



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département :** Microbiologie

**قسم :** ميكروبيولوجيا.

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Ecologie Microbienne

**Intitulé :**

---

**Les bactéries du groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*  
responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs  
profils de résistances aux antibiotiques.**

---

**Présenté et soutenu par :** *ABDELMALEK Amel*

**Le :** 18/06/2016

*LEZZAR Anouar*

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** *Mme OULMI Lamia* (Maître de conférence - UFM Constantine).

**Rapporteur :** *Mr LAOUAR Houcine* (Professeur – CHU de Constantine).

**Examineurs :** *Mme BOUZERAIB Latifa* (Maître assistante – UFM Constantine).

*Année universitaire  
2017 - 2018*

## **Remerciements**

*Je tiens ici à remercier sincèrement les personnes suivantes qui m'ont apporté une aide précieuse dans la réalisation de ce travail :*

*Je remercie affectueusement et chaleureusement mes parents (Mounira et Mohammed) pour leurs éducations et pour tous encouragements accompagnée dans mes études.*

*J'exprime mes remerciements les plus sincères à mes Parents (Taïer et Aziza) pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez données, m'avoir encouragés et accompagnés dans mes études.*

*Nous tenons à remercier particulièrement et chaleureusement avec mon grande gratitude mon encadreur Pr. LAOUAR Houcine pour tous les efforts inlassables, et toutes la patience que vous avec déployée pour que ce travail soit élaboré. Pour tous ses conseils et ses encouragements, pour toutes ces informations si précieuses, gratuitement livrée.*

*Nos vifs remerciements pour les membres du jury :*

*A Mme OULMI Lamia nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre travail.*

*A Mme BOUZEREIB Latifa pour l'honneur que vous nous faites acceptant d'examiner ce modeste travail.*

*C'est pour nous l'occasion de vous témoigner estime et respect.*

*Nous remercions vivement mon Pr. BENHIZIA Y. Nous lui exprime toute nos reconnaissances et nos gratitudes pour ses encouragements et pour l'aide et les conseils que vous nous donné pour faire ce travail.*

*Nous voudrions présenter nos remerciements et nos gratitudes au Pr. BENLABED K, chef du laboratoire de microbiologie de l'hôpital*

*CHU de Constantine d'avoir accepté de nous recevoir dans son  
laboratoire.*

*Nous tiens particulièrement présenter nos remerciements et nos  
gratitudes au Pr. **LEZZAR Abdelham** pour son aide de faire le stage au  
laboratoire et ses encouragements.*

*Nous remercions également l'équipe de laboratoire de  
microbiologie du CHU de Constantine et particulièrement « Hasna,  
Fatima, Yasmin, Omar, Nouseiba, Safia, Meriem Benkhmissa, Meriem  
Ababssa » pour leur accueil et leur contribution dans ce travail.*

*\*Merci\**

*A ceux et celles qui nous ont aidés d'une façon ou d'une autre,  
de près ou de loin dans notre travail, je les remercie du fond du cœur.*

## Dédicaces

*En ce moment particulier de ma vie, je dédie ce travail à...*

### *\*A ma chère mère Aziza\**

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur incha Allah.*

### *\*A mon cher père Taher\**

*Tes conseils m'ont suivi et m'ont permis d'atteindre le bout du chemin. Sois fier de moi aujourd'hui et vois à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde. Que Dieu te donne longue vie, te procure santé, et te protège incha Allah.*

*A mes frères : Moussab et Abderrahmene*

### *A ma belle-sœur Anfel*

*Elle représente pour moi le symbole de courage, de confiance et la source de tendresse.*

*A ma nièce et mes neveux : Layene, Bahaa Eddine, et Baraa.*

*Que Dieu vous donne longue vie et vous protège.*

### *A ma chère grand-mère*

*Te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé.*

### *A toute ma famille*

*A mes chères copines Chaïma, Rayenne, Sara...*

### *A mes chères amies*

*Manel, Salwa, Hafsa-Sara, Malika, Maha, Roumeïssa Yahyaoui, Khadidja, Nessrine, Hiba, Mimi, Houda, Hayet, d'autre...*



Anouar

# Dédicace

*Avec l'aide du Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pus réaliser ce modeste travail que je dédie :*

*A ma mère Mounira ma source de tendresse et mon père Mohammed l'unique de leurs genre, grâce à vous que je suis là. Que dieu vous protège pour mois.*

*A ma sœur Amira et ses enfants \*Chorouk et Mouatassim bi elleh\*, merci énormément pour tous soutient plus que précieux.*

*A mes frères Amine et Amjed, mes anges gardien dans les moments les plus délicats dans ma vie.*

*A mon cher fiancé (abd el ouahed) et sa famille honorable et chère, merci pour votre grande soutien pour moi, avec tout mon respect et appréciation.*

*A mon grand-père Hassen et Mahmoudé, ma grand-mère NAANAA Zohra qui m'a toujours aidé à prier.*

*A ma grand-mère Khadija NEKECHE décédée, que dieu ait pitié d'elle, et que si elle était avec nous, elle serait plus heureuse.*

*A toutes la famille de ABDELMALEK et BOULAHLIB, merci pour votre soutient.*

*A mes chères amies pour leurs soutiens et encouragements pour moi.*

*Amel*



# Résumé

Les bactériémies sont des affections graves responsables d'un taux élevé d'une morbidité et d'une mortalité significatives dans le monde, ces affections constituent une urgence diagnostique et thérapeutique.

Il s'agit d'une étude rétrospective de deux ans (du 1<sup>er</sup> Janvier 2016 au 31 Décembre 2017) et prospective de 3 mois (1<sup>er</sup> Janvier au 31 Mars 2018), au niveau du centre Hospitalo-Universitaire de Constantine. La collecte des données s'est faite à partir des registres archivés d'hémoculture.

Sur un total de 8440 hémocultures réalisés 3074 étaient positives soit 36.42 %, le sexe masculin est le plus exposé à la bactériémie. Les hémocultures isolées proviennent des différents services et particulièrement du service de réanimation (46.9 %), et celui de médecine (30.6 %).

Les germes isolés des hémocultures montrent parmi les entérobactéries une prédominance de *K. pneumoniae* (7.1 %) et suivi par *E. coli* (6.4 %) et *E. cloacae* (1 %). Les espèces de *Serratia* sont rarement isolées représentent que (0.5 %).

Au sein du groupe K.E.S, on note une légère prédominance masculine avec un sexe ratio de 1.1. Elles sont prédominantes dans le service de réanimation (48.1 %).

Au cours des dernières années, la résistance des entérobactéries aux antibiotiques (les trois principales familles :  $\beta$ -lactamines, aminosides et les quinolones) a été à une hauteur constante, ceci pose un grand problème pour le diagnostic et le traitement des malades.

La résistance de *K. pneumoniae* au C3G est plus importante, les résultats comme suit : céfotaxime (72.8 %) et au ceftazidime (74.1%), elle est également résistante à d'autres familles tel que la ciprofloxacine (47.3 %) et la gentamicine (60.3 %), 9.1 % des souches carbapénèmes.

Pour *E. cloacae* ont une résistance très élevée vis-à-vis la céfotaxime (95 %), ceftazidime (63.6 %), pour la gentamicine (52.4 %) et (52.4 %) sont résistantes à la ciprofloxacine. (9.5 %) sont résistants à l'imipénème.

Les souches de *Serratia spp* sont moins résistantes à la gentamicine (20 %), alors que 100 % sont résistantes à la colistine, et 20 % sont résistantes à l'imipénème.

**Les Mots clés :** Bactériémie, Hémoculture, groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, résistance aux antibiotiques.

## ملخص

تجرثم الدم هو حالة خطيرة مسؤولة عن ارتفاع كبير في معدل الحالات المرضية وكذلك معدل الوفيات في العالم وهذه الشروط تشكل حالة طوارئ تشخيصية وعلاجية.

قمنا بدراسة استرجاعية لمدة سنتين (1جانفي 2016 الى 31 ديسمبر 2017) وثلاثة أشهر (1جانفي الى غاية 31مارس 2018)، على مستوى المستشفى الجامعي قسنطينة. تم من خلالها جمع البيانات من سجلات الأرشيف لزراعة الدم.

من مجموع 8440 من مزارع الدم، 3074 كانت إيجابية (36.4%)، حيث الذكر هو الأكثر عرضة لتجرثم الدم. تأتي مزارع الدم المعزولة من اقسام مختلفة وخاصة من وحدة العناية المركزة (46.9%) متبوعة بقسم الطب (30.6%).

تظهر الجراثيم المعزولة من مزارع الدم بانه من بين البكتيريا المعوية المعزولة كانت الغالبية لـ *K. pneumoniae* (7.1%)، متبوعة بـ *E. coli* (6.4%)، ثم *E. cloacae* (1%). نادرا ما يتم عزل نوع *Serratia* حيث تمثل (0.5%).

ضمن مجموعة البكتيريا K.E.S، هنالك غالبية بسيطة للذكور بنسبة 1.1، ولهم غالبية في وحدة العناية المركزة (48.1%).

في السنوات الأخيرة، كانت مقاومة البكتيريا المعوية للمضادات الحيوية (العائلات الرئيسية الثلاث: بيتاكتامينات، امينوغلوكوزيدات، وكينولونات) في ارتفاع مستمر وهذا يشكل مشكلة كبيرة لتشخيص وعلاج المرضى.

مقاومة *K. pneumoniae* لـ C3G هو اكثر أهمية، حيث كانت النتائج على النحو التالي: سيفوتاكسيم (72.8%) و سيفتازيديم (74.1%)، وامتدت هذه المقاومة الى عائلات أخرى مثل سيبروفلوكساسين (47.1%) والجانتاميسين (60.3%)، 9.1% من هذه السلالة مقاومة للايميبينام.

*E. cloacae* لديها مقاومة كبيرة لسيفوتاكسيم (95%) و سيفتازيديم (63.6%)، بالنسبة لجينتاميسين (52.4%)، سيبروفلوكساسين (52.4%) و 9.5% من السلالة مقاوم للايميبينام.

سلالة *Serratia spp* اقل مقاومة للجينتاميسين (20%)، في حين ان 100% مقاومة للكليسيتين و 20% مقاومة للايميبينام.

**الكلمات المفتاحية:** تجرثم الدم، زراعة الدم، مجموعة البكتيريا K.E.S، مقاومة المضادات الحيوية.

# Abstract

Bacteremia is serious conditions, responsible for a high rate of morbidity and significant mortality in the world, these conditions constitute a diagnostic and therapeutic emergency.

This is a retrospective study of two years (from January 1st 2016 to December 30th 2017) and prospective of three months (January 1st to March 31st 2018), at the level of the Hospital-University Center of Constantine. Data collection was based on archived records of blood cultures. Of a total of 8440 blood cultures made out 3074 were positive (36.42 %), the male is the most exposed to bacteremia. The isolated blood cultures come from different departments and particularly from the intensive care unit (46.9 %), and medicine department (30.6 %).

The isolated germs of the blood cultures show among the Enterobacteriaceae a predominance of *K. pneumoniae* (7.1 %), followed by *E. coli* (6.4 %), and *E. cloacae* (1 %). *Serratia* species are rarely isolated represent (0.5%). within the K.E.S group there is a slight male predominance with a sex ratio of 1.1. They are predominant in the intensive care unit (46.5 %).

In recent years, the bacterial resistance of enterobacteria to antibiotics (the three main families:  $\beta$ -lactamines, aminoglycosides and quinolones) has been at a constant height, this poses a great problem for the diagnosis and treatment of patients.

The resistance of *K. pneumoniae* to C3G is more important, the results as follows: cefotaxime (72.8 %) and ceftazidime (74.1 %), it is also resistant to other families such as ciprofloxacin (47.3 %) and gentamicin (60.3 %), 9.1 % of this is carbapenem strains.

For *E. cloacae* have a very high resistance against cefotaxime (95 %), ceftazidime (63.6 %), and gentamicin (52.4 %) and (52.4 %) are resistant to ciprofloxacin. 9.5 % are resistant to imipenem.

Strains of *Serratia spp* are less resistant to gentamicin (20 %), while 100 % are resistant to imipenem.

**Keywords:** Bacteremia, blood culture, group *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, antibiotic resistance.

*S. aureus* : *Staphylococcus aureus*.

*S. epidermidis* : *Staphylococcus epidermidis*.

*S. pneumoniae* : *Streptococcus pneumoniae*.

*S. pyogenes* : *Streptococcus pyogenes*.

*S. agalactiae* : *Streptococcus agalactiae*.

*N. meningitidis* : *Neisseria meningitidis*.

*N. gonorrhoeae* : *Neisseria gonorrhoeae*.

*E. coli* : *Escherichia coli*.

*K. pneumoniae* : *Klebsiella pneumoniae*.

*E. cloacae* : *Enterobacter cloacae*.

*S. marcescens* : *Serratia marcescens*.

*S. plymuthica* : *Serratia plymuthica*.

*S. ficaria* : *Serratia ficaria*.

*M. morganii* : *Morganella morganii*.

*P. aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa*.

*P. mirabilis* : *Proteus mirabilis*.

*L. monocytogenes* : *Listeria monocytogenes*.

*C. botulinum* : *Clostridium botulinum*.

*A. baumannii* : *Acinetobacter baumannii*.

SCN : *Staphylococcus* à coagulase négative.

*B. fragilis* : *Bacteroides fragilis*.

**Groupe K.E.S** : Groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*.

ONPG : Ortho-nitro-phényl.β.D.galactopyranoside.

**VP** : Vosges Proskauer.

**RM** : Rouge de Méthyle.

**LDC** : Lysine décarboxylase.

**ODC** : Ornithine décarboxylase.

**ADH** : Arginine dihydrolase.

**TSI** : Triple Sugar Iron.

**β-lactamine** : Bêta-lactamine.

**BLSE** : Bêta-Lactamase à Spectre Elargie.

**UFC** : Unité Formants Colonies.

**CLSI** : Clinical Laboratory Standards Institute.

**TDA** : Tryptophane désaminase.

**CHUC** : Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine.

**HMC** : Hôpital Militaire de Constantine.

**C3G** : céphalosporines de troisième génération.

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de Carbone.

