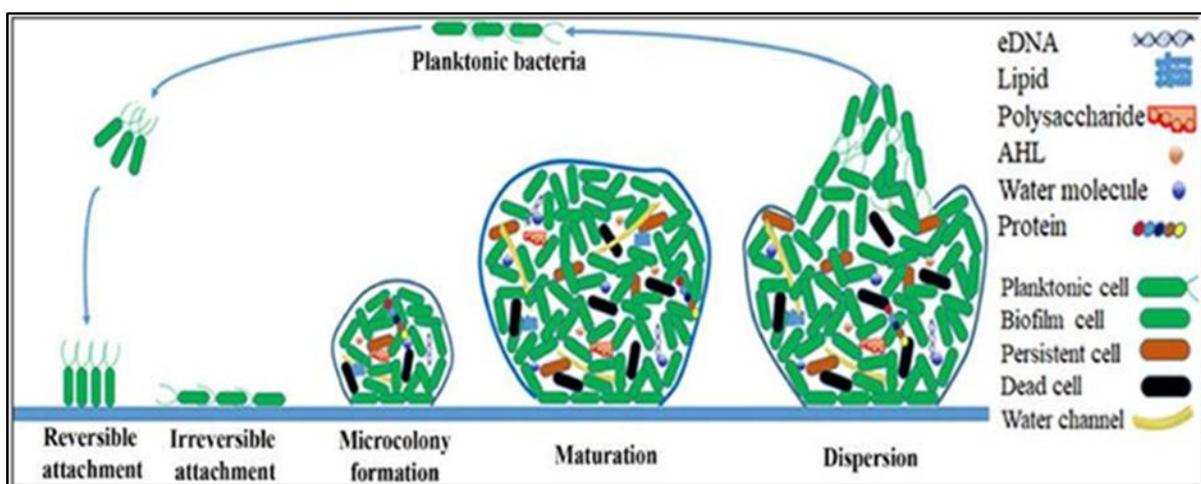


Figure 6 : Représentation des différentes étapes de la formation d'un biofilm (Rather et al., 2021)

La préoccupation principale des hôpitaux en regard des biofilms est directement liée à leur implication dans diverses pathologies infectieuses. Depuis les travaux pionniers de William Costerton dans les années 1980, une littérature abondante documente la problématique des infections à biofilms (**Vanzielegem et Delmée, 2020**). Les bactéries formatrices de biofilm proviennent généralement de la flore du patient, de l'environnement ou de la microflore exogène transitoire véhiculée par le personnel hospitalier (**Seghir et al., 2017**).

Les biofilms bactériens colonisent également l'environnement hospitalier, créant ainsi des réservoirs favorables à la croissance des micro-organismes. Ces réservoirs font partie d'un cycle de contamination (**Otter et al., 2013**) qui implique les patients, les agents pathogènes ainsi que des vecteurs tels que l'air, l'eau, le personnel médical et les dispositifs médicaux (**Vanzielegem et Delmée, 2020**).

VI. Diversité des souches de *Klebsiella* sp selon leur pathogénicité

Toutes les souches de *K. pneumoniae* ne sont pas en mesure de survivre chez l'hôte et de causer des infections. Leur capacité physiopathologique ne dépend pas uniquement de la susceptibilité de l'hôte, mais également des différents traits génétiques de chaque souche (**Joseph, 2022**). Les souches de *K. pneumoniae* ont été rassemblées selon un autre critère, le pouvoir pathogène. Cela a permis de déterminer deux phénotypes : les souches « classiques » (cKp) et les souches hypervirulentes (hvKp) (**Moutel et al., 2022**).

Pour les souches « classiques » (cKp) Outre le fait d'entraîner une dysbiose intestinale, une antibiothérapie permet de favoriser la sélection et la prolifération des clones de cKp résistants aux antibiotiques (**Joseph, 2022**). Cette antibio-résistance est à la fois intrinsèque, due à la présence de gènes chromosomiques, et acquise par le transfert horizontal d'éléments génétiques mobiles tels que des plasmides conjugatifs et des transposons. Ces mécanismes permettent à la bactérie de développer des résistances à plusieurs antibiotiques, notamment aux β -lactamines, et aux carbapénèmes (**Martin and Bachman, 2018**).

Les souches de *K. pneumoniae* capables de résister à au moins 3 classes d'antibiotiques en plus de l'ampicilline sont donc considérées comme « multi-résistantes » (**Wyres et al., 2020; Gonzalez-Ferrer et al., 2021**). L'émergence et la diffusion de souches cKp résistantes aux antibiotiques sont des préoccupations majeures ces dernières années en raison des difficultés de traitement générées (**Joseph, 2022**).

La virulence accrue des souches hypervirulentes (hvKp) résulte de l'expression de multiples facteurs de virulence, notamment la production importante de polysaccharides capsulaires associés au sérotype K1 ou K2 qui confèrent un phénotype hypermuqueux aux colonies bactériennes (**Joseph, 2022**). Une caractéristique désormais considérée comme déterminante pour définir le statut d'hvKp est la présence d'au moins un plasmide (pK2044 ou pLVPK) ou élément génétique mobile porteurs de gènes de virulence (**Russo et al., 2018**).

En 2007, **Fang** et ces collaborateurs ont identifié 177 isolats cliniques de souches de *K. pneumoniae* considérés comme hypervirulents et ont montré que 100% des isolats étaient sensibles à plusieurs classes d'antibiotiques (carbapénème, céphalosporines de 3^e génération, et aminoglycosides) (**Fang et al., 2007**). Cependant, l'émergence récente de nouvelles souches à la fois multi-résistantes et à virulence augmentée fait peser la crainte de survenue d'impasses thérapeutiques (**MERCIECCA, 2022**). La convergence a conduit à l'apparition de bactéries dites « superbugs » présentant les deux traits et qui sont actuellement l'une des grandes préoccupations au niveau mondial (**Lee et al., 2017**).

Un scénario est envisagé afin d'expliquer cette convergence de phénotypes multi-résistants et hypervirulents : des souches multi-résistantes auraient acquis différents facteurs de pathogénicité spécifiques aux hypervirulents (**Wyres et al., 2020**). Cette hypothèse serait privilégiée du fait de la grande plasticité des génomes des souches multi-résistantes qui seraient plus à même d'acquies de nouveaux gènes via des transferts horizontaux (**Gu et al., 2018**).

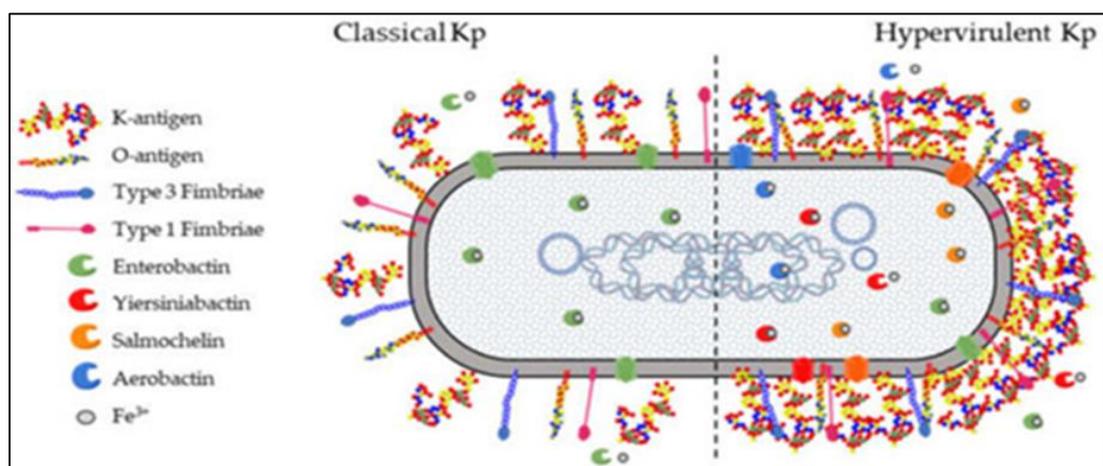


Figure 7: Caractéristique des souches dites « classique » et hypervirulentes (**Arato et al., 2021**)

VII. Diversité de la résistance aux biocides et aux antibiotiques

Les biocides, y compris les antiseptiques et les désinfectants, ont été largement employés dans les hôpitaux pour assainir une variété de dispositif et réduire la présence de microorganismes (**Dejoies, 2022**). Plusieurs substances peuvent remplir ce rôle qu'elles soient chimiques ou biologiques (**Bouvattier et al., 2020**). D'un point de vue chimique, ce sont des métaux lourds (cuivre, mercure, argent), des molécules organiques (alcools, aldéhydes, esters), des complexes organométalliques (organo-étains), des composés minéraux (à base d'iode ou de chlore) ou encore des polymères qui sont utilisés en tant que biocides. D'un point de vue biologique, ces substances peuvent être inertes (dérivées de certaines toxines de microorganismes) ou autonomes (microorganismes et certains parasite, prédateurs des bactéries) (**Lasek, 2018**).

La majorité des biocides utilisés dans le secteur des soins sont classés dans la catégorie des désinfectants du RPB (du Règlement Biocides) (**Slimani, 2018**). Ils sont classés en 4 groupes à savoir les désinfectants, produits de protection du développement microbien et algal, produits de lutte contre les nuisibles et autres produits biocides. Ils couvrant 22 types de produits et chaque type correspond à un usage spécifique pour lequel la substance active peut être utilisée (**Boulben et al., 2019**).

