

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,  
Des Sciences de la terre et de l'Univers  
Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique



Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master

En Biologie

Option : Contrôle de développement microbien



Intitulé

**Profils de virulence et de résistance aux  $\beta$ -lactamines de souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* isolées de sondes endotrachéales**

Présentée par :

**BELAID KHADIDJA**

Soutenu devant le jury :

- |                    |                    |              |
|--------------------|--------------------|--------------|
| ❖ Mme BOUCHERIT Z. | Professeur         | Présidente   |
| ❖ Mme HASSAINE H.  | Professeur         | Examinatrice |
| ❖ Mme KAZI TANI Z. | Maître Assistant A | Promoteur    |



Année Universitaire : 2013-2014

# *Remerciements*

- ✚ *Je remercie au premier lieu mes chers **parents** de m'avoir aidé pour arriver au terme de ce travail qui est le fruit de plusieurs années d'études.*
- ✚ *Je remercie aussi ma promotrice Mme **KAZI TANI Z.**, maître Assistant A pour m'avoir donné l'opportuniste de travailler sur se sujet.*
- ✚ *Mes sincères remerciements et ma profonde gratitude vont également à la présidente madame **BOUCHERIT Z.**, professeur à l'Université Abou Bekr Belkaid et à l'examinatrice madame **HASSAINE H.**, professeur à l'Université Abou Bekr Belkaid pour l'honneur en acceptant de juger mon travail.*
- ✚ *Je tiens à remercie tous les membres du laboratoire de recherche **LAMAABE** pour leurs soutiens inconditionnels et leurs aide si précieuse qui a permis l'aboutissement de ce modeste travail.*
- ✚ *Je dédie ce modeste travail à mes sœurs **Asma, Yasmina** et mon cher frère **Youcef** pour leurs encouragements, amour et aide.*
- ✚ *Enfin à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## Liste des abréviations

**ADH** : Arginine

**AMP** : Ampicilline

**CAZ** : Ceftazidime

**CIT** : Citrate

**CRO** : Ceftriaxone

**FOX** : Cefoxitine

**GEL** : Gelatine

**IND** : Indole

**IMP** : Imipenème

**KF** : Cefalotine

**LDC** : Lysine décarboxylase

**ODC** : Ornithine décarboxylase

**TDA** : Tryptophane désaminase

**TIC** : Ticarcilline

**URE** : Urée

**VP** : Vosges proskauer

## Liste des figures

- Figure 1:** Identification d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* par galerie Api 20 E.....13
- Figure 2:** Antibiogramme d'une souche de *Klebsiella pneumoniae*..... 14

# Sommaire

Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Introduction.....	1
<b>I. Partie bibliographique</b>	
1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	2
1.1. Classification.....	2
1.2. Caractères bactériologiques et biochimiques.....	2
1.3. Habitat.....	3
2. Pouvoir pathogène et facteurs de virulence.....	3
2.1. Les sidérophores.....	3
2.2. Les Fimbriae.....	4
2.3. La capsule.....	4
2.4. Les chaînes polysaccharidiques terminales du lipopolysaccharide.....	5
3. Résistance aux $\beta$ -lactamines.....	5
3.1. Les $\beta$ -lactamines.....	5
3.1.1. Définition et mécanisme d'action.....	5
3.1.2. Classification.....	5
3.2. Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines.....	7
3.2.1. Mécanismes non enzymatiques.....	7
3.2.2. Mécanismes enzymatiques.....	7
<b>II. Matériels et méthodes</b>	
1. Souches bactériennes.....	10
2. Isolement et purification.....	10
3. Identification.....	10
4. Antibiogramme.....	11
5. Détection de la capsule.....	11
<b>III. Résultats et discussion</b>	
1. Identification.....	13

2. Résistance aux $\beta$ -lactamines.....	13
3. Virulence.....	14
Conclusion.....	15
Références bibliographiques.....	16
Annexes .....	24

# *Introduction*

# Introduction

---

L'infection en milieu hospitalier est connue depuis longtemps et, depuis l'utilisation de l'antibiothérapie elle a progressivement changé de visage et les cliniciens ont été confrontés à des infections à germes autrefois réputés non pathogènes ou saprophytes. Un des exemples le plus frappant pour illustrer ce propos est *Klebsiella pneumoniae*.

L'augmentation à l'échelle mondiale de la résistance aux antibiotiques médiée par cette bactérie constitue une menace importante pour la santé publique. Au niveau national, et selon le réseau de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (2011), sur 5922 bactéries multi résistantes (toutes espèces confondues) isolées en milieu hospitalier, 57% des souches de *K. pneumoniae* sont résistantes aux  $\beta$ -lactamines par production de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) (**13<sup>ème</sup> rapport d'évaluation de l'institut Pasteur d'Alger, 2011**).

*K. pneumoniae* est responsable d'infections diverses qui peuvent être à l'origine de bactériémie et surtout de septicémie de pronostic sévère, principalement chez les patients immunodéprimés (**Melano et al., 2003**). Ce pathogène opportuniste est distribué dans tous les services hospitaliers surtout dans les unités de soins intensifs et de pneumologie (**Baerwolf et al., 2002**). Sa pathogénicité est liée à l'expression de plusieurs facteurs de virulence : capsule, adhésines et sidérophores (**El Fertas-Aissani et al., 2012**).

Dans ce travail, nous nous sommes proposés de déterminer les profils de virulence et de résistance aux  $\beta$ -lactamines d'une collection de souches cliniques de *K. pneumoniae* isolées à partir d'aspiration trachéale réalisées chez des malades intubés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen.

# *Partie bibliographique*

## **1. *Klebsiella pneumoniae***

*Klebsiella pneumoniae* est une entérobactérie qui fait partie des espèces commensales, c'est-à-dire des flores normales du sujet sain (**Kariuki et al., 2007**). Elle est fréquemment impliquée dans des infections sévères. De nombreuses épidémies nosocomiales causées par cette bactérie ont été décrites, notamment chez des patients hospitalisés dans des unités de soins intensifs adultes ou pédiatriques (**Peña et al., 2001**).

### **1.1. Classification**

Selon la classification de la 5<sup>ème</sup> édition Américaine de Bergy's manuel, *K. pneumoniae* appartient au Règne : Bacteria ; Embranchement : Proteobacteria ; La classe : Gamma Proteobacteria ; L'ordre : Enterobactériales ; La famille : Enterobacteriaceae et le Genre : Klebsiella (**Bergy's Manuel, 1994**).

### **1.2. Caractères bactériologiques et biochimiques**

*K. pneumoniae* est un bacille à Gram négatif de 0,3 à 1µm de diamètre sur 0,6 à 6µm de longueur, se présentant de manière isolée, ou groupé par deux ou en courtes chaînes et présentant les caractères généraux de la famille des Enterobacteriaceae (**Ayan, 2003 ; Jonas et al., 2004**).

C'est une bactérie immobile, non sporulée, aero-anaérobie, ayant un métabolisme respiratoire, et fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive, ODC négative, ADH négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négative, β-glucuronidase négative, ne produisant pas d'hydrogène sulfuré et fermentant de nombreux sucres dont l'inositol (**Jarlier et Nodmann, 2000 ; Nauciel, 2000**).

La majorité des souches de *K. pneumoniae* sont capsulées, mais environ 6% d'entre elles sont dépourvues de capsules. La culture dans les milieux contenant un sucre fermentescible favorise la formation d'une capsule. En revanche, la culture dans un bouillon blié à 5% favorise l'évolution vers des formes non capsulées. Au moins 77 antigènes K ont été décrits : les souches les plus souvent pathogènes pour l'homme et les animaux appartiennent au type capsulaire 1 et 2 et plus rarement 3 et 4 K (**Struve et al., 2008**).

## 1.3. Habitat

*K. pneumoniae* est une espèce ubiquiste, isolées des eaux de surface, des eaux usées, des effluents industriels, du sol, du bois, de végétaux divers et des aliments (**Dong et al., 2003**). Elle est également retrouvée dans la flore fécale d'environ 30% des animaux et de l'homme, elle existe à l'état commensal sur la peau et les muqueuses, notamment respiratoires (**Baerwolf et al., 2002**).

