

## MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES DE SOUCHES DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* subsp *PNEUMONIAE* ISOLEES AU CHU DE CONSTANTINE (ALGERIE)

Sekhri-Arafa N<sup>1</sup>, Smati F<sup>2</sup>, Scheftel JM<sup>3</sup>, Meunier O<sup>4</sup>.

- 1- Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri., Constantine, Algérie.
- 2- Laboratoire de Bactériologie CHU de Constantine, Algérie.
- 3- Institut de Bactériologie, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France.
- 4- Laboratoire d'Hygiène, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg France.

### RESUME

L'objectif de cette étude rétrospective est d'étudier les isolats de *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* ainsi que leur dissémination clonale à l'Hôpital Universitaire de Constantine. De septembre 2002 à juin 2004, 170 souches de *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* (Kp) ont été recueillies. Notre travail a porté sur 52 d'entre elles. Trois marqueurs épidémiologiques ont été utilisés : le biotype, l'antibiotype et le pulsotype ainsi que le test du  $\chi^2$  avec analyse de la variance pour la comparaison des taux d'incidence d'une année à l'autre. Cinq biotypes ont été déterminés dont un prédominant. Cinq antibiotypes ont été caractérisés. L'électrophorèse en champ pulsé montre la présence de 4 principaux clones et de 28 clones isolés. L'analyse statistique montre une variabilité significative d'une année à l'autre. Ces résultats soulignent que la pulsotypie est la technique la plus discriminante. Bien que les résultats de ces trois techniques ne soient pas totalement superposables, on peut observer néanmoins la présence de quatre clones dominants de *K.pneumoniae* dans les services à haut risque durant la période considérée.

La répartition des phénotypes de résistance montre que 27% des souches produisent une pénicillinase à bas niveau (PNB), 13% produisent une pénicillinase à

haut niveau (PHN) et 60% sont des *K.pneumoniae* productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (K.p BLSE (+)). On notera aussi la présence d'une souche avec un phénotype rare, résistance aux inhibiteurs (TRI).représentant environ 2% de l'ensemble des phénotypes.

Une majorité des isolats de *Klebsiella pneumoniae* du CHU de Constantine est caractérisée par la production de bêta-lactamases à spectre étendu associée le plus souvent à une résistance aux aminosides .L'électrophorèse en champ pulsé est le marqueur épidémiologique le plus discriminant.

**Mots-clés :** bêta-lactamases à spectre étendu - *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* Marqueur épidémiologique -Résistance aux antibiotiques.

## **Abstract**

### **Epidemiological scores of *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* strains isolated at Constantine Hospital. (Algeria).**

The objective of this retrospective survey is to study the isolates of *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* as well as their clonal dissemination in the University Hospital of Constantine.

From September 2002 to June 2004, 170 strains of *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* (*K.p*) have been collected .Our work was carried out 52 among them. Three epidemiological scores have been used: biotype, antibiotype and pulsotype. A statistical analysis based on the results of the antibiotyping has been achieved.

Five biotypes are determined of which one is predominant. Five antibiotypes have been characterized and the pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) gave 4 main clones as well as 28 isolated clones. The statistical analysis gave significant variability year to year. These results reveal that the pulsotyping is the most discriminative criteria. Although the results of the three techniques are not completely superposable,

nevertheless we can observe the presence of four clones of *K.pneumoniae* in high risk infection services, during the considerate period. Phenotypes repartition shows that 27% are low penicillinase level (PLL), 13% are high penicillinase level (PHL) and 60% are *K.pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases (Kp EBLS +). We noted one strain with singular phenotype, resistant to inhibitors (TRI) representing 2 % of all the phenotyps. *Klebsiella pneumoniae* isolates of Constantine Hospital are in majority producing extended-spectrum beta-lactamase associated frequently with resistance to aminosids. Pulsed field gel electrophoresis is the most discriminative epidemiological score.

**Key -Words:** *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae*, antibiotic resistance, epidemiological score, extended-spectrum beta-lactamases (EBLS).