La résistance aux antiseptiques et aux biocides constitue un problème majeur dans l'environnement de soin (**Vijayakumar et Sandle, 2018**). Ils agissent sur les flores commensales de tissus vivants pour empêcher leur pénétration dans l'organisme ou leur transmission à des tiers ou dans l'environnement (**Dejoies, 2022**). On peut distinguer deux catégories de résistance aux antiseptiques et aux biocides : la résistance intrinsèque et la résistance acquise (**Carenco, 2017**). La résistance intrinsèque correspond à une propriété préexistante et inhérente à une espèce particulière, qui conduit à une baisse de sensibilité ou à une insensibilité complète (**Hartemann et al., 2019**).

La résistance aux bêta-lactamines est principalement causée par la dégradation du noyau bêta-lactame des antibiotiques (**Balandraud, 2021**). Depuis leur découverte en 1983, les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) se sont largement répandues à travers le monde, avec des taux d'isolement variables même au sein d'une même institution hospitalière. Ces bactéries multirésistantes sont responsables d'infections graves (**Sarr et al., 2021**). La transmission des EBLSE entre individus en milieu hospitalier est principalement due au personnel soignant, qui peut être contaminé par des patients ou des

surfaces contaminées (**Hendrik et al., 2015**). Cependant, il est important de noter que des sources environnementales telles que les instruments médicaux, les savons, et même les siphons d'évier ont également été occasionnellement impliqués dans la propagation de ces bactéries (**Jolivet, 2019**).

Les carbapénèmes ont été introduits dans les années 1980 pour traiter les infections causées par des souches d'entérobactéries productrices de BLSE. Malheureusement, au début des années 1990, des souches résistantes aux carbapénèmes par production carbapénémases sont apparues (**Mhaya, 2019**). La dissémination de ces carbapénémases parmi les entérobactéries est cliniquement préoccupante car ces souches résistantes ont développées également une résistance à la plupart des β -lactamines, entraînant des échecs thérapeutiques significatifs (**Cahill et al., 2019**). Les carbapénémases les plus importantes sont les KPC, NDM-1 et OXA-48 (**Oueslati, 2019**). L'exposition aux souches résistantes aux carbapénèmes dans les établissements de soins de santé est le principal facteur de risque d'infection (**Banach et al., 2018**). La propagation des souches résistantes de *K. pneumoniae* est associée à des lignées clonales spécifiques, parmi lesquelles le clone ST11 est l'un des plus fréquents dans les milieux hospitaliers (**Liao et al., 2020**).

Partie Expérimentale

Cette étude est réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université A. Mira de Bejaia, durant la période allant de mai à Juin 2023.

I. Origine des souches étudiées

Les 36 souches de *Klebsiella pneumoniae* étudiées font partie d'une collection de souches d'entérobactéries appartenant au laboratoire d'Ecologie Microbienne de l'université de Bejaia. Ces souches ont été isolées de l'environnement de soin proches des patients et du personnel par Mme Belhadi.

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* ont été revivifiées à partir des tubes de conservation par deux repiquages successifs, sur bouillon TSB ou bouillon nutritif puis sur gélose Mac Conkey ou EMB et incubées à 37°C pendant 24h.

II. Détection phénotypique des facteurs de virulence

II.1. Détection de la capsule : La capsule a été détectée par l'encre de Chine. Sur une lame, une goutte de suspension bactérienne a été combinée avec une goutte de la solution diluée d'encre de Chine. La capsule se manifeste sous la forme d'un halo non coloré entourant le corps bactérien coloré en noir avec l'encre de Chine (**El Fertas-Aissani et al, 2013**).

II.2. Test d'hyperviscosité : Le phénotype d'hyperviscosité des isolats de *K. pneumoniae* a été déterminé à l'aide d'un string test modifié. La formation d'un filament visqueux d'au moins 0.5 cm a été considérée comme positive (**Mazloun et al., 2016**).

II.3. Recherche de la production de lipase : Les isolats ont été repiqués sur une gélose additionnée de Tween 80. Après 24 heures d'incubation à 37°C, l'apparition d'une zone opaque autour des colonies indique un résultat positif (**Wand et al., 2013**).

II.4. Recherche sur la production de protéase : Les isolats ont été repiqués sur une gélose additionnée de poudre de lait comme substrat. Après 24 heures d'incubation à 37°C, une l'apparition d'une zone claire autour des colonies indique une protéolyse de la caséine (**Rossignol, 2007**).

II.5. Recherche de l'hémagglutination : Sur une lame de microscope, une goutte de la suspension de globules rouges a été mélangée soigneusement à une goutte de la culture

bactérienne à température ambiante. La présence d'agglutination se traduit par un résultat positif.

II.6 Résistance au sérum : La recherche de la résistance bactérienne au sérum a été effectuée en déposant 150µl du sérum humain avec 50µl de la suspension bactérienne dans une microplaque de 96 puits. Un contrôle négatif a été effectué en utilisant de l'eau distillée stérile. Chaque test a été réalisé en double.

La lecture a été effectuée avec un lecteur de plaque à une longueur d'onde de 620 nm avant et après 3h d'incubation à 37°C. La souche devient résistante au sérum humain uniquement lorsque la densité optique après incubation est supérieure de 100% (c'est-à-dire deux fois) à la lecture initiale.

II.7. Recherche d'hémolysine : Le test d'hémolysine a été réalisé sur gélose au sang contenant 5% (vol/vol) de sang de mouton. Après 24 heures d'incubation à 37°C, l'apparition d'une zone claire autour des colonies indique une lyse totale (β) ou partielle (α) des globules rouges (**Hassan et al., 2011**).

II.8. Mise en évidence de la sécrétion de Sidérophore: La production de Sidérophore a été mise en évidence par le test au Chrome Azurol S en milieu gélosée, L'inoculation des isolats a été effectuée par spot puis les géloses ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. L'apparition d'un halo rouge-orangé autour des spots atteste la sécrétion de Sidérophores (**Srimathi et Suji, 2018**).

III. Recherche de la formation de biofilm sur gélose au rouge Congo

La formation de biofilms a été évaluée par un ensemencement par stries des boites de gélose au rouge Congo. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures, la formation de colonies noires à surface rugueuse indique la production de Slim. Les souches présentant des colonies de couleur rouge, de colonies à centre noir et à contour rouge ou de colonie à centre rouge et à contour noir sont interprétés comme un résultats négatif (**Nasr et al., 2012**).

IV. Etudes de l'efficacité du désinfectant BACTINYL sur la croissance des souches de *K. pneumoniae*

Le BACTINYL est un désinfectant utilisé pour la désinfection des instruments dans les structures hospitalière. Grâce à cette méthode, nous sommes en mesure de déterminer l'étendue d'efficacité du désinfectant en effectuant trois dilutions qui englobent la dilution cible du désinfectant hospitalier, permettant ainsi de délimiter sa zone d'activité (**Rouillon et al., 2006**).

IV.1. Préparation des suspensions bactériennes : Une culture bactérienne a été préparée en inoculant une colonie dans 4ml de bouillon nutritif puis incubé à 37°C pendant 24h. Après incubation, 60µl de la culture bactérienne ont été déposés dans 2ml de bouillon nutritif neuf puis incubé à 37°C pendant deux heures pour obtenir une culture en phase exponentielle de croissance.

IV.2. Élaboration des solutions diluées du désinfectant Bactinyl®

- ❖ Dilution 0.5% : On mélange 25 µl du désinfectant brut avec 5 ml d'eau distillée
- ❖ Dilution 1% : On mélange 50µl du désinfectant brute avec 5ml d'eau distillée.
- ❖ Dilution 2% : On mélange 100µl du désinfectant brute avec 5ml d'eau distillée.

IV.3. Technique

Pour chaque souche, 180µl de la suspension de travail ont été mélangés avec 20 µl de chaque dilution du désinfectant puis incubés à 37°C pendant 24h. Un témoin négatif contenant du bouillon nutritif et du désinfectant et un témoin positif contenant uniquement la culture bactérienne ont été ajoutés. L'absence de trouble après incubation d'au moins deux cupules permet de déterminer la dilution du désinfectant suffisante pour empêcher le développement de la souche étudiée.

RESULTATS

I.1 Détection de la présence de la capsule chez les souches de *Klebsiella pneumoniae*

Après lecture au microscope optique, la capsule était visible comme un halo clair entourant chacune des 36 (100%) souches testées. La figure ci-dessous montre l'aspect microscopique d'une capsule.



Figure 8 : photographie de la capsule

I.2 Evaluation la production l'hypermucoviscosité

Le String Test a révélé la présence chez 5 souches (SMI 20, S32, S32*, S14* et S39) d'un cordon visqueux supérieur à 5 mm confirmant le caractère d'hypermucoviscosité de ces dernières. Un résultat positif est représenté dans la figure ci-dessous.

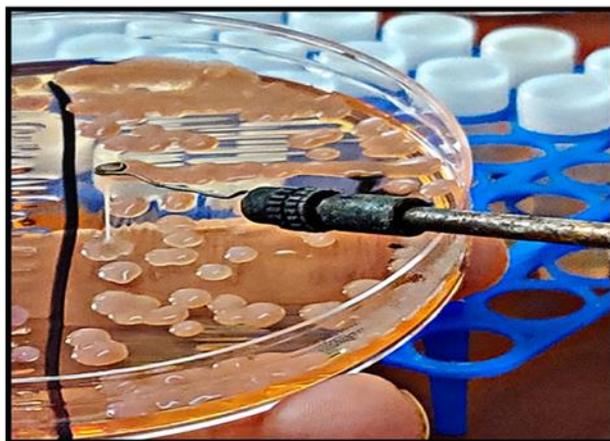


Figure 9 : Aspect positif du String test chez la souche SMI20

I.3 Evaluation de la production de lipase

Dans cette étude, la production de lipase qui se traduit par la formation d'un halo clair autour des colonies a été observée chez 12 (33%) souches étudiées. La figure ci-dessous illustre un résultat positif chez les souches Bar 01 et SMI20.