**Spp** : *species pluralis*.

**TA** : Traitement ambulatoire.

<b>Tableau 01</b> : Les différentes portes d'entrées.....	07
<b>Tableau 02</b> : Interprétation des hémocultures positives.....	11
<b>Tableau 03</b> : Les principaux germes isolés dans l'hémoculture.....	12
<b>Tableau 04</b> : Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine.....	13
<b>Tableau 05</b> : Les caractères types de l'espèce type <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	17
<b>Tableau 06</b> : les principaux caractères biochimiques de l'espèce <i>E. cloacae</i> .....	20
<b>Tableau 07</b> : les principaux caractères biochimiques de l'espèce <i>S. marcescens</i> .....	22
<b>Tableau 08</b> : Fréquences des hémocultures positives.....	40
<b>Tableau 09</b> : Répartition des hémocultures positive en fonction du sexe.....	41
<b>Tableau 10</b> : Répartition des hémocultures positives en fonction de secteurs d'activité.....	42
<b>Tableau 11</b> : Fréquences des germes isolés en hémoculture.....	44
<b>Tableau 12</b> : Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction du sexe.....	46
<b>Tableau 13</b> : Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction de secteur d'activité.....	47
<b>Tableau 14</b> : Profil de résistance de <i>K. pneumoniae</i> .....	49
<b>Tableau 15</b> : Profil de résistance d' <i>E. cloacae</i> .....	51
<b>Tableau 16</b> : Profil de résistance de <i>Serratia spp</i> .....	53

<b>Figure 01</b> : les trois principaux mécanismes de bactériémie.....	06
<b>Figure 02</b> : <i>K. pneumoniae</i> isolée sur Hektoen.....	16
<b>Figure 03</b> : <i>Enterobacter spp</i> sur Hektoen.....	20
<b>Figure 04</b> : <i>S. marcescens</i> sur milieu Hektoen.....	22
<b>Figure 05</b> : Site d'action des différents types d'antibiotiques.....	27
<b>Figure 06</b> : Versa <b>TREK</b> .....	32
<b>Figure 07</b> : Bact/Alert 3D.....	33
<b>Figure 08</b> : Fréquences des hémocultures positives.....	40
<b>Figure 09</b> : Répartition des hémocultures positives en fonction du sexe.....	41
<b>Figure 10</b> : Répartition des hémocultures positives en fonction de secteur d'activité.....	43
<b>Figure 11</b> : Fréquence des germes isolés en hémoculture.....	45
<b>Figure 12</b> : Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction du sexe.....	46
<b>Figure 13</b> : Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction de secteur d'activité.....	48
<b>Figure 14</b> : Profil de résistance de <i>K .pneumoniae</i> .....	50
<b>Figure 15</b> : Profil de résistance d' <i>E. cloacae</i> .....	52
<b>Figure 16</b> : Profil de résistance de <i>Serratia spp</i> .....	53

**Table des matières**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste d'abréviation**

**Résumé**

**Introduction** ..... 1

**Synthèse bibliographiques**

**1. Généralité** ..... 3

1.1 Rappel clinique ..... 3

1.2 l'historique ..... 3

1.3 la septicémie ..... 3

1.4 la bactériémie ..... 4

1.4.1 les différents types de bactériémie ..... 4

1.4.1.1 La bactériémie transitoire ..... 4

1.4.1.2 La bactériémie intermittente ..... 4

1.4.1.3 La bactériémie continue ..... 4

1.4.2 Physiopathologie de la bactériémie ..... 5

1.4.2.1 La bactériémie à point de départ thrombophlébitique ..... 5

1.4.2.2 La bactériémie à point de départ lymphatique ..... 5

1.4.2.3 La bactériémie à point de départ endocardique ..... 5

1.4.3 Les différentes portes d'entrées ..... 6

**2. Hémoculture** ..... 8

2.1 Définition ..... 8

2.2 Diagnostique bactériologique ..... 8

2.2.1 Le prélèvement : ..... 8

2.2.2 Examen bactériologique : ..... 10

2.3 Les principaux germes isolés dans l'hémoculture ..... 12

2.3.1 Les entérobactéries ..... 12

2.3.2 Groupe *Klebsielleae* ..... 15

2.3.2.1 Le genre *Klebsiella* : ..... 15

2.3.2.2 Le genre *Enterobacter* : ..... 18

2.3.2.3 Le genre *Serratia* : ..... 21

<b>3. Résistance aux antibiotiques</b> .....	25
3.1 Définition. ....	25
3.2 Définition de la résistance aux antibiotiques. ....	25
3.3 Type de résistance bactérienne : .....	25
3.4 Classification et mode d'action. ....	25
<b>I. Matériel et méthodes</b>	
1. Matériel.....	29
2. Méthodes.....	30
2.1 Recueil des données.....	30
2.2 Le prélèvement:.....	30
2.3 Acheminement .....	31
2.4 Identification bactérienne : .....	31
2.4.1 Examen macroscopique des flacons d'hémoculture.....	31
2.4.1.1 Système manuel.....	31
2.4.1.2 Système automatisé .....	31
2.4.2 Repiquage et isolement des flacons positifs .....	33
2.4.2.1 La culture .....	34
2.4.2.2 Examen microscopique .....	34
2.5 Identification biochimique .....	35
2.5.1 Préparation de la suspension bactérienne.....	35
2.6 Détermination de la sensibilité aux antibiotiques : .....	37
2.6.1 Milieu pour antibiogramme (Muller Hinton) .....	37
2.6.2 Inoculum.....	38
2.6.3 Ensemencement .....	38
2.6.4 L'application des disques d'antibiotiques .....	38
2.6.5 Lecture .....	38
<b>II. Résultats et discussion</b> .....	40
1. Fréquences des hémocultures positives.....	40
2. Répartition des hémocultures positives en fonction du sexe.....	41
3. Répartition des hémocultures positives en fonction des secteurs d'activités.....	42
4. Fréquences des germes isolés en hémoculture.....	43
5. Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction du sexe.....	45
6. Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction de secteur	

d'activité.....	46
7. Profil de résistance de <i>K .pneumoniae</i> .....	48
8. Profil de résistance d' <i>E. cloacae</i> .....	50
9. Profil de résistance de <i>Serratia spp</i> .....	52
<b>Conclusion</b> .....	54
<b>Références bibliographique</b> .....	56
<b>Annexes</b>	

# *Introduction*

Le sang est un milieu riche en éléments nutritifs, il existe à l'état stérile, cependant il peut être envahi par des microorganismes provoquant ou non des infections plus au moins grave y compris la bactériémie ceci dépend des critères pour les déclenches, en citant : l'âge, l'état physiologique des personnes, l'exposition aux traitements, etc...aussi bien le degré de pathogénicité de la bactérie ainsi son seuil pour déclencher une bactériémie.

La bactériémie est définie par la présence dans le sang des bactéries viables. Elle peut être asymptomatique, transitoire ou au contraire s'accompagner de manifestations cliniques majeurs [1]. Elle continue d'être une importante cause de morbidité et de mortalité, en dépit de la disponibilité des agents antimicrobiennes puissants et de moyens de diagnostic sophistiqués.

Les bactériémies posent un problème majeur de prise en charge. En effet il faut trouver un compromis entre l'urgence du traitement et la difficulté à poser un diagnostic précis dans de brefs délais. Elles constituent une urgence diagnostic et thérapeutique. Le moyen d'investigation le plus sûr pour confirmer une bactériémie est l'hémoculture qui est aux yeux de l'infectiologue un moyen essentiel pour reconnaître le germe responsable et tester sa sensibilité aux antibiotiques [8].

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries à Gram négatif, qui sont à l'origine de maladies de gravité très variable, en raison de mécanismes pathogéniques distincts. Parmi ces bactéries, on trouve le groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* qui sont des bactéries très répandues dans la nature (le sol, l'eau, et les végétaux). Elles font partie de la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux, connus sous le nom des "pathogènes opportunistes" qui sont responsables des infections hospitalières nosocomiales (infection du site opératoire, infection pulmonaire, bactériémie, infection du péritoine). Ces espèces sont multi-résistantes aux antibiotiques.

Au cours des années, l'augmentation et la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif, particulièrement les entérobactéries représentent un problème majeur de santé publique au niveau mondial [34].

La multirésistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et en particuliers chez *Klebsiella spp* est en perpétuelle évolution. Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération (C3G) ne cesse de se renforcer

notamment par l'acquisition de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE), récemment cette résistance s'ajoute aux fluoroquinolones [44].

C'est dans ce contexte général que nous avons été amenés à entreprendre ce présent travail qui a pour objectifs :

- Evaluer la fréquence des bactéries *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* parmi les germes responsables de bactériémie au CHU de Constantine.
- Déterminer le profil de résistance aux différents antibiotiques.

*Synthèse*  
*bibliographique*

### 1. Généralité

#### 1.1 Rappel clinique

Sang et bactérie : le sang est un liquide homogène et il est considéré comme un tissu conjonctif parce qu'il est composé de cellules appelées globules sanguins qui baignent dans une matrice liquide nommée plasma [1].

C'est un liquide stérile. Cependant, à partir de sites ou de foyers infectieux, différents germes tels que les bactéries, les champignons peuvent être relargués dans le torrent sanguin. La présence de bactéries dans le sang ou bactériémie, peut être accompagnée de manifestations cliniques, notamment de frissons, de fièvre, de signes de toxicité et d'hypotension [2].

#### 1.2 L'historique

Le *sepsis* est un terme anglo-saxon et international employé pour caractériser une réponse inflammatoire généralisée à une infection, une brûlure étendue, ou un polytraumatisme. Le terme septicémie, créée en 1837 par le médecin français Pierre Piorry, pour désigner la présence de bactéries (voire de champignons) dans le sang.

Avant d'être nommée comme telle, la septicémie a été connue de différente manière. Auparavant, on parlait par exemple de « gangrène (ou pourriture) des hôpitaux ».celle-ci affectait souvent les soldats à cause de leurs blessures infligées sur les champs de bataille, qui s'infectaient fréquemment. Le terme de « fièvre puerpérale » été aussi utilisée, surtout pour désigner une infection survenant chez la femme après l'accouchement.

Ce sont deux médecins alsaciens, Victor Feltz et Léon Coze, qui les premiers en 1869, démontrèrent la présence de bactéries dans le sang d'une patiente atteinte de fièvre puerpérale.

De nos jour le terme de septicémie est abandonné et remplacé par la bactériémie avec ou sans sepsis [3].

#### 1.3 La Septicémie

La septicémie est une infection généralisée, qui regroupe les manifestations cliniques et biologiques dues à des décharges massives et répétées des microorganismes viables dans le sang à partir d'un foyer septique initial appelé porte d'entrée [4,6].

### 1.4 La bactériémie

La bactériémie est définie par la présence dans le sang de bactéries viables. Elle peut être asymptomatique, transitoire, ou au contraire s'accompagner de manifestations cliniques majeures. La bactériémie est dite primaire quand aucun foyer infectieux n'a pu être décelé comme étant à son origine. Elle est dite secondaire quand il existe un foyer infectieux avec le même germe [3].

#### 1.4.1 Différents type de bactériémie

##### 1.4.1.1 La bactériémie transitoire

Est une décharge de quelques minutes à quelques heures, elle peut être spontanée (exemple pendant un brossage dentaire ou au cours de la digestion) ou provoquée par des gestes invasifs tels que les soins dentaires, une endoscopie digestive, une cystoscopie, un massage prostatique, la mise en place d'une sonde urinaire, un geste chirurgical ou un dispositif intra vasculaire (cathéter, perfusion intraveineuse).

Les bactériémies transitoires sont généralement sans conséquences thérapeutiques puisqu'elles ne sont pas associées à un foyer de multiplication tissulaire.

Le risque existe cependant chez l'immunodéprimé ou chez le sujet souffrant d'un certain type de cardiopathies, dites « à risque » de greffe oslérienne [5].

##### La bactériémie intermittente

Elle est retrouvée dans les infections à bacilles Gram négatif, les suppurations, la pneumonie et l'ostéomyélite. Elle survient, disparaît puis revient avec le même germe. Elle est classiquement associée à une infection cloisonnée, non ou mal drainée, tel un abcès intra abdominal ou un empyème sous dural, mais se voit aussi dans des infections tissulaires focalisées.

##### 1.4.1.2 La bactériémie continue

Elle s'observe dans la fièvre typho-paratyphoïdique, la Brucellose, l'endocardite, l'endartérite et les anévrysmes mycosiques.

Le sang est continuellement inoculé par des germes, soit à partir d'un foyer ganglionnaire (adénite mésentérique dans la fièvre typhoïde), soit à partir de l'endocarde ou d'un foyer endovasculaire.

Dans les bactériémies continues et les bactériémies intermittentes, il existe un foyer microbien qui libère des décharges de germes dans la circulation sanguine, soit à partir du système lymphatique (canal thoracique), soit directement dans le sang [3].

### **1.4.2 physiopathologie de la bactériémie**

#### **1.4.2.1 Bactériémie à point de départ Thrombophlébitique**

Les germes impliqués dans ce processus sont des germes pyogènes (Staphylocoques, Streptocoques,...) qui évoluent sur un mode aigu. La thrombose veineuse est située au niveau de la porte d'entrée (cutanée ou muqueuse) et le germe présent au niveau du caillot passe périodiquement dans le sang [6].

#### **1.4.2.2 Bactériémie à point de départ lymphatique**

La porte d'entrée est digestive, les ganglions mésentériques envahis par le germe, puis il y a essaimage de ces germes dans la circulation sanguines par l'intermédiaire des vaisseaux lymphatiques.

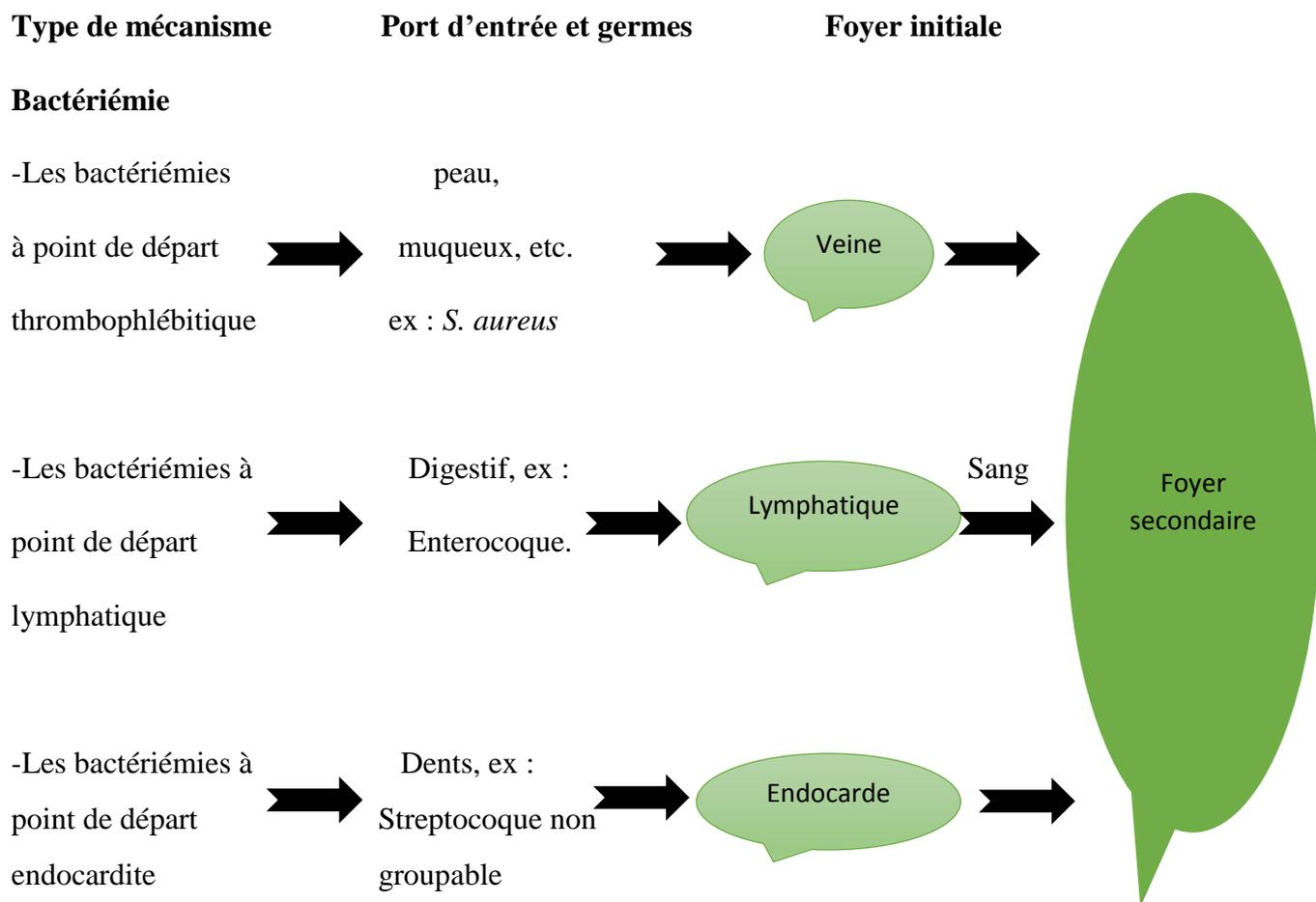
#### **1.4.2.3 Bactériémie à point de départ endocardique**

Le foyer de départ est d'emblée dans le système circulatoire, il est situé le plus souvent sur l'endocarde (végétation des endocardites) les germes sont relargués progressivement dans la circulation à partir de ce foyer septique [7].

### **➤ Distinction entre bactériémie et septicémie**

L'utilisation du terme septicémie diffère selon les écoles ; Pour les Anglo-Saxons, il n'y a pas de différence entre bactériémie et septicémie et le plus souvent, seul le terme de bactériémie est utilisé. En France, on considère qu'une bactériémie est « la présence d'un germe pathogène dans le sang authentifié par des hémocultures positives » et que la septicémie est définie comme « un état infectieux grave avec bactériémie ».