## INTRODUCTION

Les infections à *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* (K.p) et surtout à *K.pneumoniae* productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) représentent une cause importante de morbidité et de mortalité en milieu hospitalier. Heggman et al (2004). *Klebsiella pneumoniae* se propage manifestement de manière épidémique et est responsable d'infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter. Bergogne-Berézin (2002), Malak, (2003). Dabernat et al.( 2004). La mise en évidence du caractère épidémique de l'infection est importante pour la mise en œuvre rapide des mesures préventives. Babini et al.(2003). Dans cet optique, nous nous sommes intéressés à mesurer d'abord la fréquence de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux. Cette fréquence est déterminée en fonction des services et des prélèvements. Ensuite nous avons vérifié la clonalité des souches, étudié la dissémination clonale à l'hôpital en réalisant l'antibiotypie, la biotypie, et la pulsotypie. Afin d'obtenir une information épidémiologique plus précise, une analyse statistique avec le test du  $\chi^2$  a été réalisée pour la comparaison des taux d'incidence d'une année à l'autre.

## MATERIEL ET METHODES

### 1°) Souches de *K. pneumoniae* utilisées

Notre étude a porté sur 52 souches isolées entre septembre 2002 et juin 2004. Ces souches proviennent essentiellement des services de réanimation, de médecine interne de chirurgie et de néonatalogie. Les tests de Biotypie, antibiotypie et pulstotypie ont été réalisés pour chacune des souches. Les 52 souches se répartissent entre 44 souches hospitalières et 8 communautaires.

### 2°) Biotypie et antibiotypie

Les 52 souches ont fait l'objet d'une identification biochimique avec le système API 20E® (bioMérieux., Marcy l'Etoile, France). Jacoby et *al.* (2004). Un antibiogramme comportant 22 antibiotiques a été réalisé par la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton. Galani et *al.* (2002). Parmi les  $\beta$ -lactamines nous avons testé les molécules suivantes: des pénicillines, dont l'amoxicilline (AMX), l'association amoxicilline+ ac-clavulanique (AMC); des ureidopenicillines dont la piperacilline (PIP) et piperacilline + tazobactam (TZP); des carboxypenicillines, dont la ticarcilline (TIC) et ticarcilline+ ac-clavulanique (TCC). Comme céphalosporines de première génération (C1G), la céfalotine (CF), la céfoxitine (FOX) et le cefotetan (CTT) comme céphalosporines de deuxième génération (C2G). La ceftazidime (CAZ), et le cefotaxime (CTX) comme (C3G). Comme monobactam l'aztreonam (ATM). Les aminoglycosides testés sont: la gentamicine (GN), la tobramicine (TN), amikacine (AN) et iséпамycine (ISP). Pour Les fluoroquinolones, l'acide nalidixique (NAL) comme quinolone de première génération, la ciprofloxacine (CIP) et l'ofloxacine comme fluoroquinolones. Enfin le triméthoprime sulfaméthaxazol (SXT) comme sulfamides. La recherche de BLSE est effectuée par la mise en évidence d'une synergie entre les molécules d'amoxicilline-ac-clavulanique et le cefotaxime, l'aztréonam, la céftazidime et

la céftriaxone. De Gherldre et al.(2003) , Melano et al. (2003). Les souches de diamètre diminué aux C3G (CTX $\leq$  27mm, CAZ $\leq$ 22mm, ATM $\leq$ 27mm) avec absence d'image de synergie ont fait l'objet d'une recherche de céphalosporinase de haut niveau (CHN). La recherche est réalisée sur milieu Mueller Hinton additionnée d'oxacilline à 250  $\mu$ g/L. Les CMI ont été déterminées à l'aide d'un automate VITEK 2 en utilisant les cartes VITEK AST N 017® pour antibiogramme de bacilles à Gram négatif (bioMérieux), à partir d'une suspension à 0,5 Mac Farland.

### 3°) Electrophorèse en champ pulsé

La pulsotypie a été réalisée sur les 52 souches en utilisant le Kit Gène Path ® Cremp 3 Reagent Kit (BioRad-Diagnostic, Ivry-sur –Seine, France), selon la méthode indiquée par le fabricant, et en utilisant l'enzyme de restriction SpeI. Hansen et al. (2002).