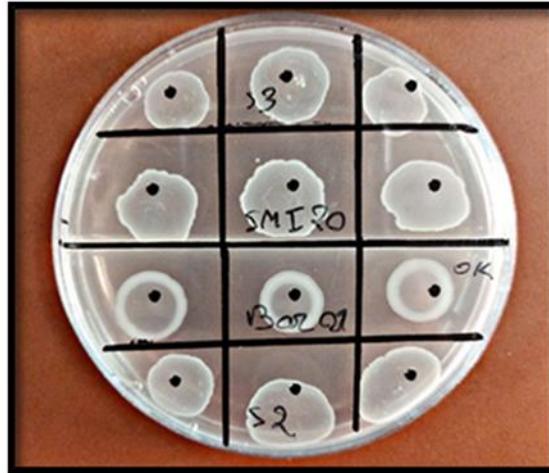


Figure 10 : Aspect de la production de lipase chez les souches Bar01et SMI20

I.4 Recherche de la production de protéase

La production de protéase a été observée chez 23 souches de *K. pneumoniae* et se traduit par la dégradation de la caséine qui se manifeste par l'apparition d'une zone claire autour de la colonie (Figure 12).

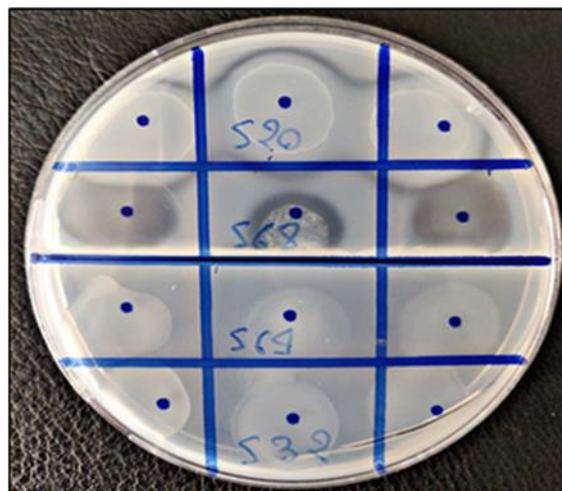


Figure 11 : Aspect de la production de protéase chez les souches S68 et S20

I.5 Recherche de l'hémagglutinine

L'hémagglutination se traduit par le regroupement des globules rouges. Un résultat positif a été observé chez 19 (53%) des souches. La figure ci-dessous montre l'aspect d'un résultat positif et négatif.

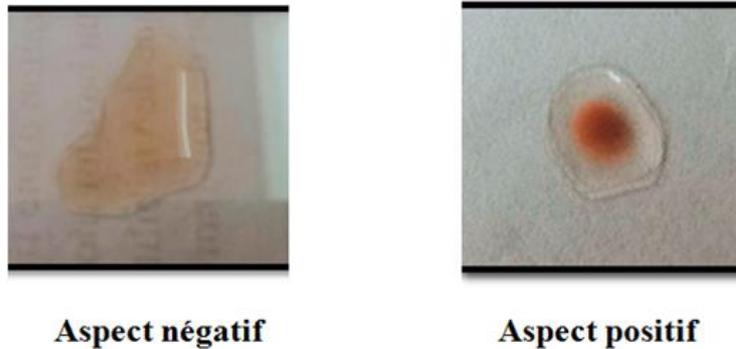


Figure 12 : Mise en évidence de l'hémagglutination

I.6 Résistance au sérum humain

La mise en évidence de l'effet du sérum humain a montré que seule la souche S32 est résistante à l'activité bactéricide et présente une valeur de DO=0.1 avant incubation et une DO= 0.190 après incubation.

I.7 Recherche d'hémolysine

La recherche d'hémolysine était négative pour toutes les souches étudiées. La figure ci-dessous montre l'absence de la lyse des globules rouges.



Figure 13 : Hémolysine négative

I.8 Sécrétion de Sidérophores

Une coloration rouge-orange a été observée chez 24 (67 %) souches, ce qui indique la production probable de Sidérophores. La figure ci-dessous illustre les résultats observés.

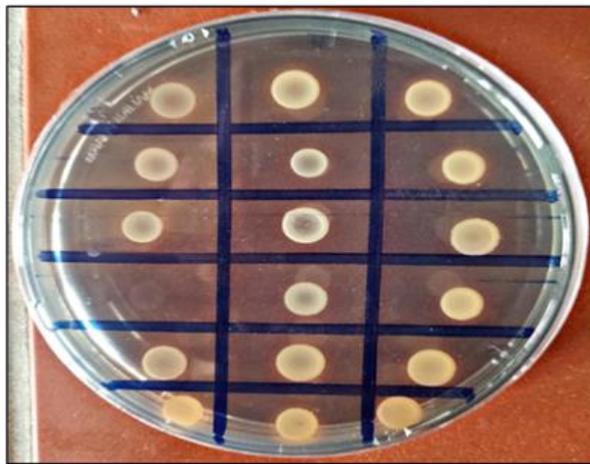


Figure 14 : Détection de la production de Sidérophores

I.9 Evaluation de la formation de biofilm sur gélose au Rouge Congo

Nous avons constaté que 27 (75%) souches ont données des colonies noir à surface rugueuse et sont probablement productrices de slime. La figure ci-dessous montre l'aspect de souches productrices de biofilms sur gélose au Rouge Congo.



Figure 15 : Aspect de colonies noires productrice de slime

I.10 Etudes de l'efficacité du BACTINYL sur la croissance des souches de *K. pneumoniae*

Nous avons testé l'efficacité du désinfectant à l'état brut ainsi que des dilutions recommandées (0.5%, 1 % et 2%) par le fabricant pour la désinfection du matériel médical vis-à-vis des souches de *K. pneumoniae* multirésistantes.

On remarque que toutes les souches étaient sensibles aux différentes dilutions du désinfectant. Tant disque, presque la moitié 47% (17/ 36) des souches étaient résistantes au désinfectant à l'état brut (figure ci-dessous).

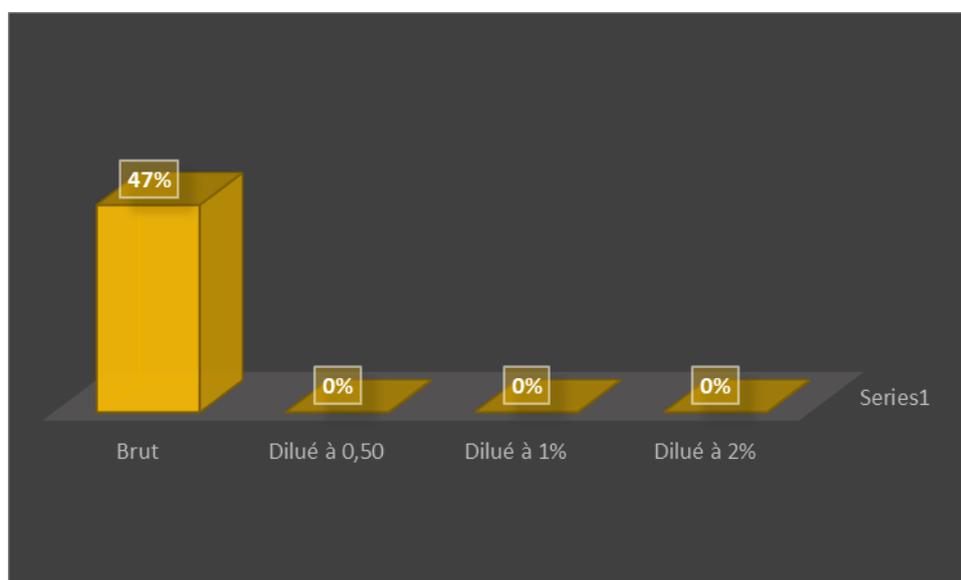


Figure 16 : Résultat de la sensibilité des souches de *K.pneumoniae* au désinfectant

Discussion

Les facteurs de virulence jouent un rôle important dans le mécanisme de pathogénicité chez les souches de *K. pneumoniae*. Cette dernière, possède de nombreux processus pour s'implanter, coloniser et se protéger des agressions extérieures, comme du système immunitaire, dans les différents sites de son hôte (urinaire, intestinal, pulmonaire). Les facteurs capsulaires, capteurs de fer, pili et les lipopolysaccharides (LPS) sont impliqués dans l'adhésion, l'invasion et la croissance de *K. pneumoniae* (**Cheng et al., 2020**).

La production de capsule permet de limiter la phagocytose de la bactérie par les cellules de l'immunité et la mise en place d'une réponse immunitaire efficace (**Evrard et al., 2010**) grâce à certains mécanismes d'échappement tels que l'antiphagocytose, l'inhibition de la réponse inflammatoire précoce, la neutralisation des peptides antimicrobiens pour réduire la réponse immunitaire de l'organisme et l'inhibition de la maturation des cellules dendritiques (**Goyette-Desjardins, 2019 ; Wu et al., 2022**). Les résultats de notre étude ont révélé que toutes les souches de *K.pneumoniae* présentent une capsule ce qui est en accord avec ceux de Walker et Mille (**2020**) et qui ont confirmé que cette dernière est liée au sérotype K1 ou K2.