## 2. Pouvoir pathogène et facteurs de virulence

En milieu hospitalier, *K. pneumoniae* est responsable d'infections diverses : (infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires, hépatiques intra-abdominales, bactériémies, septicémie,...) (**Chung et al., 1992 ; Podschum et al., 2000 ; Dong, 2003**). En milieu communautaire, elle est responsable d'infections urinaires et respiratoires (**Jarlier et al., 2004**). L'arthrite à *K. pneumoniae* est rare mais elle peut détruire l'articulation provoquant un handicap définitif (**Schelenz et al., 2007**).

Classiquement, *K. pneumoniae* n'est pas considérée comme agent de toxi-infections alimentaires. Cependant ; lors d'une toxi-infection alimentaire, une souche de *K. pneumoniae* du type capsulaire 15, a été capable de produire une exotoxine de type thermolabile (LT) et à été isolée de la viande et des selles des malades (**Guiraud, 1998**).

Les profils de virulence selon l'origine clinique suggèrent un rôle des sidérophores : l'entérobactine dans les infections urinaires et yersiniabactines dans l'invasivité. Les fimbriae F1 et F3, la capsule, la résistance au sérum et le biofilm, semblent être à la base de la pathogénicité classique de *K. pneumoniae* (**El Fertas-Aissani et al., 2012**).

### 2.1. Les sidérophores

Le fer joue un rôle essentiel dans la croissance et la multiplication bactérienne et la majorité des bactéries pathogènes ont développé des systèmes de captation du fer. Les souches de *K. pneumoniae* sont aptes à synthétiser trois sidérophores : enterobactine, aerobactine et yersiniabactine (**Fauchère et Avril, 2002**).

La grande majorité des souches synthétise de l'entérobactine, un sidérophore codé par le gène *entB*. Son expression favorise le développement et la maturation du biofilm (**May et al., 2011**). Dans le sérum, l'entérobactine est inactivé par l'albumine et les IgA. Cependant, il semble être un facteur de virulence important dans les infections urinaires (**Euzéby, 2004**).

L'aerobactine, un sidérophore hydroxamate, est un important déterminant de la virulence de *K. pneumoniae* (**Yu et al., 2007**). Les gènes codant pour la synthèse de ce sidérophore,

sont présents sur un plasmide de 180kb. L'introduction de ce plasmide dans une souche qui en est dépourvue permet d'augmenter la virulence d'un facteur 100. Parmi les souches produisant de l'aérobactine, certaines synthétisent également de la yersiniabactine, un sidérophore codé par le gene *ybtS* (Lai *et al.*, 2000).

### 2.2. Les fimbriae

La capacité d'adhésion de *K. pneumoniae* aux structures de son hôte est essentielle pour le développement de l'infection. Cependant peu d'études ont examiné l'influence des facteurs d'adhésion sur la virulence de cette bactérie (Di-Martino *et al.*, 1999 ; Podschun *et al.*, 2000). *K. pneumoniae* peut produire des fimbriae de type 1 qui semblent impliqués dans l'attachement aux cellules ciliées de l'appareil respiratoire et aux cellules vésicales (Di-Martino *et al.*, 1999). Ils sont impliqués, dans une certaine mesure, dans la formation de biofilm (El Fertas-Aissani *et al.*, 2012). *K. pneumoniae* peut également produire des fimbriae de type 3 qui permettent l'adhérence à différentes structures de tissus humains (rein, poumon, vessie ...). Ces fimbriae sont de puissants promoteurs de la formation de biofilm sur des surfaces biotiques et abiotiques. Ils ont par conséquent, un rôle dans les infections nosocomiales due au biofilm, en particulier chez les patients immunodéprimés (Schroll *et al.*, 2010). Les gènes *fimH* et *mrkD* codent pour les fimbriae de type 1 et de type 3 respectivement (Podschun *et al.*, 1998).

### 2.3. La capsule

Selon la spécificité des polysaccharides capsulaires, l'antigène K détermine 77 sérotypes distincts et différentes études de Taiwan révèlent que le sérotype K1 est prédominant dans les abcès hépatiques (Keynan *et al.*, 2007). L'hyperglycémie semble constituer un facteur favorisant la formation de la capsule et donc la virulence du germe (Lu *et al.*, 2002). Divers gènes pathogènes, *rmpA* (regulator of the mucoid phenotype A) et *magA* (mucoviscosity-associated gene A) rapportés par des auteurs taiwanais associent la virulence des souches au phénotype d'hypermucoviscosité. En effet, la corrélation entre le gène *magA* et le sérotype capsulaire a été étudiée : au Maroc, 134 isolats de *K. pneumoniae* portant le gène *magA*, issus d'abcès du foie, appartenaient tous au sérotype K1. En revanche, aucun des sérotypes non K1 n'était porteur de ce gène, suggérant que celui-ci est associé au gène du polysaccharide capsulaire de sérotype K1, constituant ainsi un important facteur de virulence (Keynan *et al.*, 2007).

## 2.4. Les chaînes polysaccharidiques terminales (chaînes O spécifiques) du lipopolysaccharide

Les chaînes polysaccharidiques terminales (chaînes O spécifiques) du lipopolysaccharide protègent les bactéries de l'activation du système complémentaire et des anticorps spécifiques. Comme chez de nombreuses entérobactéries, le lipide A (endotoxine) est doué de propriétés toxiques (**Di-Martino et al., 2003 ; Hansen et al., 2003**).

## 3. Résistance aux $\beta$ -lactamines

### 3.1. Les $\beta$ -lactamines

#### 3.1.1. Définition et mécanisme d'action

Les  $\beta$ -lactamines sont les antibiotiques les plus utilisés dans la pratique clinique courante (**Rodriguez-Villalobos et al., 2006**). Du fait de leur diversité, faible toxicité, activité bactéricide et large spectre d'action, les  $\beta$ -lactamines sont parmi les antibiotiques les plus utilisés dans les traitements des infections causées par les *Enterobacteriaceae* (**Bonnet, 2006**). Elles ont en commun un noyau  $\beta$ -lactam, elles présentent une analogie structurale avec la terminaison D-Ala-D-Ala du précurseur du peptidoglycane. Elles se fixent de manière covalente sur des protéines membranaires, appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Ces protéines sont des enzymes impliqués dans la phase finale de la synthèse du peptidoglycane, c'est-à-dire l'étape de polymérisation à partir de sous unités faites d'un disaccharide-peptide (**Bonnet, 2006**).

#### 3.1.2. Classification

Les  $\beta$ -lactamines, qu'elles soient naturelles ou produites par hémisynthèse, sont classées en fonction de la nature du noyau entrant dans leur structure de base (**Soussy et al., 2000**). On distingue : les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes, les monobactames ainsi que les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases (**Dabernat, 1995**).

#### 1. Les pénicillines (ou pénames)

Il s'agit d'une vaste famille de produits ayant en commun le noyau péname qui est caractérisé par un pentacycle saturé associé au noyau  $\beta$ -lactam. Les produits de ce groupe se distinguent par la nature du radical fixé sur le carbone en position 6 (**Cavallo et al., 2004**).

Ils se répartissent en cinq principaux sous groupes :

- ❖ La pénicilline G et ses dérivés ;
- ❖ Les pénicillines antistaphylococciques (pénicillines M) ;
- ❖ Les pénicillines à large spectre regroupant l'ampicilline et apparentés ainsi que les pénicillines anti-pseudomonas ;
- ❖ Les amidinopénicillines ;
- ❖ Les pénicillines sulfones (**Cavallo et al., 2004**).

## 2. Les céphalosporines

Le noyau central céphème associe un cycle  $\beta$ -lactam à un cycle dihydrothiazine (en position 1 on trouve un atome de soufre). Les substitutions du radical R1 en position 7 modifient les propriétés antibactériennes et la stabilité de la molécule (**Cavallo et al., 2004**).

Elles sont subdivisées en quatre groupes :

- ❖ **Les céphalosporines de première génération** : Céfalotine, Céfazoline, Céfaloridine.
- ❖ **Les céphalosporines de deuxième génération** : Céfoxitine, Céfamandole, Céfuxine, Céfotétan.
- ❖ **Les céphalosporines de troisième génération** : Céfotaxime, Ceftazidime, Ceftriaxone.
- ❖ **Les céphalosporines de quatrième génération** : Céfepime, Cefpirome.