## RESULTATS

### 1°) Souches et malades

Cinquante deux isolats de *K. pneumoniae* provenant de 52 patients ont été recueillis, soit une souche par malade. Les souches testées se répartissent en 28 souches isolées de femmes et 24 souches isolées chez des hommes. Cette répartition presque à part égale nous indique que le sexe n'a pas d'influence. Les prélèvements de pus occupent la place de vedette avec une fréquence de 46.5%, suivis des prélèvements des urines et de sang avec respectivement 25.2% et 28.3%. La répartition selon les services donne 34.7% de souches isolées de la réanimation, 24.7% des unités fonctionnelles de médecine interne, 24.7% de chirurgie et 12.3% de néonatalogie. Parmi l'ensemble des 52 souches de *K.p* isolées, 31/52 soit (60%) se sont révélées productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (*K.p* BLSE+). Le service pourvoyeur de ces *K.p* BLSE est essentiellement le service de réanimation. Les malades porteurs de ces *Klebsiella pneumoniae* et surtout de *K .pneumniae* BLSE (+), sont des patients qui ont fait de

longs séjours à l'hôpital, essentiellement dans les services de réanimation, de chirurgie ou de médecine. Ces patients sont sondés, ventilés et surtout traités par des antibiotiques à large spectre.

## 2°) Biotypie

L'analyse en galerie API 20E a permis de caractériser 5 profils numériques différents, le 5215773, le 5205773 (urée -), le 5214773 (VP-), le 52155573 (inositol-), le 5205573 (urée-, inositol-). (Tableau I).

**TABLEAU I : PROFIL NUMERIQUES DES BIOTYPES DE *K. pneumoniae* ET REACTIONS BIOCHIMIQUES CORRESPONDANTES**

Profil numérique	Réaction biochimique
5215773	
5205773	Urée
5214773	VP
52155573	Inositol
5205573	(Urée-) + (inositol-)

Urée- : uréase négative ; VP- : Réaction Voges Proskawer négative (ne produit pas d'acétoïne) ; inositol- : ne fermente pas le sucre inositol

Parmi ces profils, le 5215773 est le prédominant ; il est retrouvé dans 47 cas sur les 52 ; soit une fréquence de 90,38%, suivi du profil numérique 5205773 avec 7,69% et du 5214773 avec 5,76% ; les profils 52155573 et 5205573 sont retrouvés avec une fréquence de 3,84%.

### 3°) Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

Les résultats de l'étude de la sensibilité des 52 isolats de *Klebsiella pneumoniae* (tableau II) aux 22 différents antibiotiques utilisés montrent que toutes les souches sont résistantes ou intermédiaires (R+I) à l'amoxicilline, résistantes à hauteur de 81% à l'AMC, et de 77% aux céphalosporines de première génération. La résistance aux autres antibiotiques est variable. Le tazobactam associé à la piperacilline (tazocilline) réduit la résistance de *Klebsiella pneumoniae* à la piperacilline (33% contre 81% respectivement).

**TABLEAU II: POURCENTAGE DE SENSIBILITE AUX BETA-LACTAMINES DE *K.pneumoniae* . n =52**

	AMX	AMC	CF	PIP	TZP	TIC	TCC
<b>% R+I</b>	<b>100</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>81</b>	<b>33</b>	<b>96</b>	<b>69</b>
<b>%S</b>	<b>0</b>	<b>19</b>	<b>23</b>	<b>19</b>	<b>67</b>	<b>4</b>	<b>31</b>

	CTX	CAZ	FOX	CTT	FEP	ATM	IPM
<b>% R+I</b>	<b>67</b>	<b>62</b>	<b>15</b>	<b>6</b>	<b>62</b>	<b>67</b>	<b>10</b>
<b>% S</b>	<b>33</b>	<b>38</b>	<b>85</b>	<b>94</b>	<b>38</b>	<b>33</b>	<b>90</b>

**AMX** : amoxicilline ; **AMC** : amoxicilline ac-clavulanique ; **CF** : cefalotine ; **PIP** : piperacilline ; **TZP** : piperacilline-tazobactam ; **TIC** : ticarcilline ; **TCC** : ticarcilline-ac.clavulanique ; **CTX** : cefotaxime ; **CAZ** : ceftazidime ; **FOX** : cefoxitine ; **CTT** : cefotetan ; **FEP** : cefepime ; **ATM** : aztreonam ; **IMP** : imipénème

La résistance de Kp aux céphalosporines de troisième génération (C3G) d'utilisation courante comme le céfotaxime est de 67%. Avec cette valeur, on note une stabilité dans la résistance aux C3G, en comparaison avec les résultats du programme

national whonet (2001). Cependant aucune souche n'est résistante au céfotétan. Pour l'imipénème une souche sur les 52 s'est montrée résistante. Il s'agit d'une souche de Kp BLSE (+) isolée d'une malade ambulante qui avait précédemment effectué un séjour à l'hôpital dans le service de gynécologie. Concernant les aminosides, on observe une résistance assez marquée pour la gentamicine et la tobramycine avec des résistances de 67% et 65% respectivement (tableau III).