Les stratégies mises en place par les souches de *K. pneumoniae* semblent tendre d'avantage vers un mode défensif plutôt qu'offensif lors de l'infection, comparativement à d'autres pathogènes (**Paczosa and Meccas, 2016**).

La formation de biofilms joue un rôle dans la survie et la sélection des bactéries dans l'environnement, mais ont aussi de nombreux effets indésirables, notamment en santé publique. Pour toutes ces raisons, de nombreuses équipes de recherche s'intéressent au mode de développement des biofilms et aux facteurs de virulence de *Klebsiella pneumoniae*. (**Guerra et al., 2022**) Dans cette étude, 27 des souches ont été positives pour la mise en évidence de la formation de biofilms sur gélose au rouge Congo.

Les bactéries productrices de lipase ont une activité lipolytique. Cela confère à ces bactéries un facteur de virulence en pathologie humaine. Les bactéries évaluées dans cette étude produisent une lipase en tant que facteur de virulence à 12 souches. Les travaux de **Gupta et al., 2004** ont également montré l'implication de la lipase dans la virulence des bactéries responsables de diverses infections humaines.

Deux types de fimbriae se trouvent couramment chez les souches de *K. pneumoniae* : les fimbriae de type 1 (fim) et de type 3 (mrk). Les fimbriae de type 1 peuvent améliorer la virulence en adhérant aux surfaces muqueuses ou épithéliales (biofilm dans la vessie) et les fimbriae de type 3 adhèrent à la surface cellulaire et favorisent la formation de biofilm (Cevahir et al., 2008 ; Zheng et al., 2020; Schroll et al., 2010 : Wu et al., 2022). Dans cette étude 19 des souches de *Klebsiella pneumoniae* été positif et présentent la capacité d'agglutine les globules rouges.

L'hypermucoviscosité est un facteur distinctif des souches hvKp est son phénotype hypermucovisqueux (Le et al., 2022 ; Namikawa et al., 2023) est lié à une synthèse de quantité accrue de polymère capsulaire avec les mêmes composants que la capsule classique (Shon et al., 2013). La plupart de ces isolats appartiennent aux sérotypes capsulaires K1 et K2 (Guo et al., 2017). Dans cette étude, le string test à montrer que 5 des souches été positif. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Gupta et al., (2004) et Frazee et al., (2009). Les travaux de Sanchez Lopez (2019) ont rapportés que l'hypervirulence des souches de *K.pneumoniae* été due à l'association de l'acquisition efficace du fer et une augmentation de la production des exopolysaccharides capsulaires.

De nombreuses bactéries utilisent des Sidérophores pour faciliter le processus d'absorption du fer ferrique dans l'environnement. La production de Sidérophores peut également être un facteur important dans la capacité des agents pathogènes à provoquer des maladies, car le fer libre est très limité et souvent étroitement lié à de nombreuses protéines, telles que l'hémoglobine, la transferrine et la lactoferrine (Louden et al., 2011). Dans notre étude 24 des souches de *K. pneumoniae* était productrices de Siderophore ce qui est en accord avec les résultats rapportés par Elgazzar (2017). Ces bactéries peuvent absorber le fer de l'hôte via quatre Sidérophores tels que l'aérobactine, la salmochéline, l'entérobactine et la yersiniabactine (Wang G. et al., 2020 ; Wu et al., 2022).

Les protéases appartiennent un groupe d'enzymes catalytiques, dont la fonction est d'hydrolyser les liaisons peptidiques des protéines. Ils jouent un rôle critique dans de nombreux processus physiologiques et physiopathologiques. Elle joue un rôle primordial dans la virulence des souches de *Klebsiella pneumoniae*, et leur présence permet à la bactérie de manipuler l'environnement et d'échapper aux défenses de l'hôte (Kolar, 2013). Dans cette étude, nous avons mis en évidence la production de protéase chez 23 des souches étudiées.

Le sérum humain a une activité bactéricide contre un large éventail de bactéries à Gram négatif (**Raksha et al., 2003**). Dans cette étude, uniquement une souche S32 était résistante à l'activité bactéricide du sérum.

L'hémolysine est une substance protéique pouvant causer la destruction des globules rouges. Qui est produite par des souches de *Klebsiella pneumoniae* et provoquant la lyse des hématies, entraînant leur destruction prématurée par un mécanisme d'hypersensibilité de type II. La sévérité et l'apparition des réactions hémolytiques dépendent du type d'anticorps impliqués, de la température à laquelle les anticorps se fixent à l'antigène et leur capacité à activer le complément (**Binvel, 2020**). La production d'hémolysine en tant que facteur de virulence chez les bactéries impliquées dans des infections a été démontrée par des auteurs dans des études tel que (**Hassan et al., 2011; Rajkumar et al., 2016**). Dans la présente étude, aucune des isolats étudiés n'a produit de l'hémolyse.

La plupart des produits de nettoyage et de désinfection utilisés pour les sols et les surfaces sont principalement constitués d'ammonium quaternaire, soit seuls, soit en association avec d'autres substances telles que des dérivés de biguanides, d'aldéhydes, d'isopropanol, d'alkylamine, d'acides aminés, de peroxyde d'hydrogène ou d'éthanol (**Smith et al., 2008**).

Chaque fois que des désinfectants sont utilisés avec le même principe actif et à la même concentration, les bactéries peuvent développer une résistance de plus en plus importante à ces produits (**Bekkari et al., 2016**). Il est essentiel de respecter les recommandations du fabricant lors de l'utilisation de ces désinfectants afin de prévenir l'émergence de souches bactériennes résistantes à ces molécules (**Lanjri et al., 2017**). Nos résultats ont montré une sensibilité totale aux différentes concentrations recommandées par le fabricant (0.5%, 1% et 2%) et une résistance de presque la moitié des souches au désinfectant brut.

Conclusion

Au cours de cette étude qui s'est déroulée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'Université de Bejaia, 36 souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE et de carbapénémases de type OXA-48 isolées de l'environnement hospitalier ont été étudiées. Les résultats de notre étude ont permis d'évaluer la complexité des facteurs de virulences de ces souches qui contaminent l'environnement de soin de nos hôpitaux. Ces dernières constituent un grave problème de santé publique auquel il faut encore prêter attention, notamment à la forte résistance provoquée par l'utilisation fréquente des carbapénèmes et des céphalosporines de 3^{ème} génération.

De nombreux facteurs de virulence ont été rapportés dans la littérature et mis en évidence dans cette étude dont le phénotype d'hypermucoviscosité, la production d'une capsule polysaccharidique, lipase, protéase, d'hémagglutinine, de sidérophore ainsi qu'une résistance au sérum et la capacité à former un biofilm. Toutefois plusieurs nouveaux facteurs jouant un rôle prépondérant dans le processus infectieux ont été également décrits dans plusieurs études récentes.

Cependant, dans le cadre de la lutte contre les infections nosocomiales, ce travail démontre l'importance de la prévention qui reste le seul moyen de limiter le risque infectieux lié au milieu hospitalier. Il est recommandé de renforcer et de mener régulièrement une surveillance et une enquête sur la résistance aux antibiotiques et aux biocides fréquemment utilisées dans chaque structure hospitalière.

Références bibliographiques

A

Alharbi, A., Almana, R. S., & Aljuaid, M. (2023). The impact of COVID-19 pandemic on key performance indicators in three Saudi hospitals. *Plos one*, 18(5), e0285616.

Alloue, W.A.M., Destain, J., Ghalfi, H., Thonart, P., Aguedo, M., Wathelet, J.-P., Blecker, C., 2008. Les lipases immobilisées et leurs applications. BASE.

Arato, V., Raso, M. M., Gasperini, G., Berlanda Scorza, F., & Micoli, F. (2021). Prophylaxis and treatment against *Klebsiella pneumoniae*: current insights on this emerging anti-microbial resistant global threat. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8), 4042.

ATMANI, S., MESSAI Yamina, Y., AISSANI, R., ALOUACHE, S., & BAKOUR, R. VIRULENCE POTENTIELLE DE SOUCHES DE *Klebsiella pneumoniae* isolées DES EFFLUENTS D'UN HOPITAL A ALGER.

Aumeran, C., & Jacomet, C. (2020). Prévenir le risque infectieux en milieu de soins grâce aux mesures barrière. *Sages-femmes*, 19(5), 15-18.

B

Balandraud, A. (2021). Place des clones dans la résistance aux antibiotiques chez *Klebsiella pneumoniae* (Doctoral dissertation).

Banach, D. B., Bearman, G., Barnden, M., Hanrahan, J. A., Leekha, S., Morgan, D. J., ... & Wiemken, T. L. (2018). Duration of contact precautions for acute-care settings. *Infection control & hospital epidemiology*, 39(2), 127-144.

Baranovsky, S. (2020). Circulation et persistance de pathogènes nosocomiaux multirésistants et hautement résistants émergents dans l'environnement hospitalier: complexité des unités de transmission (Doctoral dissertation, Université Montpellier).