Elles peuvent être primitives (sans porte d'entrée retrouvée) ou secondaires (avec porte d'entrée) [1]. (Figure 01)



**Figure 01 :** Les trois principaux mécanismes de bactériémie [8].

### 1.4.3 Les différentes portes d'entrées

La majorité des agents pathogènes peuvent s'introduire dans le corps humain et celui d'autres hôtes par plusieurs voies appelées porte d'entrée [1]. (Tableau 01)

**Tableau 01** : Les différentes portes d'entrées [8].

<b>Agents pathogènes</b>	<b>Porte d'entrée</b>	<b>Localisation secondaires</b>
<b>Coques Gram positif</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cutanée, vasculaire	Endocarde, os, articulation, méninges, matériels étrangers implantés
Streptocoque du groupe A	ORL, cutanée	Cerveau, sang, articulation.
Streptocoque du groupe B	Gynécologique, urinaire	Sang, articulation
Streptocoque du groupe D	Digestive	Endocarde
Streptocoque non groupable	Dentaire	Endocarde, sang
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pulmonaire	Méninges, articulations, sang
Enterocoque	Digestive, urinaire	Endocarde, sang
<b>Bacilles Gram négatif</b>		
Entérobactéries	Urinaire, digestive	Sang, méningite
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Digestive, urinaire, pulmonaire, site opératoire	Sang, valve cardiaque,
<b>Anaérobies</b>		
<i>Bactéroides spp,</i> <i>Peptostreptococcus spp</i>	Digestives, gynécologique, suppuration profonds	Cerveau
<i>Fusobacterium spp</i>	Pleuropulmonaire	Cerveau

## 2. Hémoculture

### 2.1 Définition

L'hémoculture est une technique de laboratoire qui a pour but de mettre en évidence la présence ou l'absence de microorganismes (bactéries et levures) dans le sang et d'étudier leur sensibilité aux différents antibiotiques selon les cas [2].

#### ➤ Indication

L'hémoculture peut être effectuée dans plusieurs situations, notamment :

- En cas de suspicion de septicémie (symptôme de sepsis sévère ou un choc septique).
- En cas de fièvre prolongée et inexplicée.
- En cas de complications chez une personne souffrant d'un abcès, d'un furoncle ou d'une infection dentaire importante.
- En cas de fièvre survenant chez une personne porteuse d'un cathéter, d'une sonde ou d'une prothèse [9].
- En cas d'infection urinaire haute, de méningite et de pneumopathie.

### 2.2 Diagnostique bactériologique

Le diagnostic des bactériémies passe par l'isolement du germe responsable de bactériémie au niveau du sang et au niveau du foyer primaire et probablement au niveau des foyers secondaire.

Le sang est un milieu stérile, et par conséquent, toute hémoculture positive, quelqu'en soit le nombre et/ou les germes isolés, doit être considérée comme synonyme de l'infection systémique jusqu'à preuve du contraire. Cependant l'isolement dans une seule hémoculture d'un pathogène spécifique « signe de l'infection ».

#### 2.2.1 Le prélèvement

##### ➤ Conditions préalables et technique du prélèvement

La plupart des bactériémies sont intermittentes. En outre, la culture peut être compromise par la coexistence des inhibiteurs dans le sang.

Le prélèvement doit donc obéir à certaines règles :

- Une asepsie rigoureuse de la zone à prélevateure.

- Faire les prélèvements au moment des pics fébriles (température > 38.5 °C) ou en cas d'hypothermie < 36 °C) ;
- Faire les prélèvements le plus tôt possible, dès la suspicion de la bactériémie,
- Les faire si possible avant le démarrage de l'antibiothérapie,
- Faire si possible trois prélèvements (espacé de 30 min d'intervalle) par jour pour augmenter la sensibilité,
- La ponction veineuse est la seule méthode fiable. Le prélèvement à partir d'un cathéter augmente le taux de contamination,
- Prélever un volume de sang de l'ordre de 10 ml au minimum chez l'adulte afin d'obtenir une dilution à 1/10. Chez l'enfant, ce volume est de 5ml [10].

### ➤ **Flacon d'hémoculture**

#### - **Constitution des flacons**

De très nombreux milieux sont présentés par les fabricants en flacons sous pression réduite, permettant l'ensemencement direct à travers un opercule de caoutchouc. Ils contiennent le bouillon nécessaire pour la primo culture du prélèvement sanguin [11].

Ces milieux sont constitués de milieux de base et d'additifs.

Les milieux de base sont constitués de :

**Liquides** : Bouillon Trypticase, Bouillon Cœur-Cerveille, Bouillon Columbia et Bouillon Schaedler.

**Bi phasique (Flacon Castaneda)** : qui est le plus utilisé.

Les principaux additifs sont des anticoagulants et des inhibiteurs d'antibiotiques.

Les anticoagulants sont indispensables car les amas de fibrine gêneraient l'observation et l'isolement des germes.

Les inhibiteurs d'antibiotiques sont recommandés chez les malades déjà sous traitement.

L'utilisation des résines neutralisant les antibiotiques dans le but d'améliorer la sensibilité des hémocultures chez les malades recevant les antibiotiques [10].

### - Typologie des flacons

Malgré la diversité des flacons sur le marché, deux types de flacons sont proposés au clinicien en pratique courante pour respecter le type respiratoire des micro-organismes.

#### **Flacons aérobies**

Grace à leur atmosphère enrichie en oxygène, ils favorisent la croissance et la multiplication des bactéries aérobies strictes et aéro-anaérobie facultative rencontrées en clinique. Le milieu de culture est mono ou bi phasique.

#### **Flacons anaérobies**

Ces flacons grâce au bouillon spécifique qu'ils renferment, favorisent la culture des bactéries anaérobies strictes.

#### **Flacons spécial automate**

D'autres types de flacons sont proposés en fonction de la clinique du patient par les fabricants [11].

### **2.2.2 Examen bactériologique**

Dès l'arrivée au laboratoire, les Flacons d'hémoculture sont incubés à l'étuve à 37°C.

Ils sont examinés chaque jour.

Cependant un temps d'incubation plus long est nécessaire lorsque une bactérie à culture difficile est suspectée ou dans des contextes clinique particuliers (endocardites, patients sous antibiothérapie et la brucellose).

#### ➤ **Méthodes de détection**

**Détection manuelle** : le développement d'un microorganisme peut se manifester par des aspects différents

- Un trouble du bouillon,
- Hémolyse,
- Un coagulum,
- La production de gaz.

**Détection Automatique** : les automates sont fermés et utilise leur propres flacons, voir leur propres systèmes de prélèvement.

Les systèmes automatisés, permettant de faciliter la détection de la croissance microbienne et de raccourcir le délai d'incubation [12].

Le principe de lecture est la détection du CO<sub>2</sub> soit par infrarouge, fluorescence ou par spectrométrie en fonction du type de l'appareil utilisée [10].

- Parmi les automates utilisées on peut citer le système Bact/Alert 3D et Versa**TREK**.

### ➤ Interprétation d'une hémoculture

Les bactériémies sont le plus souvent mono-microbiennes.

L'interprétation est simple si la bactérie retrouvée est un pathogène strict comme par ex : *Salmonella*, *Brucella*, pneumocoque, méningocoque. Si la bactérie est un pathogène opportuniste comme par ex : *E. coli*, Staphylocoque à coagulase négative, *K. pneumoniae* ..., il faut au moins deux hémocultures au même genre le microbiologiste doit essayer en collaboration avec le clinicien de distinguer les contaminants des bactériémies vraies [14].

**Tableau 02** : Interprétation des hémocultures positives [12].

Nombre d'hémocultures positives	Bactérie en cause	Interprétation
Plusieurs hémocultures positives avec la même espèce bactérienne	Quelle qu'elle soit le genre	Vraie bactériémie.
Une seule hémoculture positive	Bactérie à pouvoir pathogène indiscutable ( <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Brucella</i> , <i>Salmonelle</i> )	Vraie bactériémie.
	Staphylocoques à coagulase négative	Confrontation clinico-bactériologique
	<i>Corynebacterium spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Propionibacterium spp.</i> ,	Généralement des Contaminant sauf cas particuliers (immunodéprimé)

### 2.3 Les principaux germes isolés dans l'hémoculture

Plusieurs germes peuvent être à l'origine des bactériémies [10] :

**Tableau 03** : Les principaux germes isolés dans l'hémoculture [15].

<b>Agents causale</b>	<b>Genres</b>	<b>Espèces</b>
<b>Cocci à Gram positif</b>	<i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>  <i>Enterococcus</i>	<i>S. aureus</i>  <i>S. pneumoniae</i> ; <i>S. pyogenes</i> et <i>S. agalactiae</i>  <i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>
<b>Cocci à Gram négatif</b>	<i>Neisseria</i>	<i>N. meningitidis</i>
<b>Bacilles aéro-anaérobie facultatifs à Gram négatifs</b>	<i>Escherichia</i> <i>Salmonella spp</i> <i>Klebsiella, Enterobacter</i> <i>et Serratia</i> <i>Proteus</i> <i>Providencia</i> <i>Morganella</i> <i>Yersinia</i> <i>Haemophilus</i>	<i>E. coli</i>  <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i>  <i>S. marcescens</i>  <i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i>  <i>P. stuartii</i>  <i>M. morganii</i>  <i>Y. pestis</i>  <i>H. influenzae</i>
<b>B G N aérobies stricts</b>	<i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i>	<i>P. aeruginosa</i>  <i>A. baumannii</i>
<b>Bacilles aérobies à Gram positifs anaérobie facultatifs</b>	<i>Listeria</i>	<i>L. monocytogenes</i>
<b>Bacilles anaérobies à Gram négatifs</b>	<i>Bactéroïdes</i>	<i>B. fragilis</i>

#### 2.3.1 Les entérobactéries

##### ➤ Généralités

Etymologiquement, le terme Enterobacteriaceae vient de deux mots grecs : *enteron* « intestin » et *baktérion* « petit bâton ». Il signifie bacilles intestinaux. Le nom d'Entérobactéries a été donné parce que ces bactéries sont généralement des hôtes commensaux ou pathogènes du tube digestif de l'homme et des animaux [16].

➤ **La classification des entérobactéries**

- **Règne** : *Bacteria*,
- **Embranchements** : *Proteobacteria*,
- **Classe** : *Gamma-proteobacteria*,
- **Ordre** : *Enterobacteriale*,
- **Famille** : *Enterobacteriaceae* [45].

On peut les classer dans le tableau suivant :

**Tableau 04** : Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine [17].

<b>groupes</b>	<b>Familles</b>	<b>Genre</b>	<b>Espèces</b>
<b>GROUPE I</b>	<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> <i>Salmonella enteritidis</i>
<b>GROUPE II</b>	<i>Escherichieae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
	<i>Levineae</i>	<i>Levinea</i>	
<b>GROUPE III</b>	<i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>Erwinia</i>	
<b>GROUPE IV</b>	<i>Proteae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
		<i>Providencia</i>	
<b>GROUPE V</b>	<i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i> <i>Y. pseudotuberculosis</i>

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante :

Bacilles à Gram négatif

Dépourvus d'oxydase

Mobiles grâce à une ciliature péritriche ou immobiles

Facilement cultivables sur des milieux usuels

Fermentent le glucose avec ou sans production de gaz

Réduisent les nitrates en nitrites

Les entérobactéries se développent *in vitro* sur des milieux "ordinaires". La température optimale de croissance est 37°C mais la culture est possible entre 20° et 40°C. Leur temps de division varie de 20 à 40 minutes [18].

### ➤ **Habitat et pouvoir pathogènes**

Les entérobactéries sont des bactéries ubiquitaires avec un habitat très large : eau douce, sol, végétaux, animaux (insectes jusqu'à l'homme) et peuvent contaminer des denrées alimentaires. Certaines espèces sont responsables de diarrhées et/ou d'infection opportunistes (infection urinaires, infection respiratoires, surinfections des plaies, septicémies, méningites). Chez l'homme, les entérobactéries, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Serratia marcescens subsp*, *Proteus spp*, *Providencia spp*, sont responsables d'environ 50 % des infections nosocomiales [19].

### ➤ **Virulence**

- Capsule : elle est de nature polysaccharidique, rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action du complément.
- Adhésines : elles peuvent induire une adhésion aux globules rouges ou à des cellules épithéliales. La plus part des adhésines se présentent sous forme de fimbriaes.

### ➤ **Résistance**

Certaines entérobactéries sont naturellement résistantes aux  $\beta$ -lactamines par la production de divers  $\beta$ -lactamase.

Les entérobactéries peuvent acquérir une résistance aux antibiotiques à large spectre. La détermination de la sensibilité par l'antibiogramme et donc indispensable.

Les entérobactéries multi-résistantes sont définies par une résistance à plusieurs antibiotiques, dont les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération [1].

### 2.3.2 Groupe III *Klebsielleae* (Groupe K.E.S)

Les bactéries du groupe K.E.S sont très répandues dans la nature, elles sont isolées à partir du sol, de l'eau, des végétaux et de divers aliments. Elles font partie de la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux ou ils existent toujours en faible quantité en particulier dans le tube digestif et les voies respiratoires [16].

Ces organismes ont des propriétés très semblables et sont habituellement distingués sur la base de plusieurs réactions biochimiques et de la motilité [20].

Les bactéries du groupe K.E.S ont en commun les caractères suivants :

- La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive.
- Ce sont des bactéries pathogènes opportunistes

Peu virulente par elles-mêmes, elles sont rencontrées peu en pratique extra hospitalière.

Opportunistes, elles sont surtout responsables d'infections hospitalières nosocomiales chez des malades débilisés : cirrhotiques, diabétiques, brûlés, cancéreux, vieillards, malades de réanimations et les nourrissons.

- Ces espèces sont souvent multi-résistantes aux antibiotiques [21].

#### 2.3.2.1 Le genre *Klebsiella*

Les bactéries du genre *Klebsiella* sont des entérobactéries immobiles et capsulées. On distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques. Elles expriment des antigènes K, capsulaires utilisables comme marqueurs épidémiologiques. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*.

Elles sont responsables d'infections urinaires au 2<sup>ème</sup> rang après *E. coli*, d'infections respiratoires (*Klebsiella pneumoniae* est "appelée pneumobacille de Friedlander"), de bactériémies et d'infections neuro-méningées post traumatiques ou post-chirurgicales.

Les isollements sont beaucoup plus fréquents à l'hôpital, et particulièrement dans les services de réanimation, qu'en ville [22].

### ➤ La classification

- **Règne** : *Bacteria*,
- **Embranchement** : *Proteobacteria*,
- **Classe** : *Gamma-proteobacteria*,
- **Ordre** : *Enterobacteriale*,
- **Famille** : *Enterobacteriaceae*,
- **Genre** : *Klebsiella*.
- **Espèce** : *K. pneumoniae*; *K. oxytoca* ; *K. ornithinolytica* ; *K. terrigena* ;  
*K. planticola* [45]

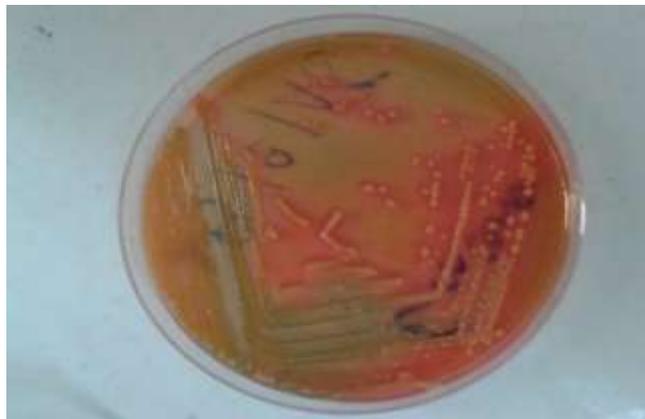
L'espèce *K. pneumoniae* est subdivisée en 3 sous espèces: *K. pneumoniae* subsp *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp *ozaenae* et *K. pneumoniae* subsp *Rhinoscleromatis*.

### ➤ Habitat

*K. pneumoniae* est rencontrée dans la flore fécale de 30 à 40% des animaux et de l'homme (bactérie ubiquitaire présente dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire de l'homme et des animaux en tant que bactérie commensale), elle végète sur la peau, les muqueuses et les vois respiratoires supérieures [23].

### ➤ Caractères morphologiques et culturaux

Les bactéries du genre *Klebsiella* sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, de dimensions comparables à celles d'*E. coli*. En général ils ont une culture très facile sur tous les milieux usuels. Sur les milieux classiques d'isolement pour entérobactéries. Les colonies de *Klebsiella pneumoniae* sont lactose positives, bombées, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine, d'un diamètre de 3 à 4 mm [24].