**TABLEAU III : POURCENTAGE DE SENSIBILITE DE *K.pneumoniae* AUX AMINOSIDES n=52**

	<b>GN</b>	<b>TN</b>	<b>AN</b>	<b>ISP</b>
<b>% R+I</b>	<b>67</b>	<b>65</b>	<b>52</b>	<b>46</b>
<b>% S</b>	<b>33</b>	<b>35</b>	<b>48</b>	<b>54</b>

**GN** : gentamicine ; **TN** : tobramicine ; **AN** : amikacine ; **ISP** : iséпамicine

Pour l'amikacine et l'iséпамicine on note des taux de résistance de 52% et 46% respectivement. Les fluoroquinolones montrent une excellente activité puisque les 52 souches de *K.pneumoniae* sont toutes sensibles à l'ofloxacin et à la ciprofloxacine. (Tableau IV).

**TABLEAU IV : POURCENTAGE DE SENSIBILITE DE *K.pneumoniae* AUX FLUOROQUINOLONES ET AUX SULFAMIDES. n= 52**

	<b>NAL</b>	<b>OFX</b>	<b>CIP</b>	<b>SXT</b>
<b>R+I %</b>	<b>35</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>67</b>
<b>%S</b>	<b>65</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>33</b>

Cependant un taux de résistance de 35% est observé pour l'acide nalidixique qui était précédemment de 11% .Données du programme national whonet (2001-2002).



#### 4) Répartition des phénotypes de résistance de *Klebsiella pneumoniae*

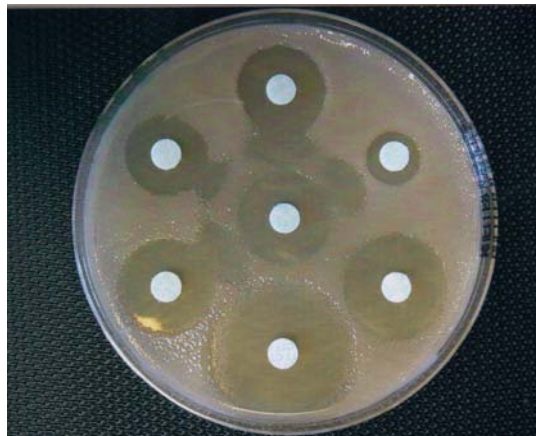
Le tableau V montre une forte proportion de *K.pneumoniae* BLSE (+) qui s'élève à (60%), suivi du phénotype pénicillinase bas niveau (PBN) à 27% correspondant au phénotype sauvage et du phénotype pénicillinase haut niveau (PHN) à 13%. On note aussi la présence d'une souche pénicillinase résistante aux inhibiteurs le phénotype (TRI).

**TABLEAU V : PHENOTYPES DE RESISTANCE DE *K.pneumoniae***

Phénotype	PBN	PHN	TRI	BLSE	TOTAL
Nombre et %	14 (27)	7(13)	1(2)	31(60)	52 (100)

**PBN** : Pénicillinase à bas niveau ou phénotype sauvage ; **PHN** : Pénicillinase à haut niveau ; **BLSE** : Béta-lactamase à spectre étendu ; **TRI** : Pénicillinase résistante aux inhibiteurs

Les images de synergie (figure1) et les valeurs de CMI moyenne du céfotaxime (41 µg/L) par rapport à la ceftazidime (14 µg/L) (tableau VI) suggère la présence de *K.p* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu de type CTX-M. Arlet et Philippon (2003).