## 3. Les carbapénèmes

Ils sont caractérisés par un noyau pénème et dérivent de la thiénamycine, produite naturellement par *Streptomyces cattleya*. L'atome de soufre du pentacycle pénème est remplacé par un atome de carbone pour donner un noyau pénème. Elles sont subdivisées en quatre groupes : Imipénème, méropénème, doripénème et ertapénème (**Cavallo et al., 2004**).

## 4. Les monobactames

Leur noyau se caractérise par la présence du noyau monocyclique, azétidine, limité au cycle  $\beta$ -lactam. Seule la molécule d'aztréonam est prescrite (**Cavallo et al., 2004**).

## 5. Les inhibiteurs des $\beta$ -lactamases

Se sont des pénames sans activité antibiotique notable ; ils se fixent de façon irréversible aux  $\beta$ -lactamases bactériennes ce qui protège les  $\beta$ -lactamines de l'inactivation et les rend efficaces sur des bactéries productrices de  $\beta$ -lactamases. Ces inhibiteurs sont :

- ❖ Acide clavulanique.
- ❖ Sulbactam.
- ❖ Tazobactam (**Cavallo et al., 2004**).

## 3.2. Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines

### 3.2.1. Mécanismes non enzymatiques

Les mécanismes non enzymatiques peuvent être regroupés en deux grands types de mécanismes : diminution de la perméabilité, et l'expression des pompes d'efflux (**Euzéby, 2008**).

#### ➤ Diminution de la perméabilité

Pour atteindre leurs cibles situées à la surface de la membrane cytoplasmique, les  $\beta$ -lactamines doivent diffuser aux travers des canaux spécialisés appelés porines. La diffusion est en fonction de la charge, la masse moléculaire et la polarité des molécules. Les  $\beta$ -lactamines touchées diffèrent selon la porine. La perte de porine provoque l'augmentation des concentrations minimales inhibitrices de certaines  $\beta$ -lactamines comme cela a été mis en évidence chez *K. pneumoniae* (**Nicaïdo, 2000**). La diminution de la perméabilité résulte souvent d'une mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines (**Pleïsiat et Zhha-Zarifi, 1996 ; Fauchère et Avril, 2002**).

#### ➤ Les pompes à efflux

Les systèmes d'efflux sont constitués de protéines particulières, jouant le rôle de pompes utilisant une force protons motrice pour expulser l'antibiotique dès qu'il apparaît dans la bactérie. Des mutations dans les régions régulatrices des opérons des systèmes d'efflux peuvent conduire à une surexpression des systèmes d'efflux associée ou non à une perte de porines, et conférer une multirésistance aux antibiotiques (**Poole, 2004**).

### 3.2.2. Mécanismes enzymatiques

La résistance aux  $\beta$ -lactamines est due principalement à la production d'enzymes ( $\beta$ -lactamases) capables d'hydrolyser l'anneau  $\beta$ -lactam commun à cette classe d'antibiotique (pénicillines, céphalosporines, monobactams, carbapénèmes) (**Rodriguez et al., 2006**).

## Synthèse bibliographique

---

Les  $\beta$ -lactamases sont des enzymes, constitutionnelles ou acquises, produites par les bactéries. Leur activité enzymatique provoque l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactam et crée un intermédiaire acyl-enzyme instable qui est ensuite dégradé en un acide inactif (**Vodovar et al., 2012**).

La classification la plus couramment utilisée pour « classer » les  $\beta$ -lactamases est celle d'Ambler (**Ambler et al., 1980**). Elle est basée sur la séquence peptidique du site enzymatique et distingue quatre classes (**Ambler et al., 1980**). La classe A correspond aux « pénicillinases » inhibées par l'acide clavulanique ; la classe B correspond aux « métallo- $\beta$ -lactamases » et peuvent hydrolyser les carbapénèmes, inhibées par l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) et contient des enzymes comportant deux atomes de zinc au site actif (**Nordmann et al., 2002**) ; la classe C regroupe les «céphalosporinases » non inhibées par l'acide clavulanique, sont codées par des gènes chromosomiques ou plasmidiques, le gène *ampC* constitutif est absent chez *K. pneumoniae* ; la classe D correspond aux «oxacillinases» de sensibilité variable à l'acide clavulanique. Les enzymes des classes A, C, et D sont des sérines-enzymes (**Bush et al., 1995**).

*K. pneumoniae* est naturellement résistante aux amino-pénicillines et carboxypénicilline en raison de la production d'une pénicillinase naturelle de classe A (SHV-1).

Les céphalosporinases (classe C), correspondaient jusqu'à une période récente à des enzymes chromosomiques, spécifiques d'espèce. Ce type d'enzyme lors d'hyperproduction (mutation d'un gène du métabolisme du peptidoglycane, *ampD*) conduit à un phénotype de résistance plus étendu ou large que celui d'une BLSE. Car, outre la résistance aux C3G, émerge celle vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine, céfotetan) et celle aux associations avec les inhibiteurs tel l'acide clavulanique (**Papanicolaou et al., 1990**). Ce n'est que vers 1988, que sont apparues aux Etats-Unis et en Europe, les premières souches cliniques de *Klebsiella* sp. (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) présentant un phénotype de résistance de type céphalosporines alors qu'elles n'en produisent pas naturellement (**Philippon et al., 2002**). La découverte de «céphalosporinases plasmidiques» originaires d'enterobactéries naturellement productrices, a été une nouvelle étape de la résistance acquise aux antibiotiques (C3G en particulier) par mobilisation de gènes chromosomiques (**Philippon et al., 2002**).

Les BLSE sont des  $\beta$ -lactamases qui appartiennent en majorité à la classe A de la classification d'Ambler (**Paterson et al., 2005**). Les BLSE confèrent habituellement aux bactéries un phénotype de résistance aux pénicillines, aux céphalosporines de première, deuxième et troisième génération ainsi qu'au céfépime et à l'aztréonam. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique. A l'inverse, elles ne confèrent pas de résistance vis-à-vis des céphamycines ou des carbapénèmes (**Paterson et al., 2005**).

## Synthèse bibliographique

---

Les BLSE sont principalement identifiées dans des souches de *K. pneumoniae* en milieu hospitalier. Ces BLSE dérivent des pénicillinases à spectre restreint TEM-1 et SHV-1 dont le spectre d'hydrolyse était élargi par la sélection de mutations ponctuelles localisées au niveau du site actif de l'enzyme **(Carrër et al., 2011)** ; en revanche les BLSE de type CTX-M retrouvées dans les entérobactéries dérivent des  $\beta$ -lactamases chromosomiques d'espèces du genre *Kluyvera* **(Ruppé, 2010)**. La dissémination de ces enzymes et en particulier du variant CTX-M-15 concerne l'ensemble des Entérobactéries, notamment *K. pneumoniae* **(Paterson et al., 2003)**. Le CTX-M-15 confère une forte résistance au céfotaxime et à l'aztréonam et il est bien inhibé par l'acide clavulanique et le tazobactam **(Poirel et al., 2002)**. Il est porté par des plasmides conjugatifs associant plusieurs autres déterminants de résistance aux antibiotiques **(Carrër et al., 2001)**.

La résistance aux carbapénèmes chez *K. pneumoniae* est due principalement à la production de  $\beta$ -lactamases de classe A (KPC) **(Chevet et al., 2012)**. Ces enzymes sont principalement présents chez *K. pneumoniae* avec un support plasmidique **(Nordmann et al., 2009)**. La première souche exprimant KPC (KPC-2) fut une souche de *K. pneumoniae*, identifiée en 1996 en Caroline du Nord aux Etats-Unis. Les KPC-2 hydrolysent toutes les  $\beta$ -lactamines et leur activité est partiellement inhibée par l'acide clavulanique **(Nordmann et al., 2009)**.

La métallo- $\beta$ -lactamase NDM-1 (New Delhi métallo- $\beta$ -lactamase) a été identifiée tout d'abord en Suède dans deux souches chez un patient d'origine indienne au début de l'année 2008. La première souche NDM-1 fut une souche de *K. pneumoniae* isolée d'un prélèvement urinaire **(Yong et al., 2009)**.