**Figure 02** : *K. pneumoniae* isolée sur Hektoen.

### ➤ Caractères biochimiques

**Tableau 05** : les caractères types de l'espèce type : *Klebsiella pneumoniae* [25].

Tests	Caractères
Mobilité	-
VP	+
RM	-
Uréase	+
ONPG	+
H <sub>2</sub> S	-
Indole	-
ADH	-
LDC	+
ODC	-
Gélatinase	-
Production de gaz	+
Citrate de Simmons	+

### ➤ Pouvoir pathogène

*K. pneumoniae* est responsable d'infections spontanées dans 25 % des cas, mais surtout d'infections nosocomiales notamment chez des patients hospitalisés dans des unités de soins intensifs adultes ou pédiatriques [26]. Dans ce dernier cas, elle est transmise par la manipulation de matériel souillée (cathéter, masque à oxygène...) et par les mains sales.

Elle est pathogène chez l'immunodéprimé, souvent traité par les antibiotiques, chez lequel elle est inoculée lors de manœuvres dans un but diagnostique ou thérapeutique.

Elle est aussi responsable d'infections diverses : infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires, hépatiques intra-abdominales, bactériémies, fasciites nécrosantes etc [27].

### ➤ Résistance naturelle

Le genre *Klebsiella* est naturellement sécréteur d'une pénicillinase chromosomique de bas niveau ce qui la rend naturellement résistante aux pénicillines A (amoxicilline et ticarcilline) et aux carboxypénicillines [25].

### ➤ Résistance acquise

- Résistance aux inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases : des  $\beta$ -lactamases de classe A de type IRT insensibles à l'acide clavulanique.
- $\beta$ -lactamases de classe A à spectre étendu (BLSE) : de nombreuses souches de *K.pneumoniae* sont productrices de BLSE. Pour la plupart d'entre elles, la production de BLSE se traduit par des images de synergie très caractéristiques entre les céphalosporines de troisième génération et l'acide clavulanique. On peut noter que certaines BLSE sont caractérisées par une activité faible vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération. Dans ce cas, le niveau de résistance est bas et les images de synergies sont plus discrètes
- $\beta$ -lactamases plasmidiques de classe C : chez *Klebsiella pneumoniae*, on connaît un grand nombre de beta-lactamases plasmidiques de classe C qui dérivent des céphalosporinases chromosomiques.
- Résistance au céfépime et au cefpirome : elle a été récemment décrite chez *K. pneumoniae* et semble liée à la combinaison de deux mécanismes : la production à haut niveau d'une BLSE SHV-5 et une diminution de la perméabilité de la membrane externe.
- Résistance à l'imipénème : elle peut être due à l'association d'une imperméabilité de la membrane externe à une production à haut niveau d'une  $\beta$ -lactamase plasmidique de classe A [24].

### 2.3.2.2 Le genre *Enterobacter*

Ce sont des pathogènes opportunistes responsables en milieu hospitalier d'infections divers comme les infections urinaires, les bactériémies, les méningites et les suppurations diverses [22].

Différentes espèces constituent ce genre. Certains n'ont jamais été associés à des infections humaines. Les espèces les plus souvent isolées incluent *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, suivie par *Enterobacter sakazakii*. Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, sont des

pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses, y compris la bactériémie, les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intraabdominales et ophtalmiques, l'arthrite septique et les ostéomyélites. *Enterobacter sakazakii* est l'agent d'infections rares mais sévères touchant particulièrement les très jeunes enfants, les personnes âgées et les sujets immunodéprimés. Cette espèce se différencie des autres *Enterobacter* par son pigment jaune [26].

### ➤ La classification

- **Règne** : *Bacteria*,
- **Embranchement** : *Proteobacteria*,
- **Classe** : *Gamma-proteobacteria*,
- **Ordre** : *Enterobacteriales*,
- **Famille** : *Enterobacteriaceae*,
- **Genre** : *Enterobacter*.
- **Espèce** : *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. sakazakii* [45]

### ➤ Habitat

*Enterobacter cloacae* complexe et *Enterobacter aerogenes* représentent les espèces les plus rencontrées en milieu hospitalier et ont été isolées comme des polluants communs de diverses surfaces inertes, des équipements de préparation et du matériel médicochirurgicaux. Ainsi que des mains et les vêtements de personnel médical. Elles sont présentes dans les unités d'urgences dans le monde entier.

### ➤ Les Caractères morphologiques et cultureux

Les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles droits à Gram négatif, de 0.6 à 1.0 µm de diamètre sur 1.2 à 3.0 µm de longueur, ils se présentent de manière isolée, groupée, ou en courtes chainettes ; mobiles par des flagelles péritriches (généralement de 4 à 6) et ils sont asporogènes comme toutes les entérobactéries [28].

Sur gélose nutritive, *E. cloacae* forme des colonies rondes avec un diamètre de 2 à 3 mm et légèrement plates avec des bords irréguliers [29].



Figure 03 : *Enterobacter spp* sur Hektoen.

➤ Les caractères biochimiques

Tableau 06 : Les principaux caractères biochimiques de l'espèce type

*E. cloacae* [29,30].

Test :	Caractères :
Glucose	+
Lactose	+
ONPG	+
Indole	-
VP	+
RM	-
Citrate	+
Mobilité	+
Urée	-
TDA	-
H <sub>2</sub> S	-
ODC	+
ADH	+
LDC	-

➤ Pouvoir pathogènes

*Enterobacter* est une bactérie pathogène opportuniste responsable en milieu hospitalier d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses [29].

### ➤ Résistance naturelle

*E. cloacae* et *E. aerogenes* sont naturellement résistants à l'amoxicilline, à amoxicilline-clavulanique, à la céfalotine et à la céfoxitine par production d'une  $\beta$ -lactamase chromosomique de classe C inductible AmpC. Les souches sauvages restent sensibles à la ticarcilline, à ticarcilline-clavulanique et à la pipéracilline et au céphamandole.

### ➤ Résistance acquis

- Mutants de céphalosporinases de classe C : la production constitutive à haut niveau de la  $\beta$ -lactamase chromosomique de classe C est un mécanisme fréquent chez *Enterobacter*. Elle entraîne une résistance additionnelle à la ticarcilline, à ticarcilline-clavulanique, au céfamandole, aux céphalosporines de troisième génération et à l'aztréonam.

-  $\beta$ -lactamases de classe A à spectre étendu (BLSE) : des  $\beta$ -lactamases à spectre de substrat étendu sont de plus en plus fréquemment identifiées dans les isolats cliniques d'*Enterobacter aerogenes*

- Résistance aux carbapénèmes : elle est encore rare : elle est encore rare. On peut l'observer lorsqu'il y a dans une même souche hyperproduction constitutive de la  $\beta$ -lactamase de classe C chromosomique et altération de la perméabilité par diminution du niveau de synthèse d'une porine [24].

#### 2.3.2.3 Le genre *Serratia*

Les bactéries du genre *Serratia* possèdent une gélatinase et une DNase sauf *S. fonticola* [26].

Elles sont des bactéries de l'environnement trouvées sur le sol et les plantes, mais rarement isolées en milieu hospitalier ; les souches non pigmentées sont fréquemment isolées en milieu hospitalier. Elles sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques [30].

### ➤ La classification

- **Règne** : *Bacteria*,
- **Embranchement** : *Proteobacteria*,
- **Classe** : *Gamma-proteobacteria*,
- **Famille** : *Enterobacteriaceae*,
- **Ordre** : *Enterobacteriales*,
- **Genre** : *Serratia*,
- **Espèce** : *S. marcescens*, *S. fonticola*, *S. odorifera* [45].

### ➤ Habitat

D'une manière générale, les espèces du genre *Serratia* sont isolées des plantes, du tube digestif des petits mammifères sauvages notamment les rongeurs, d'insectes, d'eau et du sol.

*Serratia marcescens* subsp. *marcescens* ne représente que 10% des isolats du milieu extérieur mais cette espèce est fréquemment présente dans l'environnement hospitalier [31].

### ➤ Les caractères morphologiques et culturels

Les *Serratia* sont des entérobactéries généralement mobiles. Elles donnent parfois des colonies pigmentées en rouge (elles sont rare en milieu hospitalier) [30].

Les espèces du genre *Serratia* sont des bacilles Gram négatif parfois assez fins, dont la longueur est intermédiaire entre celle des *E. coli* et celle des *Salmonella*, *Shigella*, et *Proteus* [31].

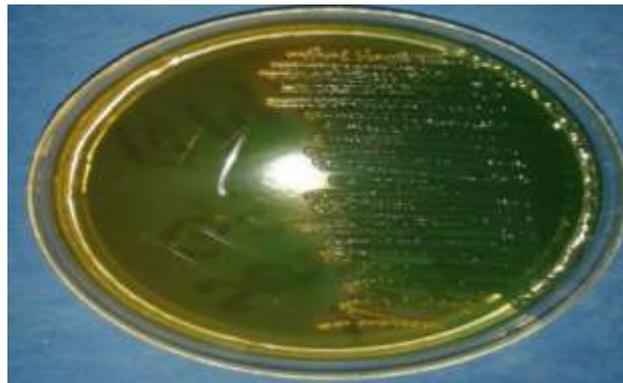


Figure 04 : *S. marcescens* sur milieu Hektoen.

### ➤ Les caractères biochimiques

Tableau 07 : Les principaux caractères biochimiques de l'espèce type *S. marcescens* [30,31].

Test :	Caractères :
Glucose	+
Lactose	-
ONPG	+
Indole	-
VP	+
RM	-

<b>Citrate</b>	+
<b>Mobilité</b>	+
<b>Urée</b>	-
<b>LDC</b>	+
<b>H<sub>2</sub>S</b>	-
<b>Gélatinase</b>	+
<b>ODC</b>	+
<b>TDA</b>	-

➤ **La pouvoir pathogène**

Les *Serratia* sont peu pathogènes pour les sujets sains. Aujourd’hui, elles sont responsables d’infections hospitalières parfois épidémiques, particulièrement *S. marcescens*.

En dehors des infections acquises à l’hôpital, des infections graves à *Serratia* (endocardites, ostéomyélites) ont été observées chez les héroïnomanes. *S. plymuthica* et *S. ficarcia* n’ont pas de pouvoir pathogène connu pour l’homme [30].

➤ **Résistance naturelle**

Les *Serratia* présentent une résistance naturelle aux céphalosporines de première génération, à la colistine et à la polymyxine B ; c’est ce que nous appelons « aspect en cocarde ». Cet aspect en cocarde est évocateur des *Serratia spp* [31].

*S. marcescens* est naturellement résistant à l’amoxicilline, à amoxicilline-clavulanique, à la céfalotine et au céfamandole par production d’une  $\beta$ - lactamase chromosomique de classe C inductible AmpC. Les souches sauvages présentent une résistance de niveau intermédiaire à la céfoxitine mais restent sensibles à la ticarcilline, à ticarcilline-clavulanique et à la pipéracilline.

➤ **Résistance acquise**

-  $\beta$ -lactamases de classe A à spectre étendu (BLSE).

- Mutants de céphalosporinase de classe C : on a récemment décrit une  $\beta$ -lactamase chromosomique, dans une souche de *S. marcescens* résistante aux céphalosporines de troisième génération, en particulier à la ceftazidime et au céfuroxime.

- Carbapénèmases de classe A : une enzyme de classe A, capable de conférer la résistance aux carbapénèmes, a été décrite chez *S. marcescens*. L'expression de cette enzyme est contrôlée par un gène régulateur
- Métallo- $\beta$ -lactamases.
- Autres mécanismes de résistance : la résistance par hyperproduction constitutive de la céphalosporinase chromosomique AmpC a été décrite. Ce mécanisme peut être trouvé en association avec la production d'une autre  $\beta$ -lactamase, par exemple une pénicillinase [24].

### 3. Résistance aux antibiotiques

#### 3.1 Définition

Un antibiotique se définit comme une substance naturelle ou synthétique possédant une toxicité sélective et capable d'inhiber la croissance d'une bactérie ou de la tuer. On parlera de bactériostase dans le premier cas, et de bactéricide dans le second. Un antibiotique peut avoir une activité bactériostatique à faible dose et une activité bactéricide à forte dose [32].

#### 3.2 Définition de la résistance aux antibiotiques

Une souche est dite résistante à un antibiotique lorsqu'elle supporte une concentration plus élevée que celle qui inhibe le développement des autres souches de la même espèce.

#### 3.3 Type de résistance bactérienne

La résistance bactérienne peut être naturelle ou acquise.

- **Résistance naturelle**

La résistance naturelle (représente 10%) est un caractère présent chez toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. Elle est liée à son patrimoine génétique. Elle est donc transmissible à la descendance. Ce type de résistance définit le phénotype sauvage des espèces bactériennes.

- **Résistance acquise**

Ce type de résistance (représente 90%) n'apparaît que chez quelques souches d'une espèce donnée naturellement sensible à un antibiotique. Elle résulte de la modification de son patrimoine génétique soit par mutation chromosomique, soit par acquisition de gènes portés par des plasmides ou des transposons qui rendent la bactérie insensible à l'antibiotique. La résistance acquise est transmissible horizontalement et verticalement, elle est responsable de la majorité des résistances observées [3].

#### 3.4 Classification et mode d'action

Les antibiotiques se différencient des antiseptiques par leur mécanismes d'action, ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, dénommé site d'action.

L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part. Pour résumer ces dernières, on peut dire que pour être actif, un antibiotique doit :

- Pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne ;
- Ne pas être inactivé ;
- Être capable de se lier à sa cible.

Ce sont les conditions nécessaires à l'activité antibactérienne.

L'antibiotique exercera son action qui pourra être de deux types de modalité :

- bactériostatique, s'il n'y a qu'une simple inhibition de la croissance bactérienne ;
- ou bactéricide, s'il y a mort de la bactérie.

Les quatre cibles principales sont :

- **La paroi** : inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne ( $\beta$ -lactamines, glycopeptides, fosfomycine).

La pénicilline et les antibiotiques chimiquement apparentés empêchent la réaction de transpéptidation qui est une étape importante dans l'assemblage du peptidoglycane, le polymère de la paroi cellulaire. Ceci entraîne la fragilisation de la paroi cellulaire, notamment chez les micro-organismes à Gram positif. Les micro-organismes vivant généralement dans un environnement osmotiquement hostile, et ceux qui auront une paroi défectueuse, pourront absorber de l'eau et éclater ou se lyser. Les bactéries Gram négatives ont tendance à être moins sensibles à la pénicilline car leur enveloppe externe empêche l'antibiotique d'atteindre la couche de peptidoglycane de la cellule.

- **La membrane cytoplasmique** : inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines non actifs sur les Gram +).

La polymyxine et la tyrocidine sont tous deux, des antibiotiques polypeptidiques qui altèrent les membranes cellulaires. Les deux sont produites par des bactéries du genre *Bacillus*. La tyrocidine est un ionophore, qui perturbe la perméabilité sélective en formant des canaux à travers la membrane cellulaire, entraînant la perte de cations monovalents. Par conséquent, le microorganisme ne peut établir de force proton motrice, et le transport vers l'intérieur ou l'extérieur de la cellule est altéré. La polymyxine provoque des dommages

similaires à la membrane cytoplasmique. Les antibiotiques peptidiques ne sont pas ingérés mais sont appliqués par voie externe pour traiter des infections de la peau. Les enzymes présentes dans le tractus intestinal sont capables de dégrader ce type d'antibiotiques.

- **Le chromosome** : inhibition de la synthèse de l'ADN (quinolones). Les quinolones inhibent l'ADN gyrase et interfèrent ainsi avec la réplication, la réparation et la transcription de l'ADN.
- **Le ribosome** : inhibition de la synthèse protéique (cyclines, aminosides, macrolides).

Les antibiotiques antibactériens qui inhibent la synthèse protéique, le font par fixation au ribosome bactérien.

Dans certaines situations cliniques, l'association de deux antibiotiques ayant des sites d'action distincts sur la bactérie permet d'obtenir une meilleure efficacité.

Les antibiotiques les plus sélectifs sont ceux qui interfèrent avec la synthèse des parois bactériennes (les pénicillines, les céphalosporines, la vancomycine et la bacitracine).

Ces produits ont un indice thérapeutique élevé parce que les parois bactériennes possèdent une structure unique inexistante dans les cellules eucaryotes [33].