**Figure 1: *K.pneumoniae* BLSE (+) images de synergie**

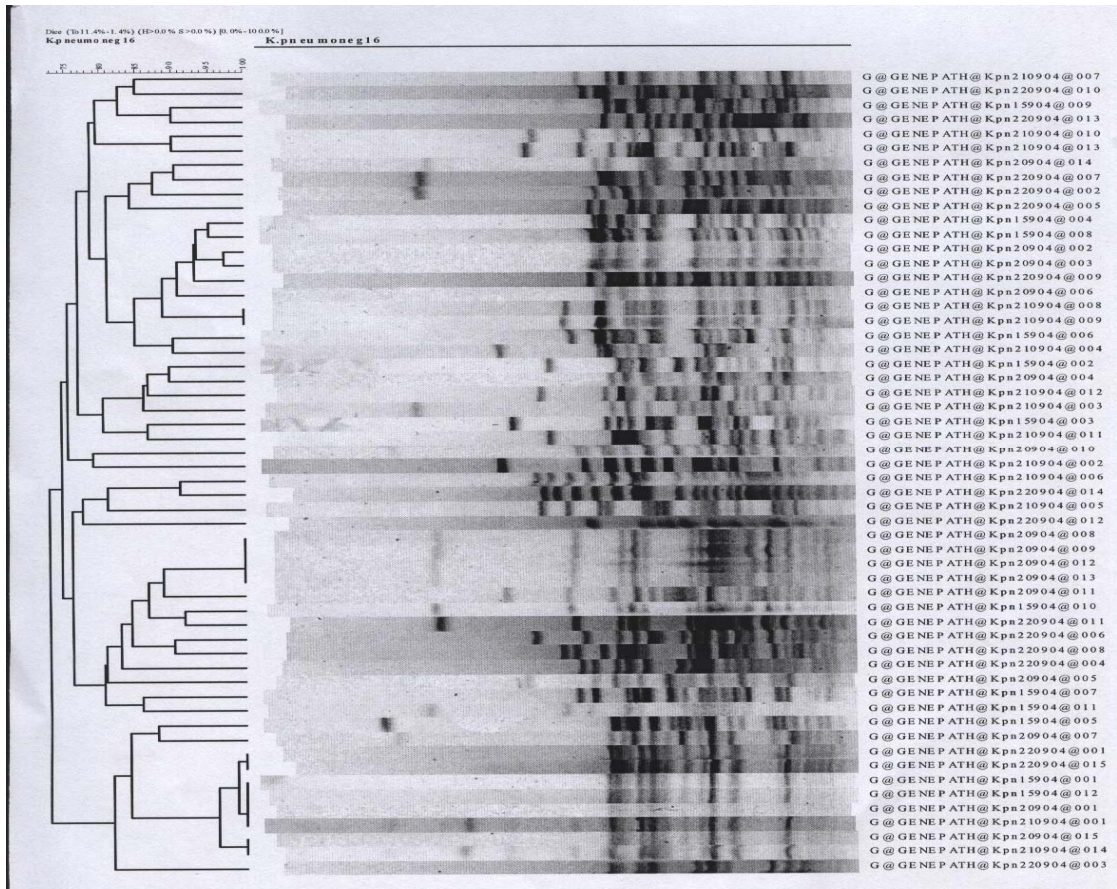
AMC: au centre; CTX, ATM, FEP, CRO, CTT, CAZ

**TABLEAU VI : CMI MOYENNES *K. pneumoniae* SELON LE PHENOTYPE**

ATB	AMX	AMC	TIC	TCC	TZP	CF	FOX	CTX	CAZ	IPM
PBN	>=32	<=2	>=128	<=8	<=4	<=2	<=4	1<=	<=1	<=1
PHN	>=32	13	>=128	59	<=4	46	5	3	2	<=1
BLSE	>=32	18	>=128	73	12	>=64	<=4	41	14	<=1

### 5) Electrophorèse en champ pulsé

L'analyse du dendrogramme (figure 2) à partir des résultats des gels d'électrophorèse a montré que 24 souches sur les 52 ont été classées dans 4 clones différents, tandis que les 28 autres appartiennent chacune à un clone unique ou isolé. Sur les 24 souches appartenant à un des 4 clones, nous avons dénombré 17 K.p BLSE (+). Le premier clone contient 4 souches hospitalières dont 3 K.p BLSE. (+) Deux des Kp BLSE (+) ont été isolées successivement en mars et mai 2004, la première isolée d'une sonde vésicale (service de réanimation), la seconde d'urines (service de médecine interne), la troisième Kp BLSE (+) a été isolée en 2003 d'une hémoculture (service de médecine interne).