- Balotescu, C., Panus, E., Bucur, M., Cernat, R., Nedelcu, D., Bleotu, C., ... & Lazar, V. (2007). P1249 Virulence, pathogenicity, antibiotic resistance and plasmid profile of *Escherichia coli* strains isolated from drinking and recreational waters. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (29), S343.
- Barati, A.; Ghaderpour, A.; Chew, LL. Bong, CW. ; Thong, KL. ; Ching Chong, V. ; Ching Chai, L. 2016. Isolation and Characterization of Aquatic-Borne *Klebsiella pneumoniae* from Tropical Estuaries in Malaysia. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2016, 13, 426.
- Baba Ahmed-Kazi Tani, Z., Decré, D., Genel, N., Boucherit-Otmani, Z., Arlet, G., & Drissi, M. (2013). Molecular and epidemiological characterization of enterobacterial multidrug-resistant strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008–2010). *Microbial Drug Resistance*, 19(3), 185-190.
- Bekkari H.; Touijer, H.; Berrada S.; Ettaybi M.; Benchemsi N.; Maniar S.; El Ouali Lalami A. (2016). Evaluation de la contamination des eaux utilisées en milieu hospitalier: Effets d'antibiotiques et de désinfectant usuels sur les germes isolés (Surveillance of bacteriological quality and resistance to disinfectants and antibiotics in a provincial hospital in Morocco). *J. Mater. Environ. Sci.* 7 (1) 1-8.
- Belbel, Z. (2013). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba.
- BELLIFA, S. (2014). Evaluation de la formation de biofilm par les bactéries gram négative isolées à partir des dispositifs médicaux au niveau de CHU de Tlemcen (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid).
- Benbrahim, C., Barka, M. S., Benmahdi, L., Zatout, A., & Khadir, A. (2021). *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum β -lactamase in Regional Military University Hospital of Oran, Algeria: antibiotic resistance, biofilm formation, and detection of blaCTX-M and blaTEM genes. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 22(1), 28-37
- Bhagirath, A. Y., Li, Y., Patidar, R., Yerex, K., Ma, X., Kumar, A., & Duan, K. (2019). Two component regulatory systems and antibiotic resistance in Gram-negative pathogens. *International journal of molecular sciences*, 20(7), 1781.

Binvel, M. (2021). Avancées en médecine transfusionnelle féline: de l'optimisation du prélèvement à la découverte de nouveaux antigènes érythrocytaires.

Boulben, S., Amouroux, I., & Dallet, M. (2019). Demande d'expertise sur le nettoyage des cales portuaires à l'eau de Javel.

Bouvattier, C., Vaudé-Lauthier, V., Lafontaine, V., Eschlimann, M., Darfeuille, M., Giraud, M. ... & Raynaud, F. (2020). Évaluation de l'efficacité virucide de biocides sur le SARS-CoV-2.

C

Cahill, N., O'Connor, L., Mahon, B., Varley, Á., McGrath, E., Ryan, P. ... & Morris, D. (2019). Hospital effluent: A reservoir for carbapenemase-producing Enterobacteriales? *Science of the Total Environment*, 672, 618-624.

Camille D., (2007). Microbiologie pratiques pour le laboratoire d'analyse et de controle sanitaire. Lavoisier. 126-173.

Caprioli, A. L. F. R. E. D. O., Falbo, V. I. N. C. E. N. Z. O., Ruggeri, F. M., Minelli, F., Orskov, I., & Donelli, G. (1989). Relationship between cytotoxic necrotizing factor production and serotype in hemolytic *Escherichia coli*. *Journal of clinical microbiology*, 27(4), 758-761.

Carenco, P. (2017). Antibiorésistance et biocides. *Bulletin CCLin-Arlin*, 7.

Carenco, P. (2021). Biocides désinfectants et résistance aux antibiotiques aspects génétiques et environnementaux. *Réso InfectiO Paca-Est*. <https://www.reso-infectio.fr/upload/files/Resistance%20ATB%20et%20d%C3%A9sinfectants-%20Carenco.pdf>.

Casamassimi, A., & Ciccodicola, A. (2019). Transcriptional regulation: Molecules, involved mechanisms, and misregulation. *International journal of molecular sciences*, 20(6), 1281.

Cevahir, N., Demir, M., Kaleli, I., Gurbuz, M., Tikvesli, S., 2008. Evaluation of biofilm production, gelatinase activity, and mannose-resistant hemagglutination in *Acinetobacter baumannii* strains. *J Microbiol Immunol Infect* 41, 513–8.

Chaban, B., Hughes, H. V., & Beeby, M. (2015, October). The flagellum in bacterial pathogens: for motility and a whole lot more. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 46, pp. 91-103). *Academic Press*.

Chédia A; Thouria A; Nourreddine B; Leila D; Hamza R; Hayet K; Kawther M-T et Mansour N. Coordinateurs: Hamza R, Hayet K et Mahmoud D. (2008). Hygiène hospitalière et la lutte contre les infections associées aux soins. *Ouvrage collective à l'usage des personnels soignants et des hygiénistes*

Cheng, J., Zhang, J., Han, B., Barkema, H. W., Cobo, E. R., Kastelic, J. P., ... & Gao, J. (2020). *Klebsiella pneumoniae* isolated from bovine mastitis is cytopathogenic for bovine mammary epithelial cells. *Journal of dairy science*, 103(4), 3493-3504.

Chico-Sánchez, P., Gras-Valentí, P., Algado-Sellés, N., Jiménez-Sepúlveda, N., Rodríguez-Díaz, J. C., Merino-deLucas, E. ... & Ronda-Pérez, E. (2022). Effectiveness of the systematic use of antimicrobial.

D

Dabernat, H., O. Petitjean, and S. J. P. W. P. Schlemmer. 1997. Infectiologie de A à Z.354-355.

Dejoies, L. (2022). Rôles d'ARN régulateurs exprimés par *Enterococcus faecium* et *Staphylococcus aureus* en réponse au stress antiseptique (Doctoral dissertation, Rennes 1).

Denamur, E., & Picard, B. (2012). Virulence et résistance: deux caractéristiques antagonistes chez *Escherichia coli*? *Médecine Intensive Réanimation*, 21(3), 249-251.

Dey, T., Chakraborty, A., Kapoor, A., Warriar, A., Nag, V. L., Sivashanmugam, K., & Shankar, M. (2022). Unusual Hypermucoviscous Clinical Isolate of *Klebsiella pneumoniae* with No Known Determinants of Hypermucoviscosity. *Microbiology Spectrum*, 10(3), e00393-22.

Diagne, A. M. (2021). Etude du mécanisme de résistance aux peptides antimicrobiens médié par un transporteur ABC couplé à un système de régulation à deux composants chez *Streptococcus pneumoniae* (Doctoral dissertation, Université de Lyon).

Dong, N., Yang, X., Chan, E. W. C., Zhang, R., & Chen, S. (2022). *Klebsiella* species: Taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance. *EBioMedicine*, 79, 103998.

Dortet, L., Poirel, L., & Nordmann, P. (2013). Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmes. *Feuillets de biologie*, 312, 1-13.

E

Ebongue, C. O., Tsiazok, M. D., Mefo'o, J. P. N., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adiogo, D. (2015). Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *The Pan African Medical Journal*, 20.

El ayne Nabila, S., Adil, E., Abdelaziz, C., Nabila, A., Samir, H., & Abdelmajid, S. (2014). ROLE DE L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER DANS LA PREVENTION DES INFECTIONS NOSOCOMIALES: SURVEILLANCE DE LA FLORE DES SURFACES A L'HOPITAL EL IDRISSI DE KENITRA-MAROC. *European Scientific Journal*, 10(9).

Elkheloui, R., Laktib, A., Zanzan, M., Mimouni, R., Achemchem, F., Aitalla, A., & Hamadi, F. (2022). Effects of Glucose and Temperature on Exopolysaccharides, Extracellular Matrix Proteins Production and Biofilm Formation of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 16(2), 155-164.

El Fertas-Aissani, R., Messai, Y., Alouache, S., & Bakour, R. (2013). Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. *Pathologie Biologie*, 61(5), 209-216.

Elgazzar, R. (2017). Screening of Siderophore Producers from Soil.

Evrard, B., Balestrino, D., Dosgilbert, A., Bouya-Gachancard, J. L., Charbonnel, N., Forestier, C., & Tridon, A. (2010). Roles of capsule and lipopolysaccharide O antigen in interactions of human monocyte-derived dendritic cells and *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and immunity*, 78(1), 210-219.

F

Faïs, T., Delmas, J., Barnich, N., Bonnet, R., & Dalmasso, G. (2018). Colibactin: more than a new bacterial toxin. *Toxins*, 10(4), 151.

Ferrand, A. (2022). Les infections associées aux soins d'origine bactérienne en France: situation, évolution, prévention et perspectives (Doctoral dissertation).

Fang, C. T., Lai, S. Y., Yi, W. C., Hsueh, P. R., Liu, K. L., & Chang, S. C. (2007). *Klebsiella pneumoniae* genotype K1: an emerging pathogen that causes septic ocular or central nervous system complications from pyogenic liver abscess. *Clinical infectious diseases*, 45(3), 284-293.

Frazer, B. W., Hansen, S., & Lambert, L. (2009). Invasive infection with hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*: multiple cases presenting to a single emergency department in the United States. *Annals of emergency medicine*, 53(5), 639-642.

G

Gadou, V. (2019). EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DES ENTEROBACTERIES PRODUCTRICES DE β -LACTAMASES A SPECTRE ELARGI RESISTANTES AUX AMINOSIDES ET AUX FLUOROQUINOLONES DANS LE DISTRICT D'ABIDJAN, CÔTE D'IVOIRE (Doctoral dissertation, Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire); N° ORDRE 2186/2019).

Galmiche, A., & Boquet, P. (2001). Toxines bactériennes: facteurs de virulence et outils de biologie cellulaire.

Gonzalez-Ferrer, S., Peñaloza, H. F., Budnick, J. A., Bain, W. G., Nordstrom, H. R., Lee, J. S., & Van Tyne, D. (2021). Finding order in the chaos: Outstanding questions in *Klebsiella pneumoniae* pathogenesis. *Infection and Immunity*, 89(4), e00693-20.

Goro, A. A. (2021). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020 (Doctoral dissertation, USTTB).