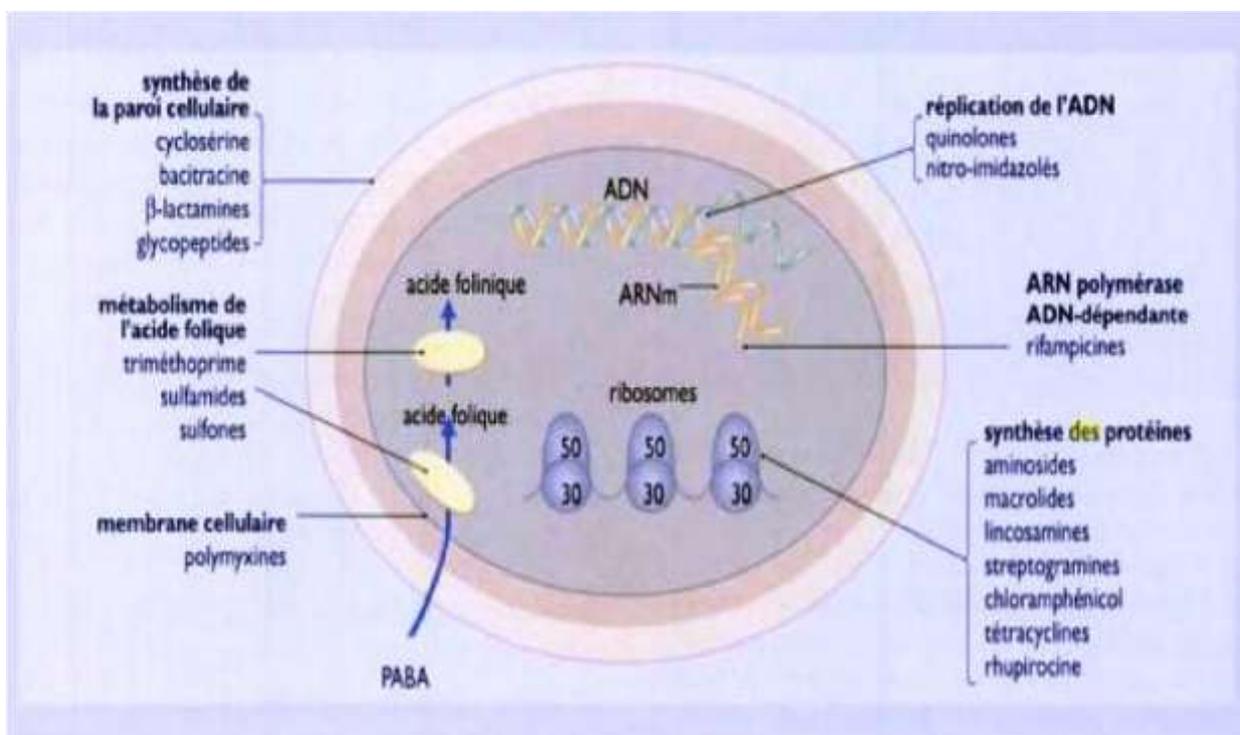


Figure 05 : Site d'action des différents types d'antibiotiques [34].

# *Matériel et méthode*

### I. Matériel et méthodes

#### • Type de l'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective et prospective dans laquelle nous allons déterminer les bactéries du groupe K.E.S responsables des bactériémies, leurs fréquences et leurs profils de résistances aux antibiotiques.

#### • Cadre et durée de l'étude

Ces résultats sont obtenus à partir de notre consultation des registres d'hémoculture du 1<sup>er</sup> Janvier 2016 au 31 décembre 2017, au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire Ibn Badis de Constantine (CHUC) y compris les résultats de notre stage pratique, de 3 mois (1<sup>er</sup> Janvier 2018- 31 Mars 2018).

#### • Présentation du service de microbiologie

Le laboratoire de microbiologie assure la réalisation de toutes les analyses bactériologiques des malades de l'hôpital et aussi des patients hors l'hôpital (TA).

#### • Echantillon étudié

Ce travail porte sur 8440 prélèvements provenant des malades hospitalisés dans les différents services du CHU de Constantine.

### 1. Matériel

- Nous avons utilisées le matériel disponible au laboratoire de microbiologie.

### 2. Méthodes

#### 2.1 Recueil des données

Les données sont recueillies à partir du registre des hémocultures du laboratoire de microbiologie. Elles comportent : le nom, le prénom, le sexe, le service, le résultat de l'étude microbiologique et l'interprétation de l'antibiogramme.

#### 2.2 Réception

Les prélèvements permettant de mettre en évidence une bactérie responsable d'une infection dépendent du site anatomique atteint, mais peuvent correspondre à des liquides biologiques dans lesquels la bactérie ou des antigènes bactériens peuvent être détectés.

### ➤ Prélèvement sanguin pour hémoculture

La ponction veineuse est la seule méthode valable pour prélever le sang en vue d'une culture bactériologique.

Il est recommandé de réaliser les prélèvements de sang avant ou à distance de l'administration d'antibiotiques.

On ponctionne le sang veineux à raison de :

- 10 ml pour l'adulte
- Pour l'enfant et le nourrisson, ça varie selon le poids : de 2 à 5 ml [35].

### 2.3 Acheminement

Les flacons d'hémocultures sont correctement étiquetés avec nom, prénom du malade, accompagné d'un fiche de renseignement clinique contient le service d'hospitalisation, la date, l'heure et la température du patient au moment du prélèvement, et éventuellement la maladie suspecté.

Ils sont rapidement acheminés au laboratoire d'analyse, enveloppés dans du coton afin de les maintenir à une température proche de celle de l'organisme.

Ils sont immédiatement placés à l'étuve à 35° C.

### 2.4 Identification bactérienne

#### 2.4.1 Examen macroscopique des flacons d'hémocultures

##### 2.4.1.1 Système manuel

Au laboratoire, les flacons sont examinés chaque jour jusqu'au 8ème jour d'incubation.

La surveillance des flacons est visuelle, basée sur la recherche d'un trouble, d'un voile en surface, d'une hémolyse, d'un coagulum, de dépôts blanchâtres floconneux au fond du flacon ou de particules adhérentes sur sa paroi interne [11].

##### 2.4.1.2 Système automatisé

Le système automatisé était basé sur l'utilisation de 2 automates :

- Versa **TREK**° :

C'est une étuve d'incubation d'hémoculture à 37°C, avec un mouvement d'agitation régulier.

Versa **TREK** Est le seul système capable de détecter n'importe quel gaz produit (ex par : *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*) ou consommé par des organismes (ex : *Brucella suis*, *Helicobacter spp*, *Nocardia spp*). Comme il ne se limite pas à la production de CO<sub>2</sub> contrairement aux autres systèmes, Versa **TREK** peut détecter une plus grande variété d'organismes communs et exigeants. Cette technologie de détection unique se traduit par des résultats plus rapides et moins de limitations, ce qui permet de raccourcir la durée de réponse, de réduire le coût des traitements et de privilégier la qualité des soins pour les patients.



**Figure 06 : VersaTREK**

- Bact/Alert 3D :

C'est une étuve incubant des flacons d'hémoculture, à 37°C, avec un mouvement d'agitation régulier, munie d'un système de lecture optique lisant toutes les 10 minutes. Le sang est mis dans les flacons au cours de la prise de sang via les systèmes vacataire. Le volume de sang recueilli dans les flacons doit être compris entre 5 ml et 10 ml.

Le principe de détection des microorganismes est basé sur la modification de couleur d'un indicateur colorimétrique.

Cet indicateur est situé à la base des flacons, séparé du liquide par une membrane perméable au dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>).

Le CO<sub>2</sub>, produit par le métabolisme des microorganismes, passe à travers la membrane de manière passive, ce qui produit une réaction chimique acidifiant l'indicateur colorimétrique [13].



**Figure 07** : Bact/Alert 3D

### 2.4.2 Repiquage et isolement des flacons positifs

Cette étape consiste à repiquer chaque prélèvement positif sur un milieu de culture gélosé qui permet d'obtenir des colonies. L'étude de la morphologie de ces dernières peut être un élément d'orientation pour l'identification des bactéries.

Les milieux de culture utilisés dans ce travail sont les suivants :

➤ **Gélose au sang cuit** (Annexe I)

C'est un milieu non sélectif riche en facteur de croissance (hémine, nicotinamide).

Il permet la culture des bactéries exigeantes comme *Neisseria*, *Haemophilus influenzae*.

### ➤ **Gélose Hektoen** (Annexe I)

C'est un milieu sélectif qui permet l'isolement des bactéries à Gram négatif notamment les entérobactéries. Il contient des facteurs de croissance et des sels biliaires ainsi qu'un indicateur de pH (le bleu de bromothymol).

### ➤ **Gélose Chapman** (Annexe I)

C'est un milieu riche en NaCl (7.5 %), il contient aussi le mannitol (1%) et un indicateur de pH (le rouge de phénol). Il est sélectif pour les staphylocoques [3].

#### **2.4.2.1 La culture**

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. Les éléments d'identification macroscopiques sont :

- La forme des colonies : rondes, irrégulières,...etc.
- La taille des colonies par la mesure du diamètre : pinctiformes ou non.
- La chromogénés : couleur de la colonie.
- L'élévation : convexe, concave, plate.
- L'opacité : opaque, translucide ou transparente.
- La surface : lisse, rugueuse, sèche, dentelée,...etc [36].

#### **2.4.2.2 Examen microscopique**

Cette examen est fait en cas d'urgence et à la demande du clinicien pour démarrer un traitement d'antibiotique en fonction des bactéries observées et en fonction de l'écologie du service.

### ➤ **Coloration de Gram**

#### **• Principe et technique**

La coloration de Gram est la coloration de base de la bactériologie. C'est une coloration double qui permet de différencier les bactéries non seulement d'après leur forme, mais surtout d'après leur affinité pour les colorants liés à la structure général de la paroi.

Le principe de cette méthode, mise au point de façon empirique par le médecin danois Gram en 1884, est le suivant : on étale les bactéries sur une lame de verre, on les fixe par la chaleur ou l'alcool, puis on les colore successivement avec une solution de violet de gentiane et un mordant, la liqueur de Gram, ou solution de Lugol (mélange d'iode et d'iodure de potassium) ; la préparation est ensuite traitée avec un solvant organique, tel que l'alcool. Après le solvant, on procède à une contre-coloration avec un colorant rouge, comme la fuchsine de Ziehl diluée [23].

Observer au microscope (Objectif x100 à immersion).

### ➤ Observation à l'état frais

Ce test permet de déterminer la forme, l'arrangement et la mobilité des bactéries. Il consiste en l'observation d'une goutte de suspension bactérienne, préparée avec de l'eau physiologique et placée entre lame et lamelle. L'observation se fait sous microscope photonique.

#### • Mode opératoire

- Déposer une goutte d'une culture en milieu liquide sur une lame de verre.
- Recouvrir la goutte d'une lamelle couvre objet (la culture ne doit pas déborder les contours de la lamelle).
- Luter la lame avec de la paraffine fondue.
- Observer immédiatement au microscope (objectif x40, condenseur non relevé au maximum, diaphragme non complètement ouvert).
- Après observation jeter immédiatement la lame dans un bocal contenant de l'eau de Javel [36].

## 2.5 Identification biochimique

### 2.5.1 Préparation de la suspension bactérienne

La préparation de la suspension bactérienne consiste en transfert en condition aseptique d'une colonie bien isolée sur un milieu solide d'isolement vers un tube qui contient 1 à 2 ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension va servir à ensemercer différents milieux de culture en tubes permettant ainsi de mettre en évidence différents caractères biochimiques [23].

Les milieux de cultures ensemencés par la suspension préparés sont :

➤ **Milieu TSI** (Annexe I)

• **Principe**

Ce milieu permet de mettre en évidence d'une part, la fermentation du glucose (avec ou sans dégagement de gaz), du lactose, du saccharose et d'autre part, la production d'hydrogène de sulfate ( $H_2S$ ). C'est un milieu incliné dont la lecture de la fermentation du glucose présent dans le culot, est attaquée par voie fermentative entraînant une acidification du milieu avec production ou non de gaz. Sur la pente, le lactose et le saccharose seront alors oxydés et fermentés. La production du  $H_2S$  se manifeste par un noircissement du culot.

• **Technique**

Une colonie est ensemencée en réalisant une piqûre centrale dans le culot et des stries serrés sur la pente. Remettre le bouchon du tube sans le revisser totalement.

Incubation à 30°C pendant 24 heures [36].

➤ **Milieu mannitol-mobilité** (Annexe I)

• **Principe**

Le milieu mannitol-mobilité est utilisé pour la différenciation rapide des entérobactéries.

Il permet de déceler la dégradation du mannitol et la mobilité de la bactérie.

• **Technique**

L'ensemencement se fait au moyen d'une pipette pasteur par une simple piqure centrale jusqu'au fond du tube, la lecture se fait après 24 h d'incubation à 37°C.

➤ **Milieu citrate de Simmons** (Annexe I)

• **Principe**

Le milieu citrate de sodium (Simmons) est utilisé pour l'identification des bacilles Gram négatif. Il permet de rechercher l'utilisation de citrate de sodium comme seule source de carbone.

• **Technique**

L'ensemencement se fait au moyen d'une pipette pasteur par des stries longitudinales de la pente, la lecture se fait après 24 h d'incubation à 37°C.

➤ **Milieu urée-indole** (Annexe I)

• **Principe**

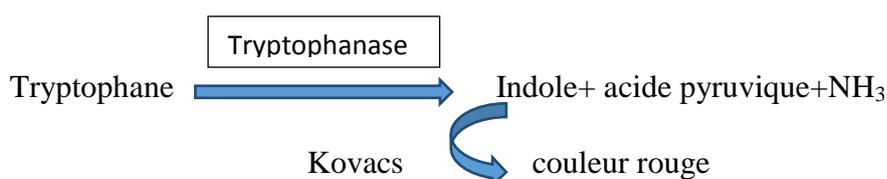
Le milieu urée-tryptophane appelé improprement milieu urée-indole c'est un milieu complexe qui fournit un ensemble de résultats utiles pour la différenciation des entérobactéries. Il permet de rechercher :

- L'uréase :

Les entérobactéries peuvent dégrader l'urée qui est un composé organique et qui peut servir de source d'azote unique aux bactéries possédant une uréase très active. En présence de cette enzyme, les bactéries uréolytiques peuvent transformer l'urée en ammoniac et en carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu, et qui fait virer l'indicateur coloré de pH (le rouge de phénol) du jaune au rouge en milieu basique [23].

- L'indole\* :

L'indole est le produit de l'hydrolyse du tryptophane par une enzyme, la tryptophanase. Il mise en évidence grâce à la coloration rouge caractéristique qu'il donne avec le réactif de Kovacs.



**2.6 Détermination de la sensibilité aux antibiotiques**

Nous avons testé la sensibilité de toutes les souches identifiées vis-à-vis différents antibiotiques par la méthode de l'Antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton (MH) selon le CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute).

**2.6.1 Milieu pour antibiogramme (Muller Hinton) (Annexe I)**

Nous avons utilisé la gélose MH dont l'épaisseur en boîte est = 4mm. Les boîtes sont ensuite séchées à 37°C pendant 20 min afin d'éliminer l'excès d'humidité.

### 2.6.2 Inoculum

- A' partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 MF (Mac Ferland) ou à une D.O (Densité Optique) de 0.08 à 0.10 lue à 625nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

### 2.6.3 Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

### 2.6.4 L'application des disques d'antibiotiques

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces stériles et ne pas déplacer les disques après application.

La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie est dans l'annexe II.

### 2.6.5 Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Pour les Bactéries testées sur MH simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers de la boîte de Petri fermée.

-Pour les bactéries testées sur MH au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de Perti ouverte et bien éclairée.

-Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques dans le tableau de lecture dans l'annexe III.