Les métallo- $\beta$ -lactamases de type VIM ont été identifiées dans différents pays dont la source principale est *K. pneumoniae*. Le groupe VIM comprend 23 variants dont les principaux représentants sont VIM-1, VIM-2, et VIM-7 **(Spyros et al., 2010)**. Ils sont généralement portés par des intégrons localisés sur des plasmides conjugatifs **(Queenan et al., 2007 ; Vatopolous et al., 2008)**.

La carbapénémase de classe D, OXA-48, a été décrite tout d'abord chez *K. pneumoniae* en Turquie il y a une dizaine d'années **(Carrër et al., 2010)**. Cette  $\beta$ -lactamase hydrolyse les carbapénèmes plus faiblement que KPC et n'hydrolyse pas les céphalosprines de troisième génération. Son activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique **(Uzun et al., 2008)**.

OXA-48 est souvent associée à d'autres  $\beta$ -lactamases, en particulier des BLSEs, ce qui contribue à la multirésistance des souches **(Carrër et al., 2010 ; Gülmez et al., 2010)**. En l'absence d'autres  $\beta$ -lactamases, les souches qui ne produisent que OXA-48 peuvent ne présenter qu'une légère diminution de la sensibilité aux carbapénèmes **(Aktas et al., 2008)**.

# *Matériels et méthodes*

## 1. Souches bactériennes

Dix souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées à partir d'aspiration trachéale réalisées chez des malades intubés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen ont fait l'objet de ce travail.

## 2. Isolement et purification

L'isolement est effectué par ensemencement sur gélose Mac Conkey. Les colonies sont repérées selon leurs aspects morphologiques et la purification se fait par passages successifs sur bouillon nutritif et gélose Mac Conkey jusqu'à obtention de souches pures.

## 3. Identification

L'identification des souches de *K. pneumoniae* est réalisée par galerie API 20 E qui est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif. La galerie API comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés qui sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

### ➤ Technique

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et remplir les alvéoles avec le l'eau distillée pour créer une atmosphère humide ;
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation ;
- Réaliser une suspension bactérienne dans 5 ml d'eau physiologique, en prélevant une colonie bien isolée ;
- Remplir tubes et cupules et tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne ;
- Remplir uniquement les tubes des autres tests ;
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine ;
- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24h ;

La lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture (**Annexe1**) (**Annexe2**), ou avec un logiciel (**API web®**), noter sur la surface de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (TDA, IND, VP).

### 4. Antibiogramme

La technique consiste à utiliser des disques d'antibiotiques déposés à la surface d'une gélose ensemencée avec la bactérie à étudier. Chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose, sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante qui inhibe leur croissance (CA-SFM, 2013).

#### ➤ Technique

- Préparer un inoculum bactérien en ensemencant 5 ml d'eau physiologique à partir d'une colonie de la souche à tester isolée sur milieu non sélectif ;
- Ajuster la densité par spectrophotomètre afin d'obtenir une culture bactérienne de 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 625 nm équivalent à 0,5 McFarland. Ceci correspond à une suspension bactérienne de  $10^8$  UFC/ml ;
- A partir de cette culture, réaliser une dilution au 1/100 dans l'eau physiologique ;
- A l'aide d'un écouvillon stérile, introduit dans la suspension bactérienne et essoré contre la paroi interne du tube, réaliser des stries serrées à la surface d'une boîte de Pétrie préalablement coulée avec 20 ml de gélose Mueller-Hinton. Répéter l'opération deux fois en tournant la boute 60° et tournant l'écouvillon sur lui-même ;
- Déposer les disques d'antibiotiques à tester à l'aide d'un distributeur ou d'une pince stérile.
- Incuber pendant 18 à 24h à 37°C ;
  - Les antibiotiques utilisés sont les suivants : Imipeneme / Céfoxitine / Cefalotine / Ampicilline / Ticarcilline / Ceftriaxone / Céftazidime.

Après 24 heures d'incubation à 37°C, on mesure les diamètres des zones d'inhibition et on détermine le caractère Sensible, Résistante ou Intermédiaire de la souche à étudier en se référant aux valeurs critiques publiées par le (CA-SFM, 2013) (Annexe 3).

### 5. Détection de la capsule

La capsule est mise en évidence par microscope optique sur un état frais à l'encre de chine, qui est une suspension de particules noires de carbone. Les particules noires ne pénètrent pas dans la capsule entourant la bactérie : elle apparaîtra alors comme un halo clair autour des bactéries.

### ➤ Technique

- Déposer une goutte de suspension bactérienne sur une lame ;
- Déposer à côté de la suspension une petite goutte d'encre de Chine ;
- Déposer la lamelle : on réalise ainsi le mélange des deux gouttes ;
- Observer au microscope optique à l'objectif 40.

# *Résultats et discussion*

## 1. Identification

L'identification par galerie API 20 E nous a permis de confirmer l'appartenance des souches au genre espèce *Klebsiella pneumoniae* (**Fig.1**). Ces souches ont été toutes isolées à partir d'aspiration trachéale réalisées chez des malades intubés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen.



Figure 1 : Identification d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* par galerie Api 20 E

## 2. Résistance aux $\beta$ -lactamines

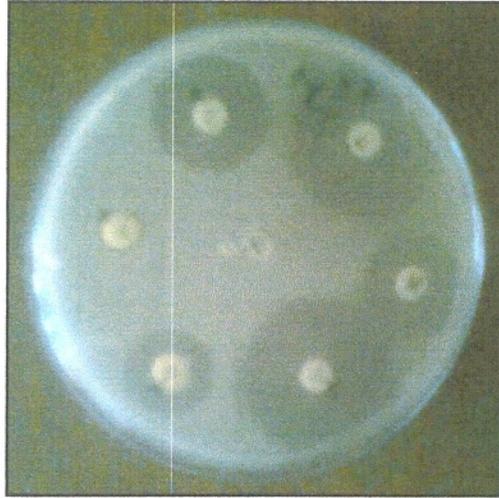
L'évaluation de la sensibilité des antibiotiques à l'hôpital est une phase primordiale, elle oriente le choix des traitements obsolète et permet de réduire la pression de sélection exercée par les antibiotiques (**Cavallo et al., 2004**). Les  $\beta$ -lactamines sont les antibiotiques de premier choix pour le traitement des infections à *K. pneumoniae* (**Husseïn et al., 2007**).

Les résultats de l'antibiogramme réalisé vis-à-vis des molécules de  $\beta$ -lactamines ont révélés que toutes les souches étudiées étaient résistantes à l'ampicilline, à la ticarcilline et aux céphalosporines : céphalotine, céftriaxone et ceftazidime (**Fig.2**). La résistance aux pénicillines et aux céphalosporines de première génération (céphalotine) chez les souches de *K. pneumoniae* est due à la production naturelle de leur pénicillinase chromosomique (**Arafa et al., 2009**). La résistance à la ceftazidime et à la céftriaxone peut être due à l'association des mécanismes pénicillinase plus imperméabilité membranaire (**Rice et al., 2000**) ou à la production d'une  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (**Vodovar et al., 2012**). La production de BLSE de type CTX-M a déjà été rapportée chez les souches de *K. pneumoniae* à l'hôpital de Tlemcen (**Baba Ahmed et al., 2012**).

## Résultats et discussion

---

Toutes les souches étaient sensibles à la céfoxitine et à l'imipénème (**Fig.2**). Ces résultats suggèrent que les souches étudiées n'hébergeaient ni de céphalosporinases plasmidiques ni de carbapénémases.



**Figure 2 : Antibiogramme d'une souche de *Klebsiella pneumoniae***

### 3. Virulence

La recherche de la capsule s'est révélée positive pour l'ensemble des souches testées. La capsule constitue un important facteur de virulence car elle protège la bactérie de la phagocytose et donc la virulence du germe (**Lu et al., 2002**).

Chez *K. pneumoniae*, la présence d'une capsule peut freiner ou inhiber la production de fimbriae et d'adhésines, et elle exprime généralement 2 types d'antigènes sur leur surface cellulaire. Le premier est un lipopolysaccharide (antigène O); l'autre est un polysaccharide capsulaire (antigène K). Ces deux antigènes contribuent à la pathogénicité (**Sikarwar et al., 2011**).