**Figure 2: Dendrogramme représentatif de l'électrophorèse en champ pulsé**

Le deuxième groupe clonal comprend 10 souches dont 5 Kp BLSE (+). Une Kp BLSE (+) a été isolée en 2003 du service de réanimation, à partir d'une aspiration trachéale. Les quatre autres Kp BLSE (+) ont été isolées en 2004 essentiellement du service de réanimation (3 hémoculture et une aspiration trachéale). Les 5 souches restantes sont isolées de prélèvements et de services différents, cependant elles ont toutes été isolées entre avril et juin 2004. Le troisième clone contient 6 souches dont 5 Kp BLSE (+). Ces Kp BLSE (+) ont été isolées entre avril et juin 2004. 3 du service de médecine (deux prélevées des hémocultures et une du pus). Une de chirurgie prélevée

de pus de plaie et une d'orthopédie, prélevée également de pus. °. La 6<sup>ème</sup> souche du clone a été isolée en avril 2003 d'une hémoculture du service de neurologie. Cette souche présente une résistance élevée au céfotaxime ; ainsi que pour les quatre aminosides testés.

Le quatrième clone comprend 4 souches dont 3 K.p BLSE (+) et une souche sauvage. Les Kp BLSE (+) ont été recueillies entre janvier et avril 2004. Prélevées des urines et du service de maternité, les deux autres de deux sondes vésicales au service de réanimation. La souche sauvage a été prélevée en février 2004 du service de réanimation (sonde vésicale).

## DISCUSSION

Durant les dernières décennies, *Klebsiella pneumoniae* est devenue une importante cause d'infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter. Des épidémies sont causées par des souches résistantes à une large variété d'antibiotiques, surtout en néonatalogie, médecine interne et soins intensifs. Si on analyse nos résultats dans leur ensemble, on peut dire que durant la période considérée (septembre 2002 à juin 2004), au moins quatre foyers à K.p se sont implantés dans nos services à haut risque, avec émergence de K.p BLSE (+), surtout durant la période mai-juin 2004. Bien que les résultats de l'antibiotype, du biotype, du pulsotype ne sont pas tout à fait superposables, du fait que les gènes de résistance sont portés essentiellement par des plasmides, qui sont facilement transférés d'une bactérie à l'autre, ce qui leur fournit un potentiel pour une propagation rapide. Moland et al (2003).

En comparant nos résultats à ceux du programme national whonet (2001-2002), on remarque qu'il y'a une évolution progressive vers la résistance, particulièrement pour les bêta-lactamines puisque le taux des BLSE passe de 44,73% en (2001-2002) à 60% en 2004. La variabilité est significative (  $p < 0.005$  ). Ces valeurs comparées à la Tunisie 75% Boutiba et al (2002) restent relativement basses , élevées par rapport à

d'autres pays tel que la korè du sud avec 30%. Kim et *al* (2006), et la France avec seulement 11.4%. Ducki et Blech (2004). Cette prévalence est inquiétante pour le clinicien et le biologiste, puisque ces souches résistantes causent des infections nosocomiales qui apparaissent dans des épidémies et sont associées à l'échec de traitement, prolongation de séjour à l'hôpital et même augmentation du taux de mortalité. Paterson et *al* (2004). L'émergence de ces K.p BLSE est dû principalement à l'évolution des bêta-lactamases, en conjonction avec l'altération des porines. Heggman et *al*, Jacoby et *al* (2004). Certaines de ces K.p BLSE (+) sont résistantes à la tazopipéracilline, Par rapport à ce qui a été publié par certains auteurs où les BLSE sont à 100% résistantes à la céftazidime, Friedland et *al* (2003), nous avons compté 10 BLSE seulement sur 31 résistantes à la céftazidime. Cette résistance pourrait être levée en utilisant des associations entre ceftazidime et sulbactam, Lavigne et *al* (2004). La résistance concerne aussi les aminosides où la gentamicine passe de 59% à 67% et l'isépamycine qui est une molécule non encore utilisée, enregistre 46% de résistance. Le mécanisme de résistance aux aminosides spécialement à l'isépamycine peut s'expliquer par une synergie entre l'imperméabilité et l'action des gènes de résistance (résistance enzymatique).

Les souches résistantes à la gentamicine uniquement, il y en a deux, ce sont des K.p BLSE, de phénotype G et AAC (3)-1 comme enzyme d'inactivation. Lavigne et *al* (2004). Deux souches aussi exprimant une résistance seulement à la tobramycine, une est une PBN et l'autre une PHN. 7 souches sont à la fois résistantes à la gentamicine et à la tobramycine, toutes des Kp BLSE (+). Il s'agit du phénotype GT, l'enzyme d'inactivation est la : AAC (3)-IV. Ces résultats soulignent bien la résistance associée aux bêta-lactamines et aux aminosides.