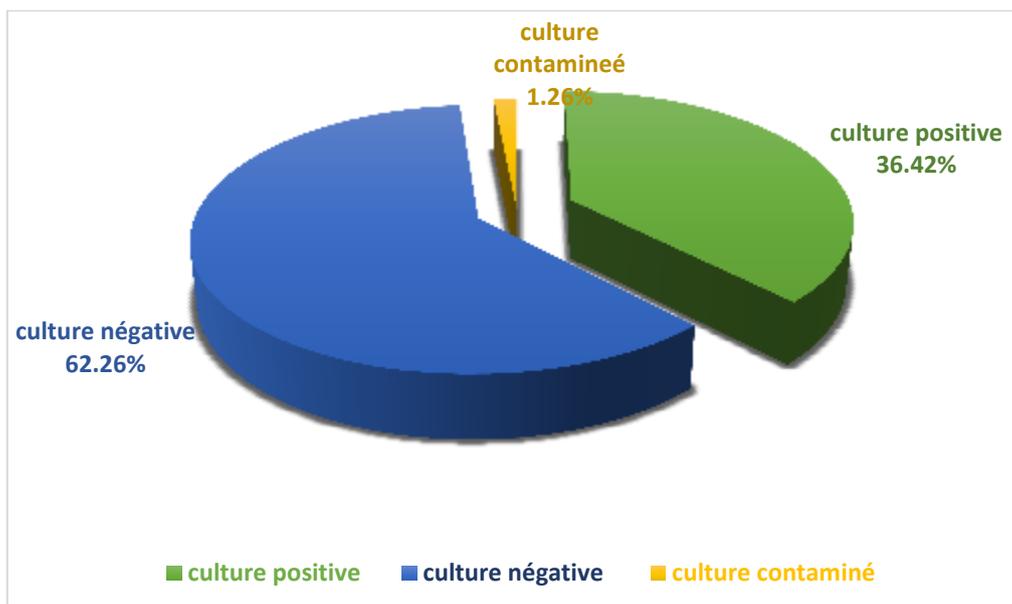
Classer la bactérie dans l'une des Catégories S, R ou I [33,37].

# *Résultat et discussion*

**II. Résultats et discussion**

**1. Fréquences des hémocultures positives**

Durant la période d'étude rétrospective de 1<sup>er</sup> Janvier 2016 à 31 Décembre 2017 et prospective du 1<sup>er</sup> Janvier 2018 à 31 Mars 2018, 8440 prélèvements provenant des différents services du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine ont été reçus au niveau de service de microbiologie. La répartition des résultats des hémocultures est représentée dans le Tableau 08 (Annexe IV)



**Figure 08** : Fréquences des hémocultures positives.

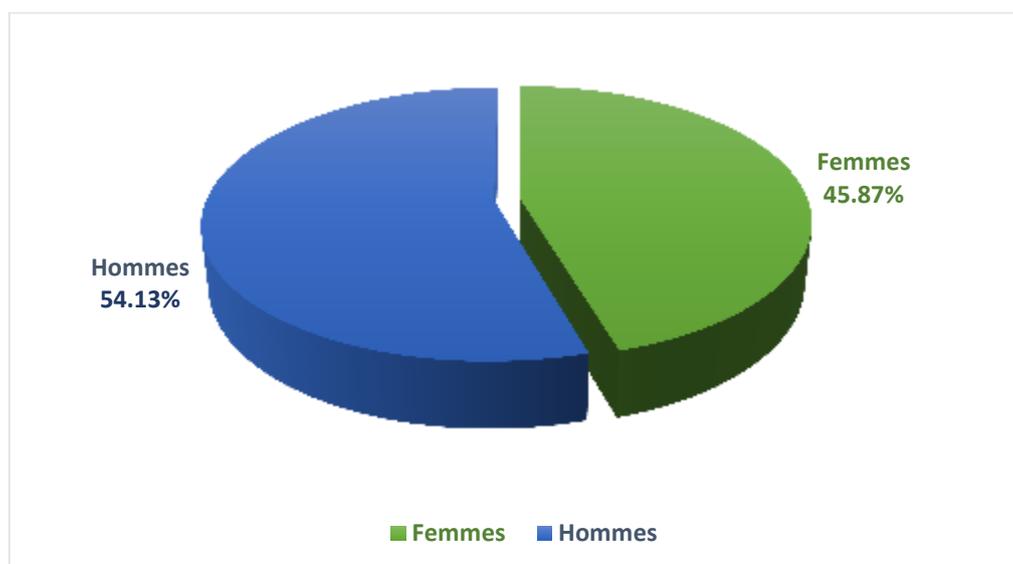
Sur l'ensemble des hémocultures reçues, 3074 prélèvements étaient positifs ce qui représentaient (36.42 %) des cas, les hémocultures négatives représentaient (62.26 %) et celles qui sont considérées comme des cultures contaminées ont été de l'ordre de (1.26 %).

Une étude multicentrique faite en 2016 au niveau de CHU de Constantine et au niveau de l'Hôpital Militaire de Constantine (HMC) a montré que parmi 7477 hémocultures pratiqués, 1799 cas positives soit (24 %), tandis que (73 %) a été négatives, viennent enfin les hémocultures contaminées avec seulement (3 %). Ces résultats concordent avec ce de notre étude [1].

### 2. Répartition des hémocultures positives en fonction du sexe

Parmi les 3074 hémocultures positives, 1664 provenaient des sujets de sexe masculin soit (54.13 %) des cas alors que celles provenant des sujets de sexe féminin étaient de 1410 hémocultures (45.87 %), avec un sexe ratio H/F de (1.1) (Tableau 09) annexe IV.

Une étude menée au Centre Hospitalo-Universitaire de Casablanca au Maroc en 1994 a montré une prédominance masculine avec un sexe ratio de (1) [38].



**Figure 09 :** Répartition des hémocultures positives en fonctions du sexe.

### 3. Répartition des hémocultures positives en fonction des secteurs d'activités

La fréquence des bactériémies était élevée dans le service de réanimation (46.9 %), service de médecine (30.6 %), alors qu'elle était de (5.5 %) en pédiatrie, (1.8 %) dans les services de nurserie et la chirurgie (Tableau 10) annexe IV.

La servence d'une bactériémie est favorisée par les procédures invasives et par l'état immunitaire affaibli des malades hospitalisés dans ces services [3].

Nos résultats ne sont pas similaire à ceux trouvés dans une étude faite au Laboratoire de bactériologie du C.N.H.U –Cotonou (1987-1990), qui montre un pré dominance dans le service de gynéco-obstétrique (51.4 %) suivi par pédiatrie (43.3 %), service de chirurgicaux (31.8 %) [42].

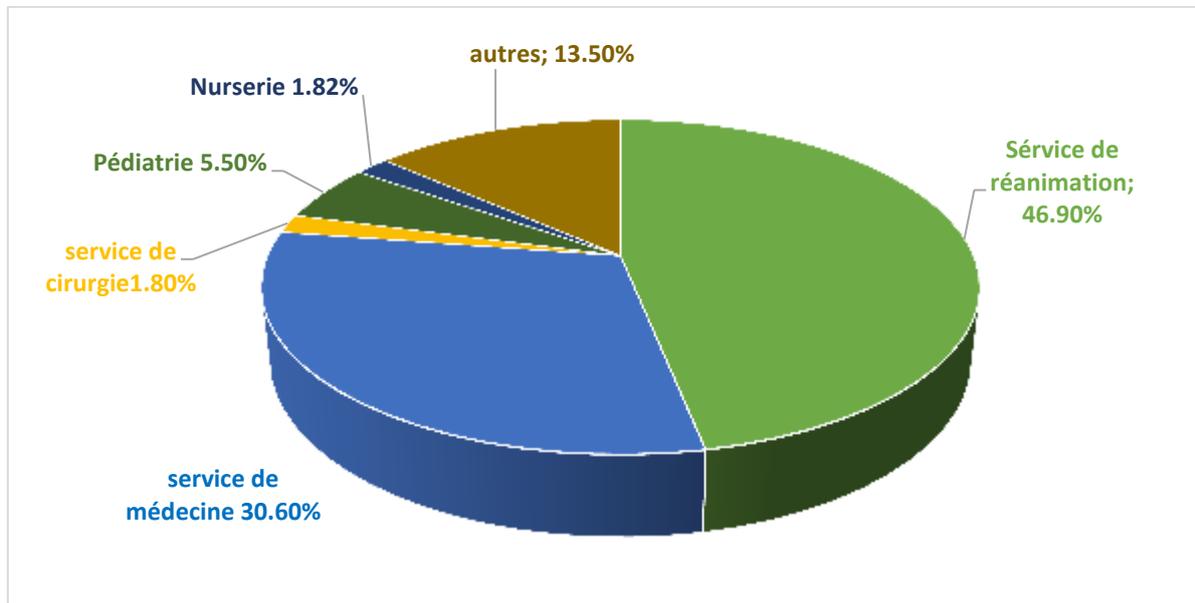


Figure 10 : Répartition des hémocultures positives en fonction des secteurs d'activités.

#### 4. Fréquences des germes isolés

La fréquence des germes isolés a montré une prédominance des cocci à Gram positifs avec 1903 des cas (57.3 %). Les staphylocoques à coagulase négatif étaient les germes les plus fréquemment isolés (37.9 %). *S. aureus* représentait un pourcentage de (12.5 %) des germes. Les entérocoques et *Streptocoques spp* représentaient (3.9 %) et (3 %) respectivement.

Les entérobactéries représentaient (17.8%) des germes isolés avec une prédominance de *K. pneumoniae* (7.1 %) et *E. coli* (6.4 %). *Enterobacter spp*, *E. cloacae* et *Serratia spp* représentaient (2 %), (1 %) et (0.5%) respectivement (Tableau 11) annexe IV.

Une étude faite sur le Profil Bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax (1993-1998) a montré une prédominance de *K. pneumoniae* (14 %) suivi par *E. cloacae* (6.3 %), *Serratia spp* (3.1 %) ces résultats sont proches à ceux de nos résultats [39].

*K. pneumoniae* représente une près dominance parmi les entérobactéries suivi par *Enterobacter* et *Serratia*, ces résultats sont en concordent avec des études faites en C.N.H.U [42].

Les bactéries du groupe K.E.S occupe la troisième place parmi les germes isolés en hémoculture, nos résultats sont similaires à ceux trouvée dans une étude faite sur l'antibiogramme directe sur flacon d'hémoculture positif: mise au point et intérêt en thérapeutique [43].

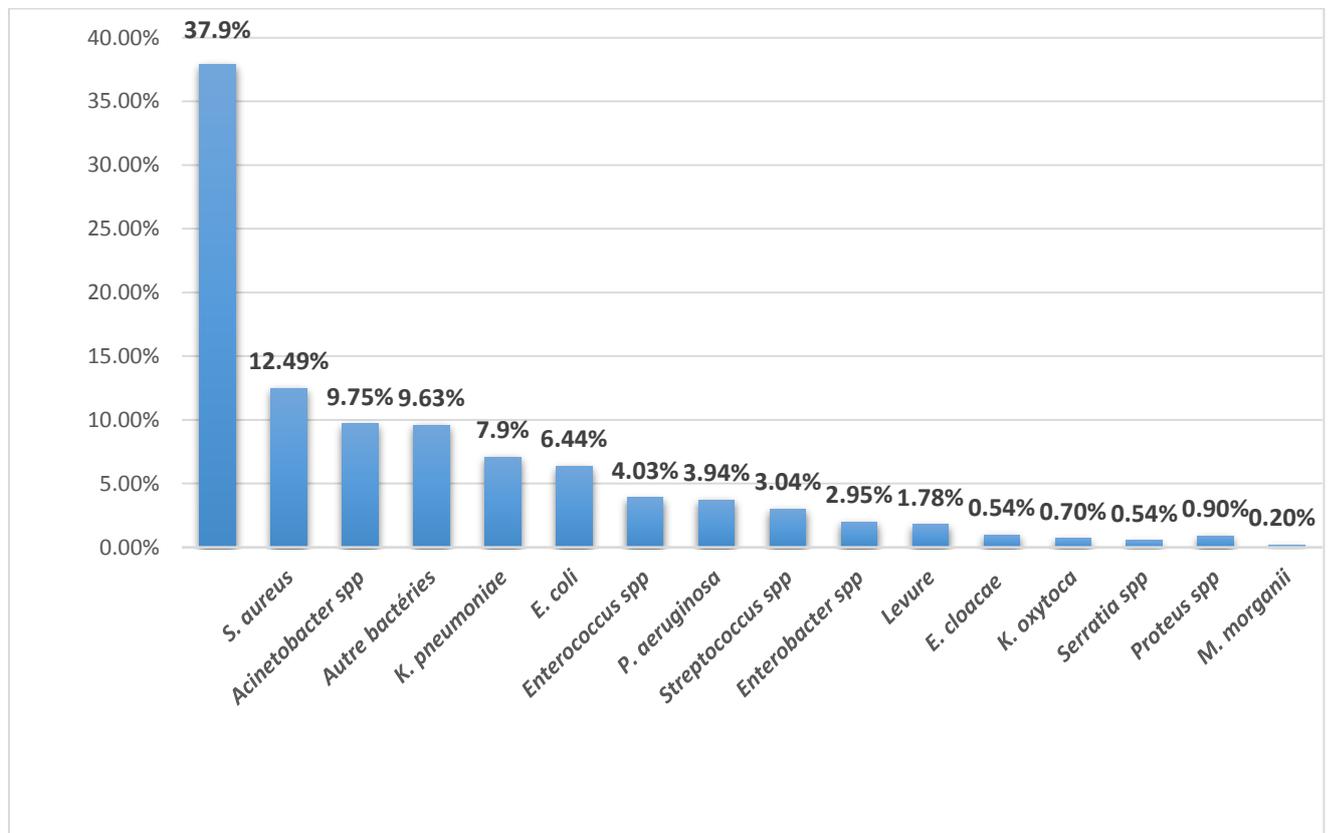


Figure 11 : Fréquences des germes isolés.

### 5. Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction du sexe

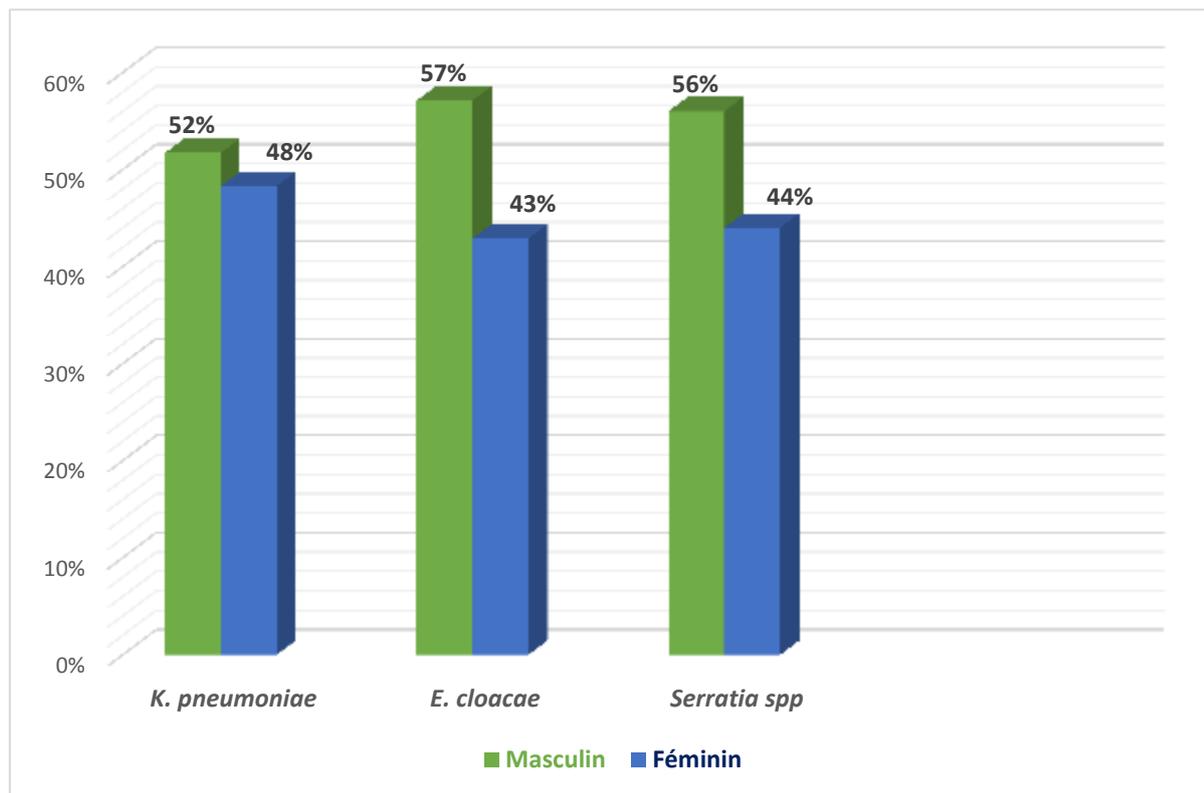
Parmi les 238 hémocultures dues à *K. pneumoniae*, 123 provenaient des sujets de sexe masculin soit (51.7 %) des cas, alors que celles provenant des sujets de sexe féminin étaient de 115 soit (48.3 %) (Tableau 12) annexe IV.