Goyette-Desjardins, G. (2019). Études chimiques et immunologiques des capsules polysaccharidiques de *Streptococcus suis*.

Grall, N., Andremont, A., & Armand-Lefèvre, L. (2011). Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse? *Journal des Anti-infectieux*, 13(2), 87-102.

Guo, Y., Wang, S., Zhan, L., Jin, Y., Duan, J., Hao, Z. ... & Yu, F. (2017). Microbiological and clinical characteristics of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* isolates associated with invasive infections in China. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 24.

Gu, D., Dong, N., Zheng, Z., Lin, D., Huang, M., Wang, L. ... & Chen, S. (2018). A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. *The Lancet infectious diseases*, 18(1), 37-46.

H

Haddadi, K. (2006). Mécanismes de la protéolyse dans le lait lors de l'inflammation de la glande mammaire chez la vache laitière: activité des protéases leucocytaires et des protéases bactériennes (cas d'*Escherichia coli*) (Doctoral dissertation, Vandoeuvre-les-Nancy, INPL).

Hennart, M., Guglielmini, J., Bridel, S., Maiden, M. C., Jolley, K. A., Criscuolo, A., & Brisse, S. (2022). A dual barcoding approach to bacterial strain nomenclature: Genomic taxonomy of *Klebsiella pneumoniae* strains. *Molecular Biology and Evolution*, 39(7), msac135.

Hartemann, P., Berjeaud, J., Maris, P., aymard, A., Hellio, C., Soumet, P... & Attig, I. (2019). Évaluation de la résistance des biocides antimicrobiens. Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail. Report number: Saisine n° 2016-SA-0238.

Hassan, R., El-Naggar, W., El-Sawy, E., & El-Mahdy, A. (2011). Characterization of some virulence factors associated with Enterbacteriaceae isolated from urinary tract infections in Mansoura Hospitals. *Egypt J Med Microbiol*, 20(2), 9-17.

Hayek, M. (2018). Le Quorum Sensing chez la bactérie marine *Shewanella woodyi*: Rôle dans l'émission de luminescence et dans la formation du biofilm (Doctoral dissertation, Université de Toulon).

Hendrik, T. C., Voor in't Holt, A. F., & Vos, M. C. (2015). Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella spp.* a systematic review and meta-analyses. *PLoS One*, 10(10), e0140754.

Holt, K. E., Wertheim, H., Zadoks, R. N., Baker, S., Whitehouse, C. A., Dance, D., ... & Thomson, N. R. (2015). Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(27), E3574-E3581.

Huang, X., Li, X., An, H., Wang, J., Ding, M., Wang, L. ... & Zhang, J. R. (2022). Capsule type defines the capability of *Klebsiella pneumoniae* in evading Kupffer cell capture in the liver. *PLoS Pathogens*, 18(8), e1010693.

Huynh, D. T. N., Kim, A. Y., & Kim, Y. R. (2017). Identification of pathogenic factors in *Klebsiella pneumoniae* using impedimetric sensor equipped with biomimetic surfaces. *Sensors*, 17(6), 1406.

J

Jasim, S. T., & Farhan, A. S. (2020). Article Review: *Klebsiella Pneumonia*: Epidemiology, Virulence Factors and Treatment. *flora*, 14(2), 5-10.

Jolivet, S. (2019). BLSE hospitalière en France: comprendre pour contrôler (Doctoral dissertation, Université Paris Cité).

Jones, I. A., & Joshi, L. T. (2021). Biocide use in the antimicrobial era: a review. *Molecules*, 26(8), 2276.

Joseph, L. (2022). Étude de nouveaux facteurs de pathogénicité de *Klebsiella pneumoniae*: caractérisation du fimbriae de type «chaperone-usher» Kpg et de la pompe à efflux MdtJI (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne).

K

Karampatakis, T., Tsergouli, K., & Behzadi, P. (2023). Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Virulence factors, molecular epidemiology and latest updates in treatment options. *Antibiotics*, 12(2), 234.

Kassis-Chikhani, N. (2012). *Klebsiella Pneumoniae* pathogène nosocomial, résistance et virulence (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).

Kolar, S. L., Antonio Ibarra, J., Rivera, F. E., Mootz, J. M., Davenport, J. E., Stevens, S. M., ... & Shaw, L. N. (2013). Extracellular proteases are key mediators of *S. taphylococcus*

aureus virulence via the global modulation of virulence-determinant stability.

Microbiologyopen, 2(1), 18-34.

Kuo, C. H., Lin, W. F., Liu, C. J., Wang, Z. C., Liu, T. Y., & Peng, H. L. (2023). Role of the stress-responsive two-component system CpxAR in regulating fimbriae expression in *Klebsiella pneumoniae* CG43. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*.

L

Lanjri, S. ; Uwingabiye, J. ; Frikh, M. ; Abdellatifi, L. ; Kasouati, J. ; Maleb, A. ; Bait, A. ; Lemnouer, A. ; Elouennass, M. (2017). In vitro evaluation of the susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolates to antiseptics and disinfectants: comparison between clinical and environmental isolates. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 6:36.

Lasek, F. (2018). Présence, devenir et traitement des biocides dans les rejets d'un établissement hospitalier (Doctoral dissertation, Université de Poitiers).

Lee, C. R., Lee, J. H., Park, K. S., Jeon, J. H., Kim, Y. B., Cha, C. J., ... & Lee, S. H. (2017). Antimicrobial resistance of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, hypervirulence-associated determinants, and resistance mechanisms. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 483.

Le, M. N. T., Kayama, S., Wyres, K. L., Yu, L., Hisatsune, J., Suzuki, M., ... & Sugai, M. (2022). Genomic epidemiology and temperature dependency of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* in Japan. *Microbial genomics*, 8(5), 000827.

Leroy, J. (2015). Evaluation de la spectrométrie de masse Maldi-ToF et du séquençage multi-génique pour l'identification des *Raoultella* en bactériologie médicale (Doctoral dissertation).

Leying, H., Suerbaum, S., Kroll, H. P., Stahl, D., & Opferkuch, W. (1990). The capsular polysaccharide is a major determinant of serum resistance in K-1-positive blood culture isolates of *Escherichia coli*. *Infection and immunity*, 58(1), 222-227.

Liao, W., Liu, Y., & Zhang, W. (2020). Virulence evolution, molecular mechanisms of resistance and prevalence of ST11 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China: a review over the last 10 years. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 23, 174-180.

- Li, L., Ma, J., Cheng, P., Li, M., Yu, Z., Song, X., & Wang, Z. (2023). Roles of two-component regulatory systems in *Klebsiella pneumoniae*: Regulation of virulence, antibiotic resistance, and stress responses. *Microbiological Research*, 127374.
- Liu, J., Zhang, L., Zhang, P., & Zhou, Y. (2020). Quorum quenching altered microbial diversity and activity of anaerobic membrane bioreactor (AnMBR) and enhanced methane generation. *Bioresource technology*, 315, 123862.
- Liu, W., Lu, H., Chu, X., Lou, T., Zhang, N., Zhang, B., & Chu, W. (2020). Tea polyphenols inhibits biofilm formation, attenuates the quorum sensing-controlled virulence and enhances resistance to *Klebsiella pneumoniae* infection in *Caenorhabditis elegans* model. *Microbial pathogenesis*, 147, 104266.
- Long, S. W., Linson, S. E., Ojeda Saavedra, M., Cantu, C., Davis, J. J., Brettin, T., & Olsen, R. J. (2017). Whole-genome sequencing of human clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates reveals misidentification and misunderstandings of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella variicola*, and *Klebsiella quasipneumoniae*. *Msphere*, 2(4), e00290-17.
- Louden, B. C., Haarmann, D., & Lynne, A. M. (2011). Use of blue agar CAS assay for Siderophore detection. *Journal of microbiology & biology education*, 12(1), 51-53.

M

- Malo, L. (2020). État des lieux de la dispensation des antiseptiques à l'officine en 2019. (Doctoral dissertation in pharmacie, Université de Rouen Normandie). P216: 27-39.
- Martin, R. M., & Bachman, M. A. (2018). Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8, 4.
- Magana-Arachchi, D. N., & Wanigatunge, R. P. (2020). Ubiquitous waterborne pathogens. In *Waterborne pathogens* (pp. 15-42). Butterworth-Heinemann.
- Mazloum, M., Le Meur, M., Barnaud, G., & Messika, J. (2016). Hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* pneumonia: follow the string! *Intensive care medicine*, 42, 2092-2093.
- Merciecca, T. (2022). Système de sécrétion de type VI chez *Klebsiella pneumoniae*: dialogue moléculaire et/ou arme antibactérienne? (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne).

Messai, Y., Iabadene, H., Benhassine, T., Alouache, S., Tazir, M., Gautier, V., ... & Bakour, R. (2008). Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie*, 56(5), 319-325.

Mhaya, A. (2019). Analyse de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et étude d'une potentielle voie alternative aux traitements antibiotiques (Doctoral dissertation, Bordeaux).

Miethke, M., & Marahiel, M. A. (2007). Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiology and molecular biology reviews*, 71(3), 413-451.

Mion, S., Rémy, B., Plener, L., Chabrière, É., & Daudé, D. (2019). Quorum sensing et quorum quenching: Comment bloquer la communication des bactéries pour inhiber leur virulence?. *Médecine/sciences*, 35(1), 31-38.

Montenegro, J., González, O., Saracho, R., Aguirre, R., González, Ó. & Martínez, I. (1996). Changes in renal function in primary hypothyroidism. *American Journal of kidney diseases*, 27(2), 195-198.