En ce qui concerne les quinolones un taux de résistance de 35% est observé pour l'ac-nalidixique, 35% en 2004 contre 11,8% en 2001, ce qui pourrait refléter l'usage fréquent de cet antibiotique dans le traitement des infections urinaires, et conséquence

de pression de sélection, pour cet antibiotique. Cependant par rapport à ce qui a été publié par Friedland et al (2003) et Ducki et al (2004) après des études multicentriques en France où une diminution de sensibilité a été notée pour l'ofloxacin et la ciprofloxacine (82% à 78%), les souches du CHU de Constantine gardent actuellement une excellente sensibilité pour ces deux fluoroquinolones, (100% sensibles), ce ci est probablement du au fait que la résistance aux quinolones est communément acquise à travers une mutation chromosomique que par échange de plasmides, ou bien encore des changements dans la perméabilité ou efflux. Winokur et al (2000). En plus le gène *qnr* responsable de la résistance plasmidique aux quinilones confère un bas niveau de résistance à la ciprofloxacine. Wang et al (2004). Ce même auteur décrit une très bonne sensibilité de K.p pour l'amikacine et l'imipénème, tandis que nous enregistrons 9.61% de souches entre résistantes et intermédiaires pour l'imipénème (une résistante et quatre intermédiaires) ; et 52% pour l'amikacine. La résistance à l'imipénème pourrait être le fait d'une mutation provoquant la perte des porines membranaires. Jacoby et al (2004) ; ou qui pourrait s'expliquer par un mécanisme associant l'hyperproduction d'une céphalosporinase à celle de la perte d'une porine, ou encore lors de la production d'une AmpC plasmidique. Le plus inquiétant serait la production de carbapénémase. Philippon et Arlet (2003) puisque l'activité des carbapénèmes peut être compromise par l'émergence de carbapénémases. Pasteran et al (2008). En revanche beaucoup d'auteurs rapportent que Pour les souches résistantes à l'imipénème , une association imipénème plus une fluoroquinolone ou un aminoside augmenterait l'effet antagoniste de cet antibiotique. Keyan et Rubinstein (2007).

La recherche de la clonalité des souches montre qu'il n' y a pas un clone unique, mais qu'il s'agit plutôt de plusieurs clones qui se sont implantés dans nos services, et le fait que le même clone pourrait contenir des souches de 2002 et de 2004, nous laisse supposer que la situation est ancienne et qu'elle persiste.

Enfin la comparaison des résultats des trois marqueurs épidémiologiques,

biotype, antibiotype et pulsotype, nous permet de dire que le pulsotype est de loin le typage le plus discriminant, puisque sur les 52 souches, 24 ont été regroupées dans 4 clones et 28 souches se retrouvent chacune dans un clone isolé, alors que Le biotype les classe dans 5 groupes et l'antibiotype dans 7 groupes.

## CONCLUSION

Les résultats de cette étude permettent de fournir des données épidémiologiques récentes sur *K.pneumoniae*, au niveau de notre hôpital, ainsi que sur l'activité des  $\beta$ -lactamines, de quinolones et des aminosides, sur des souches présentant différents phénotypes de résistance. Cette résistance qui inquiète le biologiste et le clinicien est le reflet de la qualité de soins, en particulier de la politique d'isolement et d'antibiothérapie. Aujourd'hui il a été établi que dans beaucoup de cas, les processus de résistance sont coopératifs et interdépendants. Nous avons décrit le mécanisme de résistance qui est essentiellement du à la production de bêta-lactamases, ce problème peut-être pallié avec une utilisation prudente et avertie des antibiotiques ainsi que des mesures d'hygiène très strictes. D'autre part et bien que la prévalence de la résistance au carbapénème est encore très faible il ya besoin d'une recherche continue sur la sensibilité aux carbapénèmes et à la production des carbapénémases.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Babini G S., Yuan M., Hall L and Livermore David M.** (2003): Variable susceptibility to piperacillin/tazobactam amongst *Klebsiella* ssp.with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. J Antimicrobiol Chemother 51: 605-612.
- Bergogne-Bérézin E.** (2002): Modes d'administration des antibiotiques et émergence de résistance chez les bacilles à Gram négatif. J Antibiotiques 4 :2836-2841
- Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.** Communiqué 2005. Edition Janvier 2007.