Ces résultats correspondent à ceux de l'étude de SEKHRI Arafa (2011) avec une prédominance masculine [27].

Parmi les 63 hémocultures dues à *E. cloacae*, 16 des cas provenaient de sexe masculin soit (57.1 %), alors que 15 cas provenant des sujets de sexe féminin avec un pourcentage de (42.9 %). (Tableau 12) annexe IV.

Ces résultats sont différents de ceux trouvés dans une étude faite au CHUC et à l'HMC 2014-2016, avec une prédominance de sexe féminin [1].

Selon les résultats obtenus, 18 hémocultures dues à *Serratia spp*, 10 des cas provenaient des sujets de sexe masculin soit (56 %), alors que 8 cas provenant des sujets de sexe féminin (44 %) (Tableau 12) annexe IV.



**Figure 12** : Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction du sexe.

### 6. Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction de secteur d'activité

*Klebsiella spp* était dominante dans le service de réanimation (48.9 %), 23 cas étaient enregistrés dans le service de nurserie avec un pourcentage de (8.8 %) (Tableau 13) annexe IV.

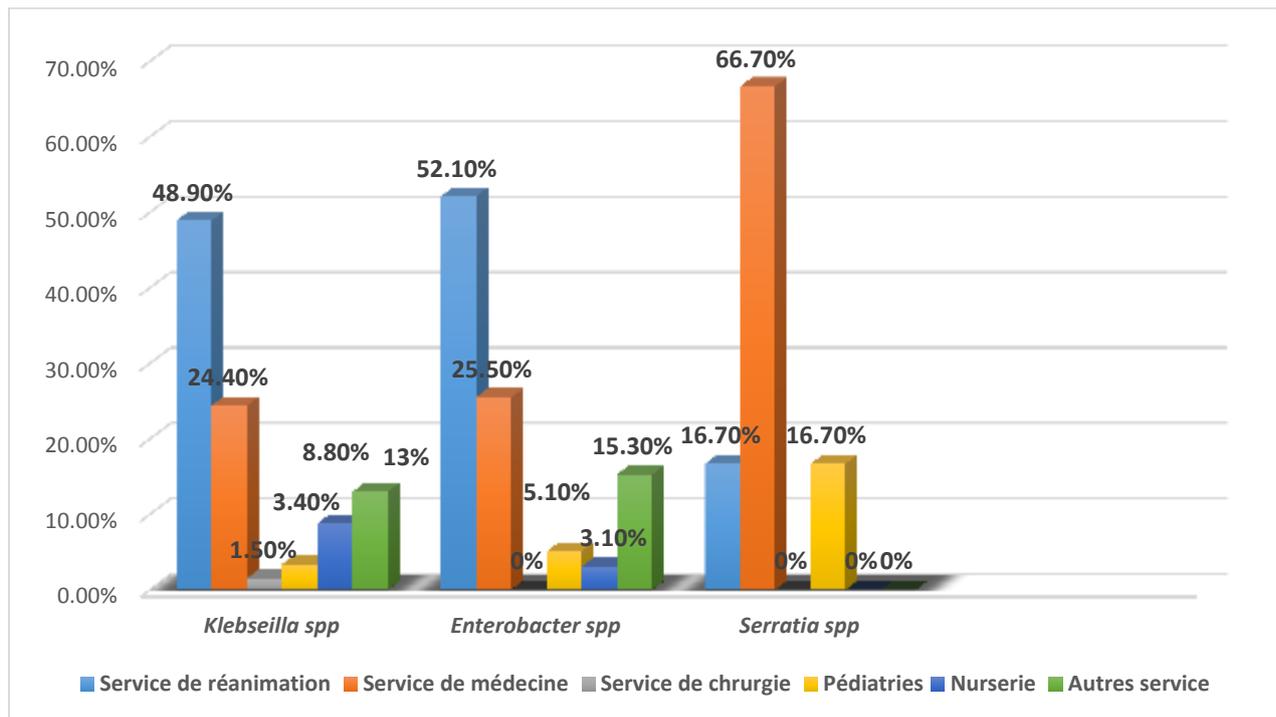
Ces résultats sont similaires à ceux trouvés dans l'étude du profil épidémiologique des septicémies nosocomiales au CHUC et à l'HMC 2014-2016 [1].

La fréquence d'isolement des bactéries au sein du groupe K.E.S en fonction de secteur d'activité montre que les espèces d'*Enterobacter spp* étaient dominant dans le service de réanimation soit un taux de (52.1 %) (Tableau 13) annexe IV.

Les résultats de rapport de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (16<sup>ème</sup> rapport d'évaluation 2015) se concordent avec notre étude qui montre une prédominance d'*Enterobacter spp* dans le service de réanimation (43.4 %) [40].

Pour le service de médecine, *Serratia spp* était les plus dominante (66.7 %), suivi par le service de réanimation et service de pédiatrie par un pourcentage de (16.7 %), alors qu'aucun cas n'a été enregistré dans le service de chirurgie (Tableau 13) annexe IV.

**NB :** il y'a peu d'étude concernant *Serratia spp* dans notre échantillon n'est pas représentatifs.



**Figure 13 :** Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction de secteur d'activité.

### 7. Profil de résistance de *K. pneumoniae*

L'étude de la résistance de *K. pneumoniae* a montré que (72.8 %) des souches testées résistes à la céfotaxime, et (73.8 %) à l'amoxicilline + acide clavulanique, la résistance à la ciprofloxacine était de (47.3 %), pour l'imipénème et la gentamicine étaient de (9.4 %), (60.3 %) respectivement. Toutes les souches testées étaient sensibles à la colistine (Tableau 14) annexe IV.

Une étude faite en 2013 au niveau du service de Microbiologie de Constantine montre qu'il y a une similarité avec nos résultats, qui étaient les suivants : amoxicilline + acide clavulanique (95.8 %), céfotaxime (86.4 %), gentamicine (36.8 %) [41].

La résistance aux Céphalosporines de troisième génération due à des BLSE est problématique par ces souches héberge des plasmides transférables et codants pour la résistance à plusieurs antibiotiques en même temps notamment les aminosides et les fluoroquinolones.

Ces souches expriment cette résistance sont devenues endémiques, dans les hôpitaux algériennes et dans ceux d'autres pays et posent d'énormes problèmes thérapeutiques. Certains

pays développés en vue 1<sup>ère</sup> taux de résistance diminuée grâce à des stratégies efficaces de lutte contre les infections nosocomiales et les bactéries résistantes aux antibiotiques.

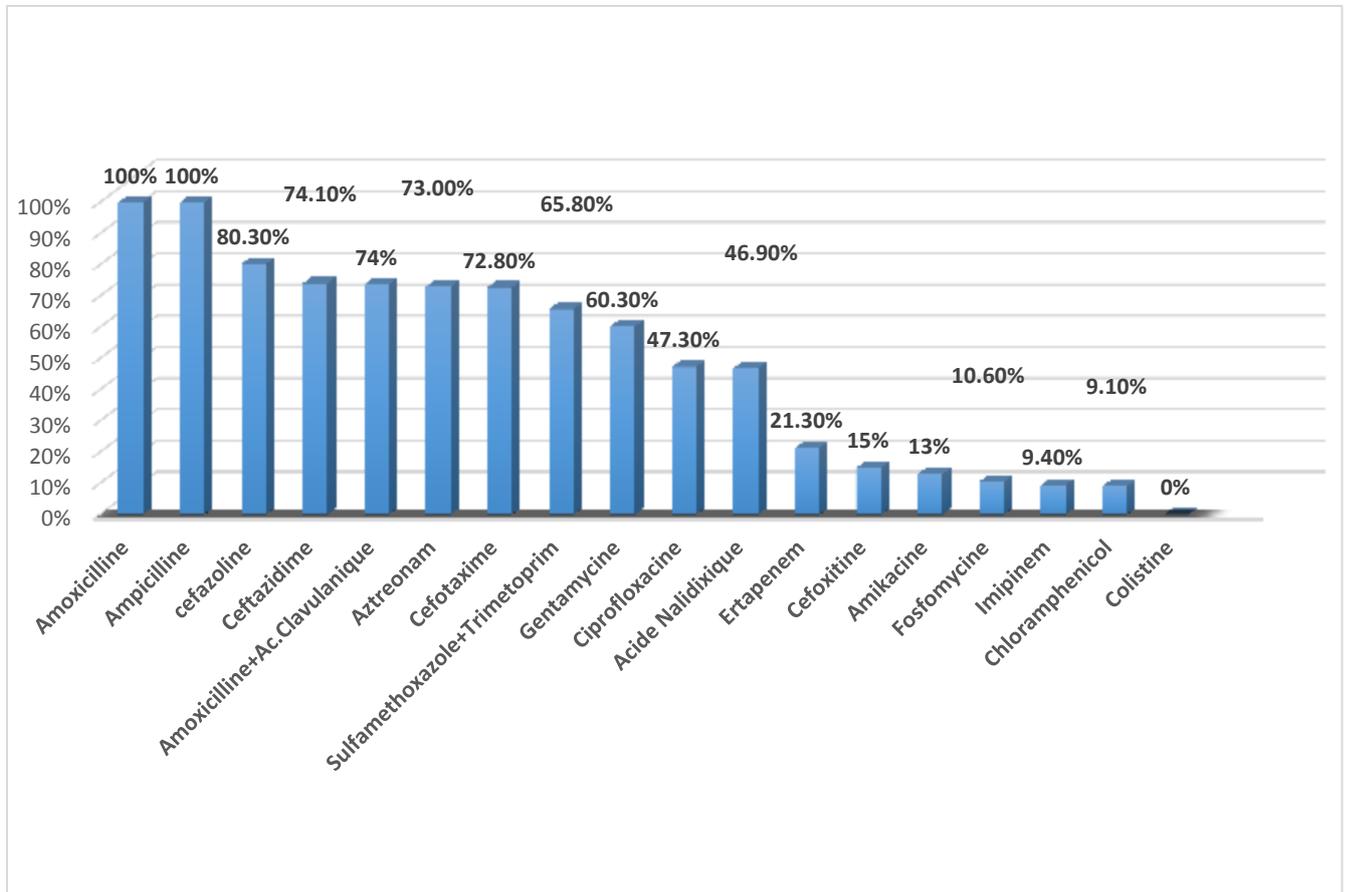


Figure 14 : Profil de résistance de *K. pneumoniae*.

### 8. Profil de résistance d'*E. cloacae*

Les souches d'*E. cloacae* étaient résistantes à la gentamycine (52.4 %) et la ciprofloxacine (52.4 %) et la céfotaxime avec un pourcentage de (95 %), alors qu'elles étaient moins résistante à l'imipénème (9.5 %). Toutes les souches testées étaient sensibles à la fosfomycine et la colistine (Tableau 15) annexe IV.

Les résultats de notre travail son proche à ce mentionnés dans les études du réseau national de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques concernant : la ciprofloxacine (36.82 %), l'amikacine (7.39 %) et l'imipénème (1.63 %) [40].

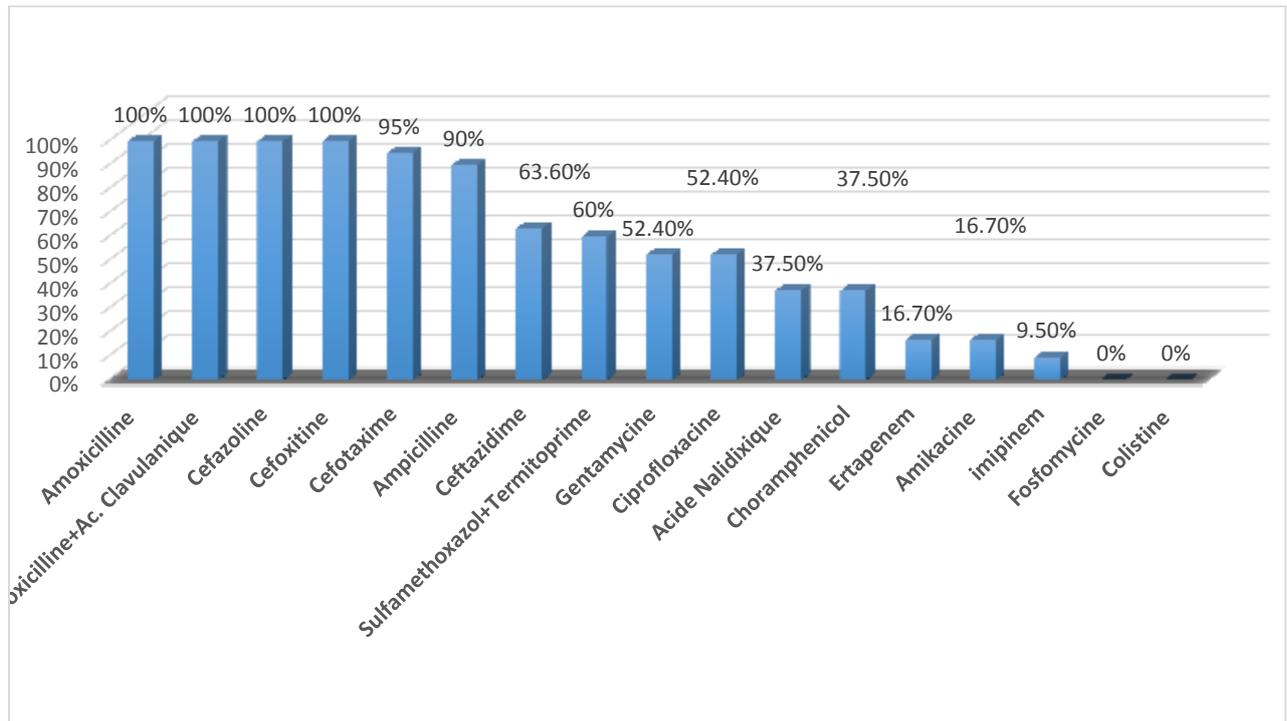


Figure 15 : Profil de résistance d'*E. cloacae*.

### 9. Profil de résistance de *Serratia spp*

L'étude de la résistance aux antibiotiques des souches de *Serratia spp* a montré que la résistance à la ciprofloxacine et l'amikacine était de (25 %). (20 %) étaient résistant aux sulfaméthoxazole+ terméthoprim, à l'imipénème et la gentamicine. Aucune résistance vis-à-vis de céfotaxime, ticarcilline, chloramphénicol n'a été retrouvé (Tableau 16) annexe IV.

Une étude faite dans la région de Sfax a montré des résultats proche de ceux de notre résultat, ces résultats étaient les suivants : pour céfotaxime (1 %), imipénème et la gentamicine (5.3 %) et en fin l'amikacine avec un pourcentage de (11 %) [39].