Les bactéries à gram négatif, quand elles sont capsulées semblent moins capables de produire des biofilm, et moins capable d'adhérer aux cellules-cibles de l'hôte (**Sahly et al., 2000**).

# *Conclusion*

## Conclusion

---

Ce travail a été réalisé sur une collection de dix souches cliniques de *K. pneumoniae* isolées de sondes d'aspiration trachéales chez des malades intubés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen.

*K. pneumoniae* est un pathogène opportuniste distribué dans tous les services hospitaliers surtout dans les unités de soins intensifs.

L'étude ressort deux principaux points qui sont les suivants :

- ✓ Toutes les souches de *K. pneumoniae* étudiées étaient sensibles à l'Imipinème et à la Cefoxitine. Ces molécules demeurent efficaces contre les infections à *K. pneumoniae*.
- ✓ La pathogénicité de cette bactérie est liée à l'expression de plusieurs facteurs de virulence dont la capsule, présente chez toutes les souches étudiées, qui protège la bactérie de la phagocytose et donc la virulence du germe.

Enfin, la surveillance régulière de la résistance aux antibiotiques et la connaissance de l'écologie bactérienne de chaque service sont indispensables pour définir des stratégies thérapeutiques efficaces, limiter l'émergence et la diffusion des souches multirésistantes et préserver les molécules les plus actives.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

1. **Ambler RP. 1980.** The structure of  $\beta$ -lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*; 289(1036) :321–31.
2. **Aktas Z., Kayacan CB., Schneider I. 2008.** Carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-48, persists in Istanbul, Turkey. *Chemother*; 54:101-6.
3. **Arafa N., Smati F., Scheffel J.M., Meunier O. 2009.** Caractérisation phénotypique et géotypique de souches de *Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae* isolées a l'hôpital universitaire de Constantine, Algérie. *Sciences et technologie C-N°* 30, p.43-49.
4. **Ayan M., Kuzucu C., Durmaz R., Aktas E., Cizmeci Z. 2003.** Analysis of three outbreaks due to *Klebsiella* species in a neonatal intensive care unit. *J Infect Control Hosp Epidemiol* 24 :495-500.
5. **Baba Ahmed Z., Ayad A., Mesli E., Messai Y., Bakour R., Drissi M. 2012.** CTX-M-15 extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Enterobacteriaceae in the intensive care unit of Tlemcen Hospital, Algeria. *Eastern Mediterranean Health Journal*. Vol.18 No : 4. *Santé de la Méditerranée orientale*.
6. **Baerwolf S., Geffers C., Behnke M. 2002.** Correlation between transmission and the nosocomial infection rate in five different intensive care units in German university hospital. *SHEA* 216.
7. **Birge EA. 1994.** *Bacterial and Bacteriophage Genetics*. Ed Springer, third ed. 8 :174-239 ; 12 :318-327.
8. **Bonnet R. 2006.**  $\beta$ -Lactamines et enterobacteries. In *Courvalin AntibioGramme*. Paris. ESKA : 2<sup>ème</sup> Ed. Chapitre 15 : 141.

## Références bibliographiques

---

9. **Bush K., Jacoby GA., Medeiros AA. 1995.** A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* ; 39(6):1211–33.
10. **Carrër A., Nordmann P. 2011.** *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15 : vers une modification de l'épidémiologie des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu ; *Pathologie Biologie* 59 e133-e135.
11. **Carrër A., Poirel L., Yilmaz M., et al. 2010.** Emerging spread of OXA-48-encoding plasmid from Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother* ; 54 :1369-73.
12. **CA-SFM. 2013.** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>
13. **Cavallo JD., Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrabé E. 2004.**  $\beta$ -lactamines. *EMC-Maladies Infectieuses*. 1 : 129-202.
14. **Chevet K., Guyot K., Mellon G., Vidal B., Couzigou C., Misset B., Janot K., Lambert T., Nguyen Van JC. 2012.** Détection phénotypique d'une carbapénémase associée à une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi chez *Klebsiella pneumoniae*. *Médecine et maladies infectieuses* 42 :33–35.
15. **Chung I., Lim TH., Koh Y., Song JH., Kim WS., Choi J., Mand Aush YH. 1992.** Nosocomial pneumonia in medico-surgical intensive care unit. *J Korean Med Sci* 7: 241-251.
16. **Di-Martino P., Sirot D., Joly A., Darfeuille-Michaud A. 1999.** A new fimbrial antigen harbored by CAZ-5/SHV-4 producing *Klebsiella pneumoniae* strains involved in nosocomial infections. *Infect. Immun* 64 : 2266-2273.

## Références bibliographiques

---

17. Di-Martino P., Cafferini N., Joly B., Darfeuille-Michaud A. 2003. *Klebsiella pneumoniae* type 3 pili facilitate adherence and biofilm formation on abiotic surfaces. Research in Microbiology 154 : 9-16.
18. Dong Y., Chellius MK., Brisse S., Kozyrovska G., Tripllet EW. 2003. Comparisons between two *Klebsiella*: the plant endophyt *K.pneumoniae* 342 and clinical isolate *K.pneumoniae* MGH78578. J Symbiosis 35: 247-259.
19. El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R. 2012. Virulence profils and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. Pathologie-Biologie 3048.
20. Euzéby JP. 2004. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature - Genus *Klebsiella* ; Type species: *Klebsiella pneumoniae* .Evol. Microbiol, 54, 2131-2136.
21. Euzéby JP. 2008. Résistances bactériennes aux antibiotiques. Abrégé de bactériologie générale et médicale ; 2615-2622.
22. Fauchère JL., Avril JL. 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed. 15: 252-253; 10: 151-176.
23. Guiraud JP. 1998. Microbiologie alimentaire. Ed ESKA. 15-24.
24. Gülmez D., Woodford N., Palepou MF. 2008. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. Int J Antimicrob Agents; 31:523-6.
25. Hanson ND. 2003. AmpC  $\beta$ -lactamases: what do we need to know for the future? J Antimicrob Chemother ; 52:2-4.
26. Husseine K., Sprecher H., Mashiach T., Rabino G., Eluk O., Kassis I., Braun E., Oren I., 2007. First outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in an Israeli university hospital. J Infection Control and Nosocomial Infection 24 : 34-8.

## Références bibliographiques

---

27. **Jarlier V., Nordmann P. 2000.** Entérobactéries et  $\beta$ -lactamines. In Frency J, Renaud F, Hansen W, Botler C. Précis de bactériologie clinique ; Ed. 649-665.
28. **Jarlier V., Carbonne A., Astagneau P., Coignard B. 2004.** Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN). Editions InVS ; p 84.
29. **Jonas D., Spitzmuller B., Daschner FD., Verhoef J., Brisse S. 2004.** Discrimination of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* phylogenetic groups and other *Klebsiella* species by use of amplified fragment length polymorphism. J Reseach in Microbiology 155 :17-23.
30. **Kariuki S., Corkill JE., Revathi G., Musoke R., Hart A., Keynan Y., Rubinstein E. 2007.** The changing face of *Klebsiella pneumoniae* infections in the community. International journal of Antimicrobiol Agents 6 :2474-2479.
31. **Keynan Y., Rubinstein E. 2007.** The changing face of *Klebsiella pneumoniae* infections in the community. Intern J Antimicrob Agents ; 30 :385-9.
32. **Lai YC., Yang SL., Peng HL., Chang HY. 2000.** Identification of genes present specifically in a virulent strains of *Klebsiella pneumoniae*. Infect Immun 68:7149-7151.
33. **Lu CH., Chang WN., Chang HW. 2002.** *Klebsiella meningitis* in adults : clinical features, prognostic factors and therapeutic outcomes. J Clin Neurosci ; 9 :533-8.
34. **May T., Okabe S. 2011.** Enterobactin is required for biofilm development in reduced-genome *Escherichia coli*. Environ Microbiol ; 13 :3149-62.
35. **Melano R., Corso A., Petrani A. 2003.** Multiple antibiotic-resistance mechanisms including a novel combination of extended spectrum  $\beta$ -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* clinical strains isolated in Argentina. J Antimicrobiol chemotherapy 52: 36-42.