Moutel, M., Peju, E., Gastli, N., Gavaud, A., Mira, J. P., Charlier, C., & Canouï, E. (2022). Bactériémie à *Klebsiella pneumoniae* hypervirulente en unité de soins intensifs : étude descriptive rétrospective. *Médecine et Maladies Infectieuses Formation*, 1(2), S8.

N

Namikawa, H., Niki, M., Niki, M., Oinuma, K. I., Yamada, K., Nakaie, K..., & Shuto, T. (2022). Siderophore production as a biomarker for *Klebsiella pneumoniae* strains that cause sepsis: A pilot study. *Journal of the Formosan Medical Association*, 121(4), 848-855.

Namikawa, H., Oinuma, K. I., Yamada, K., Kaneko, Y., Kakeya, H., & Shuto, T. (2023). Predictors of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* infections: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Hospital Infection*, 134, 153-160.

Nasr SA., AbuShady H M., Hussein HS. (2012). Biofilm formation and presence of ica AD gene in clinical isolates of staphylococci. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 1110-8630.

Nougayrède, J. P., Taieb, F., De Rycke, J., & Oswald, E. (2005). Cyclomodulins: bacterial effectors that modulate the eukaryotic cell cycle. *Trends in microbiology*, 13(3), 103-110.

O

Oliveira Júnior, N. G., & Franco, O. L. (2020). Promising strategies for future treatment of *Klebsiella pneumoniae* biofilms. *Future Microbiology*, 15(1), 63-79.

Opoku-Temeng, C., Kobayashi, S. D., & DeLeo, F. R. (2019). *Klebsiella pneumoniae* capsule polysaccharide as a target for therapeutics and vaccines. *Computational and structural biotechnology journal*, 17, 1360-1366.

Otter, J. A., Yezli, S., Salkeld, J. A., & French, G. L. (2013). Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings. *American journal of infection control*, 41(5), S6-S11.

Oueslati, S. (2019). Caractérisation moléculaire et biochimique des carbapénèmes les plus répandues chez les Entérobactéries associées à des infections sévères en vue de développer de nouveaux inhibiteurs (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay (ComUE)).

O'Shaughnessy, C. M., Cunningham, A. F., & MacLennan, C. A. (2012). The stability of complement-mediated bactericidal activity in human serum against *Salmonella*. *PLoS One*, 7(11), e49147.

P

Paczosa, M. K., Silver, R. J., McCabe, A. L., Tai, A. K., McLeish, C. H., Lazinski, D. W., & Meccas, J. (2020). Transposon mutagenesis screen of *Klebsiella pneumoniae* identifies multiple genes important for resisting antimicrobial activities of neutrophils in mice. *Infection and immunity*, 88(4), e00034-20.

Paczosa, M. K., & Meccas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiology and molecular biology reviews*, 80(3), 629-661.

Palacios, M., Miner, T. A., Frederick, D. R., Sepulveda, V. E., Quinn, J. D., Walker, K. A., & Miller, V. L. (2018). Identification of two regulators of virulence that are conserved in *Klebsiella pneumoniae* classical and hypervirulent strains. *MBio*, 9(4), e01443-18.

Pavageau, J. B. (2017). Study of the antibiotic resistance gram negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*: Which actual and future therapeutic solutions against the resistant bacterial infections (Doctoral dissertation, Doctoral Thesis in Pharmacy. Grenoble: Grenoble Alpes University). 152p: 32.

Pontual, L., Ovetchkine, P., Rodriguez, D., Grant, A., Puel, A., Bustamante, J. ... & Casanova, J. L. (2008). Rhinoscleroma: a French national retrospective study of epidemiological and clinical features. *Clinical infectious diseases*, 47(11), 1396-1402.

Prescott LM, Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ. (2013). Microbiologie. Chapitre 1 La microbiologie et l'évolution des micro-organismes. 4ème édition française de boeck.

R

Rachma, L. N., Fitri, L. E., Prawiro, S. R., & Mardining Raras, T. Y. (2022). *Aspergillus oryzae* attenuates quorum sensing-associated virulence factors and biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* extended-spectrum beta-lactamases. *F1000Research*, 11, 1148.

Rather, M. A., Gupta, K., & Mandal, M. (2021). Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1-18.

Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., & Deshpande, V. V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and molecular biology reviews*, 62(3), 597-635.

Remya, P. A., Shanthi, M., & Sekar, U. (2019). Characterisation of virulence genes associated with pathogenicity in *Klebsiella pneumoniae*. *Indian journal of medical microbiology*, 37(2), 210-218.

Rendueles, O. (2020). Deciphering the role of the capsule of *Klebsiella pneumoniae* during pathogenesis: A cautionary tale. *Molecular Microbiology*, 113(5), 883-888.

- Ricard, C. (2021). Identification des facteurs de mauvais pronostic des infections par entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu: étude rétrospective dans un centre hospitalier régional (Doctoral dissertation).
- Riwu, K. H. P., Effendi, M. H., Rantam, F. A., Khairullah, A. R., & Widodo, A. (2022). A review: Virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* as emerging infection on the food (9)chain. *Veterinary World*, 15.
- 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*, 2012(445), 47-58.
- Rossignol, G. (2007). Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche hospitalière de *Pseudomonas fluorescens*: activité hémolytique et variation phénotypique (Doctoral dissertation, Université de Rouen).
- Russo, T. A., & Marr, C. M. (2019). Hypervirulent *klebsiella pneumoniae*. *Clinical microbiology reviews*, 32(3), e00001-19.
- Russo, T. A., Olson, R., Fang, C. T., Stoesser, N., Miller, M., MacDonald, U. ... & Johnson, J. R. (2018). Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae*. *Journal of clinical microbiology*, 56(9), e00776-18.

S

- Sánchez-López, J., García-Caballero, A., Navarro-San Francisco, C., Quereda, C., Ruiz-Garbajosa, P., Navas, E. ... & Díez-Aguilar, M. (2019). Hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*: a challenge in community acquired infection. *IDCases*, 17, e00547.
- Sarr, H., Diop, A., Diallo, F., Niang, A. A., Dièye, B., Diagne, R. ... & Sow, A. I. (2021). Prévalence des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi et résistance à l'imipénème au laboratoire de Bactériologie-virologie du CHNU/Fann-Dakar.
- Schwyn, B., & Neilands, J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical biochemistry*, 160(1), 47-56.

Seghir, A., Boucherit-Otmani, Z., Sari-Belkharroubi, L., & Boucherit, K. (2017). Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (Candida–bactéries) sur cathéters vasculaires périphériques. *Journal de Mycologie Médicale*, 27(1), 20-27.

Shon, A. S., Bajwa, R. P., & Russo, T. A. (2013). Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. *Virulence*, 4(2), 107-118.

Sidibé, M. (2020). Caractérisation des souches d'Escherichia coli et de Klebsiella spp multiresistantes isolées chez les humains, les animaux et dans l'environnement au lrm de Bamako (Doctoral dissertation, USTTB).

Slimani, K. (2018). Produits biocides désinfectants dans les produits laitiers: méthodes quantitatives d'analyse des résidus et étude de l'impact des procédés de transformation du lait sur l'apparition de produits néoformés selon des approches d'analyse ciblée et non ciblée par spectrométrie de masse (Doctoral dissertation, Université Rennes 1).

Smith K, Gemmell CG, Hunter IS. 2008. The association between biocide tolerance and the presence or absence of qac genes among hospital-acquired and community-acquired MRSA isolates. *J Antimicrob Chemother*.61 (1):78–84.

Srimathi, K., & Suji, H. A. (2018). Siderophores detection by using blue agar CAS assay methods. *Int. J. Sci. Res. in Biological Sciences* Vol, 5, 6.

Steven, J. A., Thorn, R. M., Robinson, G. M., Turner, D., Lee, J. E., & Reynolds, D. M. (2022). The control of waterborne pathogenic bacteria in fresh water using a biologically active filter. *npj Clean Water*, 5(1), 30.

Strakova, N., Korena, K., & Karpiskova, R. (2021). *Klebsiella pneumoniae* producing bacterial toxin colibactin as a risk of colorectal cancer development-A systematic review. *Toxicon*, 197, 126-135.

Suleyman, G., Alangaden, G., & Bardossy, A. C. (2018). The role of environmental contamination in the transmission of nosocomial pathogens and healthcare-associated infections. *Current infectious disease reports*, 20, 1-11.

T

Taj Y., Essa F., Aziz F. Kazmi S. U. (2012). Study on biofilm-forming properties of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of infection in developing countries*. 6. . (5).

Tani, Z. B. A. K., & Arlet, G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie*, 62(3), 169-178.

Gluczkiewicz, I., Bitsch, A., Hahn, S., & Hahn, T. (2010). Emission of biocides from hospitals: comparing current survey results with European Union default values. *Integrated Environmental Assessment and Management: An International Journal*, 6(2), 273-280.

Touati A., Achour W., Abbassi et al., (2007), Détection des gènes ica et de la production de slime parmi des souches de *Staphylococcus epidermidis* isolées d'infections liées aux cathéters chez des patients neutropéniques, *Pathologie Biologie*, 55 : 277–282.

TOUATI, A. RESISTANCE AUX CARBAPENEMES: VERS UNE IMPASSE
?THERAPEUTIQUE.

V

Vanzielegem, T., & Delmée, M. (2020). Les biofilms en milieu hospitalier: quels sont les enjeux pour l'hygiène hospitalière.