- Dabernat H., Seguy M., Faucon G., Delmas C.** (2004) : Epidémiologie et évolution de la sensibilité aux  $\beta$ -lactamines des souches de *Haemophilus influenzae* isolées en 2001 en France. Méd Mal Inf 34 : 97-101.
- De Gherldre Y., Avisani V., Berhin D M., Glupezynski Y.**(2003): Evaluation of oxoid combination discs for detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. J Antimicrobiol Chemother 52 : 591-597.
- Ducki S., Blech M F.** (2004) :Surveillance des bactéries multirésistantes en lorraine : Etude d'incidence multicentrique de trois ans. Med et Mal Inf. 34 :70-75.
- Friedland I MD., Stinson Lue., Ikaidi M., Harm S., Woods GL.** (2003): Resistance in Enterobacteriaceae: Results of a multicenter surveillance study, 1995-2000. Infect Control Hosp Epidemiol. 24:607-612
- Galani I., Xirouchaki E., Kanellakopoulou K., Petrikkos G and Giamarellon H.** (2002): Transferable plasmid mediating resistance to multiple antimicrobiol agents in *Klebsiella pneumoniae* isolates in Greece. Clin Microbiol Infect 8 : 579-588.
- Hausen DS., Skov R., Benedi JV., Sperling V and Kolmos HJ.** (2002): *Klebsiella* typing: pulsed field gel electrophoresis (PFGE) in comparison. Clin. Microbiol Infect 8: 397-404.
- Heggman S., Löfdahl S., Paauw A., Verhoef J., and Brise S.** (2004) : Diversity and evolution of the class a chromosomal Beta- lactamase Gene in *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrobiol Chemother 2400-2408.
- Jacoby George A., Mills Debra M and Chow N.** (2004): Role of  $\beta$ -lactams and porins in resistance to ertapenem and other  $\beta$ -lactams in *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrobiol Chemother 51 3203-3206
- Keynan y, Rubinstein E.** (2007): The changing face of *Klebsiella pneumoniae* infections in the community. J.Antimicrob. Agents.
- Kim S Y., Park Y J., Yu J K., Kim HS., Park SY., Yoon JB., Yoo JY., Lee K.** (2006): Prevalence and mechanisms of decreased susceptibility to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* isolates. Diagnostic Microbiology and infectious disease. 57: 85-91



- Lavigne.JP., Bonnet.R, Michaux-Charachon. S., Jourdan. J., Caillon J et Sotto.A.** (2004): Post-antibiotic and post  $\beta$ -lactamase inhibitor effect of ceftazidime plus sulbactam on extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Gram-negative bacteria. *J Antimicrobiol Chemother* 53: 616-619.
- Malek A., Cigdem k., Durmaz R., Aktas E., Cizmeci Z** (2003) : Analysis of three outbreaks due to *Klebsiella* species in Neonatal intensive care unit. *J Infect Control Hospital Epidemiol* 24. 7 : 495-500.
- Melano R., Corso A., Petrani A., Centron D., Orman B., Pereyra A., Moreno N., Galas M.** (2003): Multiple antibiotic-resistance mechanisms including a novel combination of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* clinical strains isolated in Argentina. *J Antimicrobiol Chemother* 52: 36-42.
- Moland ES., Hauson N D., Herrera V L., Black J A., Lockhart T J., Hossain A., Johnson Judith A., Goering Richard V., Thomson K S.**(2003): Plasmid mediated, carbapenem- hydrolysing  $\beta$ -lactamase, KPC-2, in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *J Antimicrobiol Chemother* 51 : 711-714.
- Pasteran Fernaldo G., Otaegui L., Guerriero L., Radice G., Maggiora R., Rapoport M., Faccione D., Di Martino A., Galas M.** (2008): *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-2, Buenos Aires, Aegentina. *EID Journal Home*. 14
- Projet national whonet 2001, 2002 et 2003.** Etat de résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du CHU de Constantine.
- Wang M., Sahm DF., Jacoby GA., Zhang Y., Hooper DC.** (2004): Activities of newer quinolones against E-Coli and K.pneumoniae containing the Plasmid-Mediated Quinolone Resistance determinant *qnr*
- Winokur PL., Eidelstain MV., Stetsiouk O., Strachowski L., Blahova J., Reshedko GK., Craco MAT., Hollis RJ., Pfaller MA., Jones RN.**(2000): Russian *Klebsiella pneumoniae* isolates that express extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect.* 6: 103-108.