## Références bibliographiques

---

36. Nauciel C. 2000. Bctériologie médicale. Ed Masson. 55-64.
37. Nicaido H. 2000. Multiple antibiotic resistance and efflux. Clin Microbio Infect; 6 : 22-26.
38. Nordmann P., Poirel L. 2002. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. Clin Microbiol Infect ; 8:321–31.
39. Nordmann P., Cuzon G., Naas T. 2009. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infect Dis ; 9:228–236.
40. Papanicolaou GA., Medeiros AA., Jacoby GA. 1990. Novel plasmid mediated  $\beta$ -lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino-and alpha-methoxy  $\beta$ -lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother ; 34 :2200-9.
41. Paterson DL., Bonomo RA. 2005. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev; 18(4):657–86.
42. Paterson DL., Hujer KM., Hujer AM., Yeiser B., Bonomo MD., Rice LB. 2003. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV-1 and CTX-M type  $\beta$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother ; 47: 3554–60.
43. Peña C., Pujol M., Ardanuy C., Ricart A., Pallare's R., Liñares J. 2001. An outbreak of hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia, strains producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. J Hosp Infect; 47: 53-9.
44. Philippon A., Arlet G., Jacoby GA. 2002. Plasmid-determined AmpC-type  $\beta$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother ; 46:1–11.
45. Plešiat P., Zhha-Zarifi I. 1996. Résistance par imperméabilité et par efflux chez les bacilles à Gram négatif. La lettre de l'infetiologue 16 : 495-507.

## Références bibliographiques

---

46. Podschun R., Fischer A., Ullman U. 2000. Expression of putative virulence factors by clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. J Med Microbiol 49: 115-119.
47. Podschun R., Ullmann U. 1998. *Klebsiella spp.* As nosocomial pathogens : epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev ; 11 : 589-603.
48. Poirel L., Gniadkowski M., Nordmann P. 2002. Biochemical analysis of the ceftazidime-hydrolysing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase CTX-M-15 and of its structurally related  $\beta$ -lactamase CTX-M-3. J Antimicrob Chemother ; 50:1031-4.
49. Poole K. 2004. Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. J Clin Microbiol Infect ; 10: 12-26.
50. Psychogiou M., Tassios PT., Avlami A., Stefanou I., Kosmidis C., Platsouka E. 2008. Ongoing epidemic of *bla*VIM-1-positive *Klebsiella pneumoniae* in Athens, Greece: a prospective survey. J Antimicrob Chemother ; 61: 59-63.
51. Queenan AM., Bush K. Rev 2007. Carbapenemases: the versatile  $\beta$ -lactamases. Clin Microbiol ; 20: 440-58.
52. Ramdani-Bouguessa N., Manageiro V., Jones-Dias D., Ferreira E., Tazir M., Canic M. 2011. Role of SHV  $\beta$ -lactamase variants in resistance of clinical *Klebsiella pneumoniae* strains to  $\beta$ -lactams in an Algerian hospital. Journal of Medical Microbiology ; 60, 983-987.
53. Rice I., Carias L., Hujer A. 2000. High-level expression of chromosomally encoded SHV-1  $\beta$ -lactamase and an outer membrane protein change confer resistance to ceftazidime and piperacillin-tazobactam in a clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrobiol Agents and Chemotherapy 44 : 362-5.

## Références bibliographiques

---

54. **Rodriguez-Villalobos H., Struelens MJ. 2006.** Résistance bactérienne par  $\beta$ -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation* 15. 205-213.
55. **Ruppé E. 2010.** Epidemiology of expanded-spectrum  $\beta$ -lactamases: the rise of CTX-M. *Antibiotiques* ; 12: 3–16.
56. **Sahly H., Podschun R., Oelschlaeger TA., Greiwe M., Parolis H., Hasty D., Kekow J., Ullmann U., Ofek I., Sela S. 2000.** Capsule impedes adhesion to and invasion of epithelial cells by *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun*, 68:6744-6749.
57. **Schelenz S., Bramham K., et al. 2007.** Septic arthritis due to extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*. *Revue de Rhumatisme* 74-491-495.
58. **Schroll C., Barken KB., Krogfelt KA., Struve C. 2010.** Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation. *BMC Microbiol* ; 10 :179-88.
59. **Sikarwar AS., Batra HV. 2011.** Identification of *Klebsiella pneumoniae* by Capsular Polysaccharide Polyclonal Antibodies. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, Vol. 2, No. 2.
60. **Soussy CJ., Renaud F., Hansen W., Boillet C. 2000.** Antibiotiques généralités. *Précis de bactériologieclinique*. Paris: ESKA- Alexandre Lacassagne; p. 557–569.
61. **Spyros P., Aggeliki P., Evangelia V., Georgia V., Ioulia K., Athanassios T. 2010.** Detection of the new metallo- $\beta$ -lactamase VIM-19 along with KPC-2, CMY-2 and CTX-M-15 in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal Antimicrob Chemother* ; 65:1604–1607.
62. **Sruve C., Bojer M., Krogfelt KA. 2008.** Characterization of *Klebsiella pneumoniae* type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on virulence. *J Infect Immun* 76(9) : 4055-65.

## Références bibliographiques

---

63. Uzun O., Hascelik G., Livermore DM. 2008. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int J Antimicrob Agents* ; 31 : 523-6.
64. Vodovar D., Marcadé G., Raskine L., Malissin I., Mégarbane B. 2012. Entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesure de prévention (la revue de médecine interne). *REVMED*-4457.
65. Vatopolous A. 2008. High rates of metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece- a review of the current evidence. *EuroSurveillance* ; 13: 8023.
66. Yong D., Toleman MA., Giske CG., et al. 2009. Characterization of a new metallo- $\beta$ -lactamase gene, *bla* (NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* ; 53 : 5046-54.
67. Yu VL., Hansen DS., Ko WC., Sagnimeni A., Klugman KP., von Gottberg V. 2007. Virulence characteristics of *Klebsiella* and clinical manifestations of *K.pneumoniae* bloodstream infections. *Emerg Infect Dis* ; 13 : 986-93.
68. 13<sup>ème</sup> rapport d'évaluation de l'institut Pasteur d'Alger, 2011. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.

# *Annexes*

# Annexes

## Annexe 1

- Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20E :

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / Immédiat	
			jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND / 2 mn, maxi	
			jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune

# Annexes

## Annexe 2

Tableau de lecture de la galerie Api 20E :