Venkitapathi, S., Wijesundara, Y. H., Cornelius, S. A., Herbert, F. C., Gassensmith, J. J., Zimmern, P. E., & De Nisco, N. J. (2022). Conserved FimK truncation coincides with increased expression of type 3 fimbriae and cultured bladder epithelial cell association in *Klebsiella quasipneumoniae*. *Journal of bacteriology*, 204(9), e00172-22.

Vijayakumar, R., & Sandle, T. (2019). A review on biocide reduced susceptibility due to plasmid-borne antiseptic-resistant genes—special notes on pharmaceutical environmental isolates. *Journal of Applied Microbiology*, 126(4), 1011-1022.

W

Walker, K. A., & Miller, V. L. (2020). The intersection of capsule gene expression, hypermucoviscosity and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Current opinion in microbiology*, 54, 95-102.

- Wand, M. E., McCowen, J. W., Nugent, P. G., & Sutton, J. M. (2013). Complex interactions of *Klebsiella pneumoniae* with the host immune system in a *Galleria mellonella* infection model. *Journal of medical microbiology*, 62(12), 1790-1798.
- Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., & Wang, H. (2020). The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(17), 6278.
- Wayenberg, L., Epelboin, L., London, J., Bricaire, F., & Caumes, E. (2013). Urinary tract infection with *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamase in a traveler returning from Southeast Asia. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 106, 1-4.
- Wyres, K. L., Lam, M. M., & Holt, K. E. (2020). Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nature Reviews Microbiology*, 18(6), 344-359.
- Wyres, K. L., & Holt, K. E. (2018). *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. *Current opinion in microbiology*, 45, 131-139.

Z

- Zenati, K., Touati, A., Bakour, S., Sahli, F., & Rolain, J. M. (2016). Characterization of NDM-1-and OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* isolates from inanimate surfaces in a hospital environment in Algeria. *Journal of Hospital Infection*, 92(1), 19-26.
- Zhang, X. (2010). Organisation fonctionnelle des segments transmembranaires d'un moteur moléculaire Tol et d'une protéine active contre une toxine bactérienne (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 2).
- Zheng, W., Pena, A., Low, W. W., Wong, J. L., Frankel, G., & Egelman, E. H. (2020). Cryoelectron-microscopic structure of the pKpQIL conjugative pili from carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Structure*, 28(12), 1321-1328.
- Ziebuhr W., Lobner I., Krimmer V., Hacker J. (2001). Methods to detect and analyse phenotypic variation in biofilm-forming. *Methods in Enzymology*. 336: 195-203.
- .

Annexes

Annexe 01 : les résultats des tests réalisés au cours de cette étude

1) Détection de la production de slime sur gélose au rouge Congo

Code	Interprétation		Code	Interprétation	
	Aspect des colonies	Résultat		Aspect des colonies	Résultat
S 5	Colonies rouges muqueuses	Négatif	S 8 B	Colonies noires muqueuses	positif
S 14	Colonies grises muqueuses	positif	S 14*	Colonies grises muqueuses, hyper productrice	Négatif
S 20	Colonies rouges muqueuses	Négatif	S 24	Colonies noires non muqueuses	positif
S 68	Colonies noires muqueuses	positif	S 2	Colonies rouges muqueuses	Négatif
S 69	Colonies grises muqueuses	positif	S 10	Colonies noires muqueuses	positif
S 32	Colonies grises muqueuses	positif	S 3	Colonies noires muqueuses	positif
S 17*	Colonies grises muqueuses	positif	S 3*	Colonies noires muqueuses	positif
S 39	Colonies grises muqueuses, curly positif	positif	S 15	Colonies grises muqueuses	positif
S 32*	Colonies grises muqueuses, hyper productrice	positif	S 26	Colonies rouges muqueuses	Négatif
S 12	Colonies grises muqueuses	positif	S 17	Colonies grises muqueuses, curly positif	positif
S 49	Colonies grises muqueuses	positif	S 8	Colonies noires muqueuses	positif
S 27	Colonies noires muqueuses	positif	S 8 C	Colonies rouges muqueuses	Négatif
S 22	Colonies grises muqueuses	positif	S 5 B	Colonies rouges muqueuses	Négatif
S 20*	Colonies rouges muqueuses	Négatif	S 5 A	Colonies rouges muqueuses	Négatif
SMI 20	Colonies noires muqueuses	positif	SMI 29	Colonies noires muqueuses	positif
Bar 100	Colonies noires muqueuses	positif			

2) Production de lipase par des souches de *K.pneumoniae*

Code	Résultat	Code	Résultat
S 5	-	S 10	+
S 14	-	S 3	-
S 20	-	S 3*	+
S 68	-	S 15	-
S 69	-	S 26	-
S 32	-	S 17	-
S 17*	+	S 8	-
S 39	-	S 8 C	-
S 32*	+	S 5 B	+
S 12	+	S 5 A	+
S 49	+	SMI 29	-
S 27	-	SMI 20	+
S 22	-	Bar 100	-
S 20*	+	Bar 32	-
S 8 B	-	Bar 01	+
S 14*	+	Bar 34	-
S 24	-	Bar 16 A	-
S 2	-	MI 35	-

3) Production de protéase par des souches de *K.pneumoniae*

Code	Résultat	Code	Résultat
S 5	-	S 2	+
S 14	+	S 10	-
S 20	+	S 3	+
S 68	+	S 3*	+
S 69	-	S 15	+
S 32	-	S 26	+
S 17*	+	S 17	+
S 39	+	S 8	+
S 32*	-	S 8 C	-
S 12	-	S 5 B	-
S 49	+	S 5 A	-
S 27	-	SMI 29	+
S 22	+	SMI 20	+
S 20*	+	Bar 100	+
S 8 B	+	Bar 32	-
S 14*	+	Bar 01	+
S 24	+	Bar 34	+
Bar 16 A	-	MI 35	-

4) Recherche d'hémagglutinine sur des souches de K.pneumoniae

Code	Résultat	Code	Résultat
S 5	+	S 2	-
S 14	+	S 10	+
S 20	-	S 3	-
S 68	-	S 3*	+
S 69	-	S 15	-
S 32	-	S 26	-
S 17*	-	S 17	+
S 39	+	S 8	-
S 32*	-	S 8 C	-
S 12	+	S 5 B	-
S 49	+	S 5 A	-
S 27	+	SMI 29	+
S 22	+	SMI 20	+
S 20*	+	Bar 100	+
S 8 B	+	Bar 32	+
S 14*	+	Bar 01	-
S 24	-	Bar 34	+
Bar 16 A	+	MI 35	-

5) Mise en évidence de la sécrétion de Sidérophores sur milieu gélosé CAS

Code	Résultat	Code	Résultat
S 5	-	S 2	-
S 14	+	S 10	+
S 20	+	S 3	+
S 68	+	S 3*	-
S 69	+	S 15	-
S 32	-	S 26	+
S 17*	-	S 17	-
S 39	+	S 8	+
S 32*	+	S 8 C	-
S 12	-	S 5 B	+
S 49	+	S 5 A	+
S 27	+	SMI 29	-
S 22	+	SMI 20	+
S 20*	+	Bar 100	-
S 8 B	+	Bar 32	-
S 14*	+	Bar 01	+
S 24	+	Bar 34	+
MI 35	+	Bar 16 A	+

Annexe 03: Composition des milieux de culture

Milieu Rouge Congo Agar (RCA)

BHIB.....	37 g
Saccharose.....	50 g
Agar.....	10 g
Rouge Congo.....	0.8 g
Eau distillée	1000 ml

PH= 7,4

Bouillon cœur-cerveille (BHIB)

Infusion de cerveau de veau.....	12.5g
Infusion de cœur de bœuf.....	5.0g
Peptone.....	10.0g
Glucose.....	2.0g

Chlorure de sodium.....2.0g
Phosphatase di sodique.....5g

PH= 7.4

37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min

1) Bouillon Trypticase -Soja (g/ litre d'eau distillée)

Peptone20g
Chlorure de sodium5, 0g
Hydrogénophosphate de potassium..... 2,5g
Glucose2,5g

PH= 7,3 ± 0,2

Autoclavage 15 min à 121°C

Résumé

Les souches de *K. pneumoniae* hautement virulentes sont non seulement hautement pathogènes, mais peuvent également être résistantes aux antibiotiques et aux désinfectants. Cette étude s'est fixé comme objectif d'évaluer phénotypiquement certains traits de virulence tels que la formation de biofilms sur gélose à base de rouge Congo ainsi que la détection de la présence de capsule par l'encre de chine. Cette étude a aussi révélé la présence d'enzymes catalytique telles que les protéases et de lipases. Les bactéries possèdent également d'autres facteurs de virulence, tels que l'hémagglutination, la production de Siderophore ainsi que la résistance au sérum humain. L'efficacité du désinfectant testé à savoir le BACTERYL *vis-à-vis* des souches *K. pneumoniae* est préservée sauf dans le cas de son utilisation à l'état brut

Mots clés : *K. pneumoniae*, Carbapénémases, Biocides, Environnement hospitalier.

Abstract

Highly virulent strains of *K. pneumoniae* are not only highly pathogenic pathogenic, but can also be resistant to antibiotics and disinfectants. antibiotics and disinfectants. The aim of this study was to phenotypically evaluate certain virulence traits, such as biofilm formation on Congo Red agar and the detection of capsule presence by India ink. This study also revealed the presence of catalytic enzymes such as proteases and lipases. The bacteria also possess other virulence factors, such as hemagglutination, Siderophore production and resistance to human serum. The efficacy of the disinfectant tested, BACTERYL, against *K. pneumoniae* strains is preserved except when used in its raw state.

Key words: *K. pneumoniae*, Carbapenemases, Biocides, Hospital environment.