API 20 E	VLO	CNPS	ACH	LDC	CCC	CIT	HSB	URE	TDA	NO	VP	GEL	GU	MAN	NO	SOR	RHA	SAC	ME	AMV	ARA	CK	NO2	N2	MOB	MtC	OF10	OFF
<i>Bacteroides opacis</i>		100	0	0	85	25	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	99	0	92	99	100	0	100	0	100	100	100	
<i>Ceclotia divisa</i>		99	89	0	99	75	0	0	0	0	89	0	100	100	10	0	0	100	0	100	1	0	99	0	100	100	100	
<i>Ceclotia bipartita</i>		99	99	0	0	75	0	0	0	0	90	0	100	99	0	0	0	0	1	100	1	0	99	0	100	100	100	
<i>Obidobacter brassii</i>		90	45	0	99	75	81	1	0	4	0	0	100	100	1	100	100	1	91	99	99	0	100	0	100	100	100	
<i>Obidobacter frandii</i>		90	24	0	0	75	75	1	0	1	0	0	100	99	25	99	99	99	82	99	99	0	98	0	95	100	100	
<i>Obidobacter kassabianensis</i>		99	75	0	100	97	0	1	0	99	0	0	100	100	25	99	99	1	1	98	99	0	100	0	95	100	100	
<i>Obidobacter kassabianus</i>		99	2	0	100	25	0	1	0	99	0	0	100	100	1	99	99	99	80	99	99	0	100	0	95	100	100	
<i>Obidobacter youngi</i>		100	90	0	1	80	80	0	0	1	0	0	100	100	0	95	100	1	0	25	100	0	95	0	95	100	100	
<i>Edwardsiella histiola</i>		0	0	100	99	90	94	0	0	99	0	0	100	100	0	0	1	100	0	0	1	0	100	0	100	100	100	
<i>Edwardsiella bovis</i>		0	0	100	99	1	75	0	0	99	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	96	100	100	
<i>Enderbrogia erogenes</i>		99	0	99	99	82	0	1	0	0	85	0	99	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	97	100	100	
<i>Enderbrogia erogenus</i>		99	25	0	99	90	0	0	0	0	75	0	100	100	0	1	100	99	99	99	99	0	100	0	92	100	100	
<i>Enderbrogia erogenus</i>		99	80	0	99	80	0	0	0	0	75	0	100	100	0	99	100	1	99	99	99	0	100	0	100	100	100	
<i>Enderbrogia artemis</i>		100	25	0	99	80	0	0	0	0	10	0	100	99	25	100	0	99	0	100	100	0	100	0	95	100	100	
<i>Enderbrogia artemis</i>		100	75	0	99	99	0	0	0	0	89	0	100	100	0	1	100	1	1	100	100	0	100	0	99	100	100	
<i>Enderbrogia doane</i>		98	82	1	92	90	0	1	0	0	85	0	99	99	12	90	85	96	90	99	99	0	100	0	95	100	100	
<i>Enderbrogia gurguis</i>		99	0	92	100	75	0	99	0	0	90	0	100	99	23	1	100	99	100	99	100	0	100	0	90	100	100	
<i>Enderbrogia intermedia</i>		99	0	0	99	1	0	0	0	0	2	0	100	97	0	88	99	99	100	99	99	0	100	0	92	100	100	
<i>Enderbrogia pakistani</i>		100	96	0	91	94	0	1	0	25	31	10	100	100	75	0	99	99	99	99	99	0	100	0	96	100	100	
<i>Exochordia coli</i>		90	1	74	78	0	1	3	0	89	0	0	99	98	1	91	82	95	75	3	99	0	100	0	95	100	100	
<i>Exochordia coli</i>		28	1	45	20	0	1	1	0	90	0	0	99	90	1	42	90	3	3	1	70	0	98	0	5	100	100	
<i>Exochordia leucostriata</i>		96	1	99	100	1	0	0	0	99	0	0	100	99	1	0	87	0	1	99	99	0	100	0	93	100	100	
<i>Exochordia lemmeri</i>		100	0	1	100	1	0	0	0	99	0	0	100	100	0	0	99	25	0	99	99	0	100	0	99	100	100	
<i>Exochordia rotunda</i>		100	90	90	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	95	7	95	95	99	0	100	0	100	100	100	
<i>Exiguella erudita</i>		98	0	0	0	75	0	0	0	0	95	1	99	99	0	0	1	0	1	90	1	0	100	0	90	100	100	
<i>Hafnia aliv</i>		75	0	99	99	90	0	10	0	0	90	0	99	99	0	1	99	0	0	25	99	0	100	0	85	100	100	
<i>Hafnia aliv</i>		90	0	99	99	1	0	1	0	0	10	0	99	98	0	1	1	1	0	0	1	0	100	0	100	100	100	
<i>Haemophilus urethralis</i>		100	0	99	99	99	0	85	0	100	95	0	100	100	99	100	100	100	100	100	100	0	100	0	100	100	100	
<i>Haemophilus influenzae</i>		99	0	80	0	89	0	78	0	99	80	0	100	100	99	100	99	99	100	100	100	0	100	0	100	100	100	
<i>Haemophilus influenzae</i>		94	18	25	1	18	0	1	0	0	1	0	99	96	97	99	99	20	80	97	85	0	92	0	100	100	100	
<i>Haemophilus influenzae</i>		99	0	75	0	86	0	75	0	0	90	0	100	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	
<i>Haemophilus influenzae</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	90	90	75	75	1	99	10	0	100	0	100	100	100	
<i>Haemophilus teretis</i>		100	0	99	99	92	0	0	0	0	75	0	99	99	99	99	99	100	100	100	99	0	100	0	100	100	100	
<i>Mycobacterium</i>		95	0	25	99	80	0	0	0	80	0	0	100	99	0	25	93	89	99	99	99	0	95	0	94	100	100	
<i>Legionella pneumophila</i>		99	0	0	0	0	0	1	0	99	0	1	100	99	0	2	100	95	99	99	100	0	100	0	100	100	100	
<i>Legionella pneumophila</i>		54	18	25	1	18	0	1	0	0	1	0	99	96	97	99	99	20	80	97	85	0	92	0	100	100	100	
<i>Legionella pneumophila</i>		99	0	75	0	86	0	75	0	0	90	0	100	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	
<i>Legionella pneumophila</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	90	90	75	75	1	99	10	0	100	0	100	100	100	
<i>Legionella terrigena</i>		100	0	99	99	92	0	0	0	0	75	0	99	99	99	99	99	100	100	100	99	0	100	0	100	100	100	
<i>Mycobacterium</i>		95	0	25	99	80	0	0	0	80	0	0	100	99	0	25	93	89	99	99	99	0	95	0	94	100	100	
<i>Legionella pneumophila</i>		99	0	0	0	0	0	1	0	99	0	1	100	99	0	2	100	95	99	99	100	0	100	0	100	100	100	
<i>Mooreella viscosa</i>		97	0	0	0	90	0	0	0	15	1	0	100	1	0	0	0	100	99	0	0	0	90	0	100	100	100	
<i>Morganella morganii</i>		1	0	10	98	1	1	99	93	99	0	0	99	0	0	0	0	1	0	0	0	0	88	0	95	100	100	
<i>Pantoea</i>		85	1	0	0	13	0	1	0	1	9	1	100	99	1	26	1	98	26	99	61	0	85	0	85	100	100	
<i>Pantoea</i>		95	1	0	0	99	0	1	0	99	99	0	100	99	99	82	90	98	81	99	99	0	85	0	85	100	100	
<i>Pantoea</i>		99	1	0	0	21	0	1	0	1	86	15	100	99	99	1	97	93	23	95	57	0	85	0	85	100	100	
<i>Pantoea</i>		86	1	0	0	29	0	1	0	99	1	1	99	100	10	92	99	72	89	99	99	0	85	0	85	100	100	
<i>Proteus</i>		1	0	0	0	99	99	75	99	99	1	1	82	99	0	0	0	0	1	0	0	0	99	0	95	100	100	
<i>Proteus</i>		1	0	0	0	1	20	100	99	0	0	99	99	0	0	0	0	100	0	1	0	0	99	0	85	100	100	
<i>Proteus</i>		1	0	0	0	12	83	99	99	99	32	0	76	99	1	1	0	1	83	0	99	1	100	0	94	100	100	
<i>Providencia shahmoradiani</i>		0	0	0	0	80	0	0	100	99	0	0	99	1	1	0	0	1	0	0	1	0	100	0	96	100	100	
<i>Providencia setifera</i>		1	1	0	0	91	0	99	99	90	0	0	98	82	71	1	99	25	0	90	1	0	98	0	94	100	100	
<i>Providencia stuartii</i>		1	0	0	0	85	0	99	98	95	0	0	98	3	60	0	0	15	0	0	0	0	100	0	85	100	100	
<i>Providencia aquatica</i>		100	0	0	0	90	0	0	1	0	99	0	100	100	0	98	99	100	97	100	98	0	100	0	100	100	100	
<i>Salmonella enterica</i>		98	75	97	98	75	99	0	0	1	0	0	100	99	0	99	99	1	78	0	99	0	100	0	99	100	100	
<i>Salmonella enteritidis</i>		0	15	99	99	5	84	0	0	0	0	0	100	99	0	98	99	0	20	0	0	0	100	0	95	100	100	
<i>Salmonella gallinarum</i>		0	1	100	1	0	25	0	0	0	0	0	100	100	0	0	1	0	0	0	100	0	100	0	100	100	100	

# Annexes

## Annexe 3

- Tableau des concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour Enterobacteriaceae :

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/l.)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 16	Interprétation valable pour bacampicilline, pivampicilline. Cf. règles (1) et (2).
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 16	Cf. règles (1) et (2).
Ampicilline/sulbactam	10/10 µg	≤ 4/8	> 8/8	≥ 19	< 16	Cf. règle (1b).
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 8/2	≥ 21	< 16	Cf. règle (1b) et (5).
Ticarcilline	75 µg	≤ 8	16	≥ 24	< 22	Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1), (2) et (3).
Ticarcilline/ac. clavulanique	7,5/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	≥ 24	< 22	Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1), (2) et (3).
Pipéracilline	75 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 16	
Pipéracilline/azobactam	7,5/10 µg	≤ 8/4	> 16/4	≥ 21	< 17	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Méccillinaim	10 µg	≤ 8	> 8	≥ 24	< 22	
Imipénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17	Déterminer la CMI en cas de résistance par diffusion à l'ertapénème avec sensibilité à l'imipénème.
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15	
Ertapénème	10 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 28	< 26	
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	
Aztréonam	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 27	< 21	Cf. règles (4) et (5).
Céfaloine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12	Interprétation valable pour les céphalosporines injectables de 1ère génération (cefapirine, cefazoline). Interprétation également valable pour les céphémes orales de 1ère génération (cefadroxil, cefalexine, cefradine, cefaclor, cefatrizine, loracarbef) mais uniquement pour les souches isolées des urines.
Céfuroxime	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 22	< 23	Pour les 6 céphalosporines de ce groupe cf. règles (4) et (5)
Céfamandole	30 µg	≤ 8	> 12	≥ 22	< 15	
Céfotaxime	30 µg	≤ 8	> 12	≥ 22	< 15	
Céfotaxime	30 µg	≤ 4	> 12	≥ 23	< 17	
Latanosef	30 µg	≤ 4	> 12	≥ 23	< 17	
Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Ceftazidime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	
Ceftazidime	30 µg	≤ 1	> 4	≥ 26	< 19	
Céfépime	30 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 17	
Cefuroxime	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 24	< 17	
Céfuroxime	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 25	< 22	
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	
Tobramycine	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (6), (9) et (11).
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf. règles (6) et (7).
Isépanamicine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf. règles (6) et (7).
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (6), (8) et (11).
Nétilmicine	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 19	Cf. règles (6), (10) et (11).
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiampénicol.
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline.
Minocycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	En cas d'utilisation thérapeutique, il y a lieu de déterminer la CMI pour les diamètres de 19 et 20 mm.
Tigécycline	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 21	< 19	
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15	Les diamètres ont pour but de vérifier la résistance naturelle de certaines espèces, mais ne permettent pas de détecter toutes les résistances acquises ce qui impose de déterminer la CMI en cas d'utilisation thérapeutique. Interprétation valable pour polymyxine B.
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprime	5 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 16	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 2/38	> 4/76	≥ 16	< 13	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide.
Nitrofuranes	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Acide oxolinique	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 17	Il est justifié de fournir une réponse globale pour l'ensemble du groupe des quinolones classiques (parfois appelées de première génération) en n'étudiant qu'un seul représentant de ce groupe. Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Fluorénone	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 21	
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15	
Acide pipémidique	20 µg	≤ 8	> 16	≥ 19	< 14	
Acide piromidique	25 µg	≤ 16	> 32	≥ 20	< 16	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules mais son niveau d'expression peut varier pour chaque molécule. Les souches d'entérobactéries sensibles à la norfloxacine (NOR) sont sensibles aux autres fluoroquinolones. Pour les souches I (ou R) à NOR, des différences d'activité intrinsèque impliquent un test et une réponse indépendante pour les autres molécules.
Enoxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17	Les souches de <i>Salmonella</i> spp. résistantes à l'acide nalidixique doivent être catégorisées résistantes aux fluoroquinolones.
Loméfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 24	< 21	
Norfloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Ofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	
Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte. Interprétation valable pour la fosfomycine-trométamol.
Azithromycine		≤ 16				Valable pour <i>Salmonella</i> sérotype Typhimurium et <i>Shigella</i> spp.

## Annexes

---

### Annexe 4

- Résultat de l'antibiogramme pour les souches de *Klebsiella pneumoniae* :

	FOX	IMP	AMP	KF	TIC	CRO	CAZ
Kp 24 T	I	S	R	R	R	R	R
Kp 35 T	S	S	R	S	R	S	I
Kp 36 T	S	S	R	R	R	R	R
Kp 37 T	S	S	R	S	R	S	R
Kp 40 T	S	S	R	R	R	R	R
Kp 43 T	S	S	R	R	R	R	R
Kp 47 T	S	S	R	S	R	S	R
Kp 48 T	S	S	R	S	R	S	R

## Annexe 5

- Composition des milieux utilisés :

- ✓ **Bouillon nutritif**

- Peptone 15g/L
- Extrait de viande 10 g/L
- Extrait de levures 2 g/L
- pH = 6,8-7,6

- ✓ **Eau physiologique stérile**

- Eau distillée 1L
- NaCl 9g

- ✓ **Gélose Mac Conkey**

- Peptone 20g/L
- Lactose 10g/L
- Sels biliaires 1,5 g/L
- Cristal violet 0,001g/L
- Rouge neutre 0,05g/L
- Chlorure de sodium 5g/L
- Agar 15g/L
- pH = 7,1

- ✓ **Gélose nutritive**

- Extrait de viande 1g/L
- Extrait de levure 2 g/L
- Peptone 5 g/L
- NaCl 5 g/L
- Agar 15 g/L
- pH = 7,4

- ✓ **Mueller-Hinton**

- Solide perfusion Bœuf 2 g/L
- Amidon 1,5 g/L
- Casien hydrolysé 17,5 g/L
- Agar 17 g/L

## Résumé

La présente étude visait à détecter les facteurs de virulence et de résistance aux  $\beta$ -lactamines des souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* isolées des prélèvements à partir des sondes d'aspiration trachéale. Au totale, 10 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées, identifiées, et testés leurs résistances vis-à-vis de 7 antibiotiques ( $\beta$ -lactamine). Les antibiotiques qui présentent le plus d'efficacité sont : Imipenème et Cefoxitine. La résistance a l'Ampiciline et Ticarcilline (100%), Cefalotine (90%) et Ceftriaxone (50%). Les résultats sont positifs pour la présence d'un facteur de virulence qui est la capsule où elle apparait comme un halo clair autour des bactéries. Enfin, la surveillance régulière des mécanismes de résistance est indispensable pour définir des stratégies préventifs et l'usage plus réactionnel des antibiotiques.

**Mots clés :** *Klebsiella pneumoniae*, virulence, résistance,  $\beta$ -lactamines.

## Abstract

The aim of this study was to detect the factors of virulence and resistance in  $\beta$ -lactamines of strains of *Klebsiella pneumoniae* isolated from the probes of tracheal inhalation specimens. In all, 10 strains of *Klebsiella pneumoniae* were isolated, identified, and tested their resistance towards 7 antibiotics ( $\beta$ -lactamine). Antibiotics that are most effective : are imipineme and Cefoxitine. The resistance has Ampiciline and Ticarcilline (100 %), Cefalotine (90 %) and Ceftriaxone (50 %). The results are positive for the presence of a factor of virulence which is the capsule where she appears as a clear halo around bacteria. Finally, regular monitoring of mechanisms is essential to define a prevention strategy, and more rational and appropriate use of antibiotics.

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae*, virulence, resistance,  $\beta$ -lactamines.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة للكشف عن عوامل الضراوة و مقاومة البيبتالاكتامين في مستفردات الكليبيسلة الرئوية المعزولة من عينات الاستنشاق الرئوي. و شملت الدراسة عشرة مستفردات من الكليبيسلة الرئوية التي تم عزلها و تحديد اختبار مقاومة 7 مضادات حيوية ( $\beta$ -lactamine). المضادات الحيوية التي تمثل أكثر كفاءة هي imipineme و Cefoxitine. المقاومة كانت بنسبة 100 % بالنسبة Ampiciline و Ticarcilline 100 % و Cefalotine (90 %) و Ceftriaxone (50 %). النتائج كانت ايجابية على وجود غشاء يظهر واضحا حول البكتيريا. و أخيرا المراقبة العادية لآليات المقاومة هو أمر أساسي في إنشاء إستراتيجية للوقاية و الاستخدام الفعال للمضادات الحيوية.

**الكلمات المفتاحية :** الكليبيسلة الرئوية, الضراوة, مقاومة, البيبتالاكتامين.