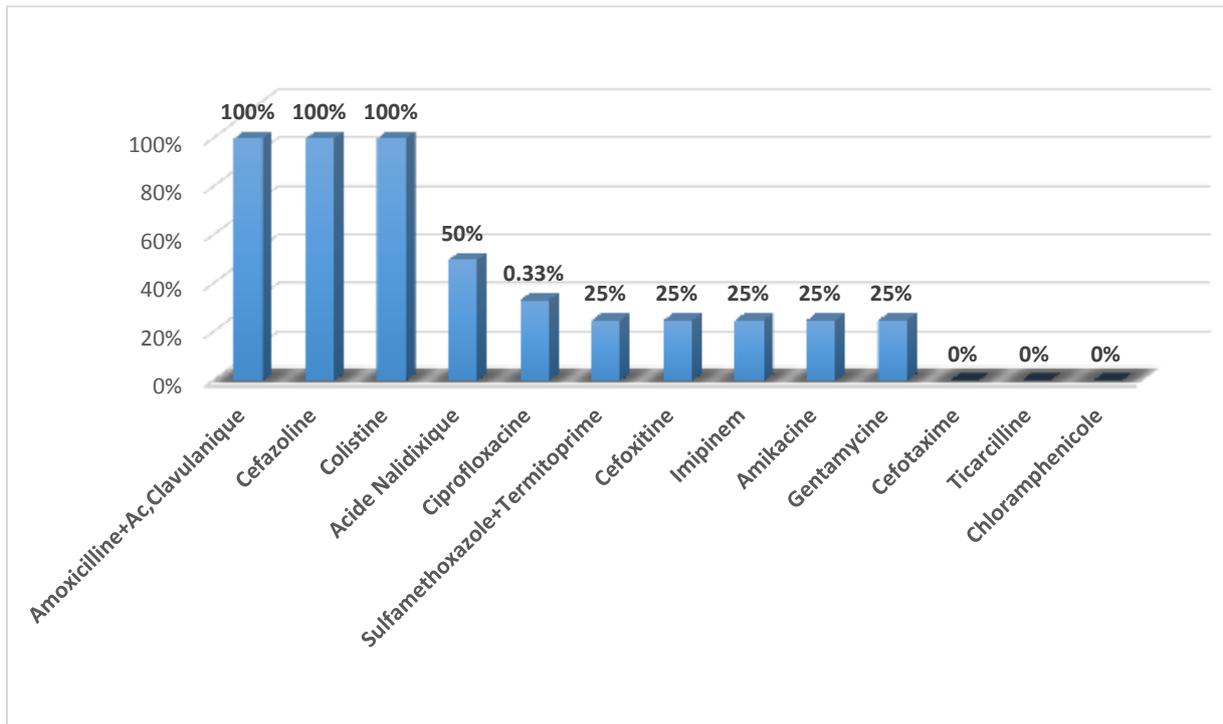


Figure 16 : Profil de résistance de *Serratia spp.*

# *Conclusion*

### Conclusion

Notre travail consiste en une étude rétrospective de 2 ans (1<sup>ère</sup> Janvier 2016 au 31 Décembre 2017) et prospective de 3 mois (1<sup>ère</sup> Janvier au 31 Mars 2018), qui a pour objectif : l'isolement des bactéries du groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* responsables des bactériémies au C.H.U de Constantine et leurs profils de résistance aux antibiotiques.

Sur l'ensemble des hémocultures réceptionnées au laboratoire, 3074 étaient positives (soit 36.42 %), parmi lesquelles 378 étaient dues aux bactéries du groupes K.E.S soit (12.29 %). Ces dernières occupent la troisième place parmi l'effectif des souches isolées dans l'hémoculture. *K. pneumoniae* est le germe le plus fréquemment isolée parmi les entérobactéries (7.1 %) suivi par *E. coli* (6.4 %), de loin par *E. cloacae* (1 %) et *Proteus spp* (0.9 %), et *Serratia* (0.5 %), *M. morganii* (0.2 %).

Au sein du groupes K.E.S, on note une légère prédominance masculine (52.6 %), et le sexe féminin (47.4 %), avec un sexe ratio de (1.1), elles sont provenaient essentiellement des services de réanimation (48.1 %), et de médecine (26.7 %).

En plus de leurs résistances naturelles à certains antibiotiques comme par exemple : à l'ampicilline et pour certaines à la céphalosporine de 1<sup>ère</sup> génération, les bactéries du groupe K.E.S ont acquis des résistances très élevées à plusieurs antibiotiques. Les souches de *K. pneumoniae* de phénotype BLSE c'est-à-dire résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) montrent des taux de résistance de (72.8 %) et de (74.1 %) vis-à-vis céfotaxime et ceftazidime respectivement et sont également résistantes à d'autres familles d'antibiotiques telles que les aminosides (gentamicine 60.3 %) et les fluoroquinolones (ciprofloxacine 47.3 %).

Il en est de même pour les espèces d'*Enterobacter* qui montrent également des taux de résistances élevés : céfotaxime (95 %), ceftazidime (63.6 %), gentamicine (52.4 %) et la ciprofloxacine (52.4 %). *Serratia spp* est sensible à la céfotaxime et (20 %) des souches sont résistants à la gentamicine. La résistance aux carbapénèmes, imipénème a été observée également pour les souches de *Serratia spp* (20%), *E. cloacae* (9.5 %) et *K. pneumoniae* (9.4 %).

Cette résistance à l'imipénème est alarmante puisque les carbapénèmes sont considérés comme des antibiotiques de dernier recours pour le traitement des infections à bacilles à Gram négatif.

Cette résistance est la conséquence d'une utilisation massive des antibiotiques et réduit de façon importante les possibilités thérapeutiques.

L'application des mesures d'hygiène stricte, l'isolement des malades porteurs de bactéries multirésistant et l'utilisation rationnelle des antibiotiques sont efficaces si elles sont correctement appliquées.

*Référence et  
bibliographique*

- [1] **Derbali, B. et Tiaouinine, M.** (2016). Profil épidémiologique des septicémies nosocomiales au CHUC et à L'HMC 2014-2016. Mémoire de Master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri, 2-6-13-14-38 p.
- [2] **M. Sékou Koné.** (2010). Bilan de sept (7) ans d'hémoculture en milieu hospitalier pédiatrique de Bamako. Thèse de Doctorat : pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat). Mali : Université de Bamako, 2-6 p.
- [3] **Benmedakhen, A. et Benzine, N E H. et Gharbi, T E.** (2016). Les bactéries responsables de bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistance aux antibiotiques. Obtention du diplôme de docteur en Pharmacie. Constantine : Faculté de médecine département de Pharmacie. 3-4-5-43-44 p.
- [4] **Pebret, F.** (2003). Maladies infectieuses, toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales. Paris, 48-49 p.
- [6] **Diop, R.** (2004). Sepsis, sepsis sévère et choc septique. Thèse de doctorat en médecine. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 12-13 p.
- [7] **Dembele, NA.** (2008). Etude des septicémies au cours du SIDA en milieu hospitalier de Bamako. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bamako. Mali.
- [8] **Boukerouaz, A. et Benmehidi, R.** (2017). Profil bactériologique des bactériémies à bacilles Gram négatif. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme en master : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des frères Mentouri de Constantine, 4-7 p.
- [10] **M. El Bouderkoui** (2015). Bactériémie en réanimation, Epidémiologie, traitement et évolution. Thèse : pour l'obtention du doctorat en médecine. Marrakech : Université Cadi Ayyad, 34-35-36-48 P.
- [11] **Labidii, A.** (2015). Etude fréquentielle des bactéries responsables des infections septicémiques chez les enfants dans la région d'Annaba. Thèse de doctorat : Microbiologie appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar, 29-78 p.
- [12] **Freney, J.** Précis de bactériologie clinique. 2<sup>ème</sup> édition- ESKA.

[13] **M. Vincent Langeron** (2010). Validation du système automatisé Bact/Alert 3D pour la détection des contaminations microbiologiques des milieux de culture de cellules épithéliales. Thèse pour l'obtention de grade de docteur en médecine. Lyon : Université Claude Bernard. 43-44 p.

[14] **J. Grosjean, D. Clavé, M. Archambaud, C. Pasquier** (2011). Bactériologie et virologie pratique. 2<sup>e</sup> édition révisée. Paris : Groupe de Boeck. 12 p.

[15] **Lazoul, K. et Rabhi, I.** (2014). Etudes des mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques dans la région de Touggourt. Mémoire de Master académique : Microbiologie appliquée. Ouargla : Université KASDI MERBAH, de 11 à 13 et de 15 à 23 p.

[16] **Oussadi, M. et Bounneche, M.** (2010). Isolement et identification des souches du groupes KES au CHU de Constantine et mise en évidence la résistance aux antibiotiques. Diplôme de Master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri, 2 P.

[18] **Brahimi, L.** (2013). Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires (Place de la Fosfomycine et de la Nitrofurantoin). Thèse de doctorat en pharmacie : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V, 43 P.

[19] **S. Habi.** Etude de la Métallo-résistance et de l'halo-tolérance des entérobactéries isolées des eaux de surface de la région de Sétif. Thèse pour l'obtention du diplôme de docteur d'état : Microbiologie. Sétif : Université de Ferhat Abbas, 9 p.

[20] **Fenneche, A. Daha, I.** (2011). Isolement et identification des bactéries du groupe K.E.S à la clinique rénale de Daksi, Constantine. Diplôme de Master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des microorganismes. Constantine : Université Frères Mentouri, 2 p.

[22] **Khayar, Y.** (2011). Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'Amoxicilline – acide Clavulanique imipenème et Ertapenem. Thèse de doctorat : Pharmacie. RABAT : Université Mohammed V, 15 p.

[23] **Mendaci, A. et Mihoubi, S.** (2015). Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries Uropathogènes (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella Pneumoniae*). Mémoire de master : Microbiologie Générale et biologie Moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri, 23-25-26-27-28-29p.

- [24] **Sougakoff, W. et Trystam, D.** (2003). Résistances aux  $\beta$ -lactamines. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de médecine Pitie-Salpetrière, 26-27-40-41-55-56 p.
- [25] **Guessoum, R. Yakhlef, I.** (2017). Isolement et étude de *Klebsiella sp* et *Proteus sp* bactéries uréolytiques impliquées dans les infections urinaires. Diplôme de Master : Microbiologies générale et Biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 10-09 p.
- [26] **Souna, D.** (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbes. Mémoire du Magister en Biologie : Biochimie appliquée. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid. 7 p.
- [27] **Sekhri- Arafa, N.** (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologique de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis Constantine. Thèse de doctorat : pour l'obtention du Grade de Docteur en Sciences. Lieu de soutenance : Constantine, Université de Constantine, 21-23 p.
- [28] **Khennochi, N.** (2016). Evaluation de l'antibiorésistance de genre *Enterobacter* aux antibiotiques. Thèse de doctorat : Microbiologie Appliquée. Annaba : Badji Mokhtar, 6p.
- [29] **Boudjemaa, D N S.** (2015). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae*. Diplôme de doctorat : Microbiologie. Tlemcen. Algérie : Université Aboubekr Belkaid, 25 p.
- [30] **Abdel, H. et Bouaoudj, A.** (2012). Isolement et identification des souches d'entérobactéries et mise en évidence de leur résistance aux antibiotiques au niveau de l'hôpital de Mila. Mémoire master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université Mentouri Constantine, 5-8 p.
- [31] **Amier, A.** (2009). Isolement et identification des souches de *Serratia marcescens* productrice de BLSE. Mémoire master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université Mentouri Constantine, 2-3-6 p.
- [32] **Jason, T.** (2017). Apport de l'antibiofilmogramme et de la mesure de capacité de formation du biofilm dans la prise en charge des infections ostéo-articulaires à *Staphylocoque*. Thèse de doctorat : Microbiologie. Lyon : Université Claude Bernard Lyon 1, 58 p.

[33] **Sedrati, A.** (2014). Etude de l'antibiorésistance des souches bactériennes à l'origine des infections infantiles à l'EPH d'Ouargla. Mémoire Master académique : Microbiologie appliquée. Ouargla : Université Kasdi Merbah, 16-17-28-29 p.

[34] **Batah, R.** (2016). Identification et profil de résistance de *Serratia marcescens* aux antibiotiques. Thèse de doctorat : Microbiologie appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar, 17 p.

[35] **Di Martino, P. et Sirot, D. et Joly, A. et 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.

[36] **Derafa, C.** Travaux pratique systématique bactérienne. Microbiologie. Sétif : Université Ferhat Abbas, 6-14 p.

[37] Réseau Algérien de la Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques : Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (Médecine humaine et vétérinaire). Document édité avec la collection de l'OMS. 6<sup>ème</sup> édition, (2011).

[38] **Hassoun, S. et Nani, S. et Ouahadous, M.** (1994). Incidence des bactériémies nosocomiales dans les services à haute risque du CHU de Casablanca – Maroc.

[39] **Z. Benjemaa et F. Mahjoubi et Y. ben Haj H'mida et N. Hammami et M. Ben Ayed et A., Hammami.** (1998). Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux Antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax. Reçu le 13 Janvier 2003 : accepté le 25 avril 2003. 28-88. 84 p.

[40] Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques : réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques AARN.

[41] **Khenouchi, R. Hamlaoui, N. Beghidja, H.** (2013). Les bactéries isolées au centre des brûlés de CHU de Constantine : résistance aux antibiotiques. Thèse pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie.

[42] **S.Y. Anagonou, S. Akpona, R. Josse, A. Massougbdji, B.C. Sadeler.** (1990). Les isolements de bactéries dans les hémocultures au laboratoire de bactériologie du C.N.H.U.-Cotounu (1987-1990). 615 p.

## Liste des Références Bibliographiques

---

[43] **Paquin, C.** (2016). Antibiogramme direct sur flacon d'hémoculture positif : mise au point et intérêt en thérapeutique. Diplôme d'études spécialisées de biologie médicale. Université de Rouen UFR de médecine et de pharmacie. 59 p.

[44] **Ben Haj Khalifa, A et Khedher, M.** (2010). Epidémiologie des souches de *Klebsiella spp.* Uropathogène production de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien. Pathologie Biologie 60(2012).

[45] **Bergey's manuel 2012.**

[5] [univ.ency-education.com >uploadas>inf.](http://univ.ency-education.com/uploads/inf)

[9] [https://www.Passeport sante.net > fiche.](https://www.Passeport sante.net > fiche)

[17] [microcsb.net/IMG/pdf/doc-62.pdf](http://microcsb.net/IMG/pdf/doc-62.pdf)

[21] [www.medicl-actu.com](http://www.medicl-actu.com)

\* : [www.microbiologie-medicale.fr](http://www.microbiologie-medicale.fr)

° : Versa TREK Brochure- Thermo Fisher Scientific.  
[https://tools.thermofisher.com>brochures.](https://tools.thermofisher.com>brochures)

# *Annexe*

**I. Milieux des cultures :****01. Milieu gélose au chocolat :**

- Peptone tryptique de caséine .....	7.5g
- Peptone pepsique de viande.....	7.5g
- Amidon de maïs.....	1g
- Hydrogénophosphate de potassium.....	4g
- Dihydrogénophosphate de potassium.....	1g
- NaCl.....	5g
- Hémoglobine.....	10
- Agar.....	15g

pH=7.2

**02. Gélose Hektoen :**

- Protéose peptone .....	12.0g
- Extrait de levure.....	3.0g
- Lactose.....	12.0g
- Saccharose.....	12.0g
- Salicine.....	2.0g
- Citrate de fer III et d'ammonium.....	1.5g
- Sel biliaire.....	9.0g
- Fuchsine acide.....	0.1g
- Bleu de bromothymol.....	0.065g
- Chlorure de sodium.....	5.0g
- Thiosulfate de sodium.....	5.0g
- Agar.....	13.0g

pH=7.5

**03. Gélose de Chapman :**

- Peptones.....	10.0g
- Extrait de viande de bœuf.....	1.0g
- Chlorure de sodium.....	75.0g
- Mannitol.....	10.0g
- Rouge de phénol.....	0.025g
- Agar.....	15.0g

**04. Milieu TSI**

- Peptones de caséine.....	15g.
- Peptones de viande.....	05g.
- Extraits de viande.....	03g.
- Extrait de levure.....	03g.
- Chlorure de sodium.....	05g.
- Lactose.....	10g.
- Saccharose.....	10g.
- Glucose.....	01g.
- Citrate de fer III et d'ammonium.....	0,5g.
- Thiosulfate de sodium.....	0,5g.
- Rouge de phénol.....	0,024g.
- Agar.....	12g.

pH = 7,4

**05. Milieu mannitol de mobilité**

- Hydrolysats tryptique de caséine.....	10.0g
- Mannitol.....	7.5g
- Rouge de phénol.....	0.4g
- Nitrate de potassium.....	1.0g
- Agar.....	3.5g

pH=7.5

**06. Milieu de citrate de Simmons**

- Citrate de sodium .....	1.0g
- Bleu de bromothymol .....	0.08g
- Chlorure de sodium .....	5.0g
- Sulfate de magnésium.....	0.2g
- Hydrogénophosphate d'ammonium.....	1.0g
- Agar .....	15.0g

pH=7.1

**07. Milieux urée-Indole**

- Urée.....2.0g
- L-tryptophane.....0.3g
- KHPO4.....0.1g
- KH2PO4.....0.1g
- NaCl.....0.5g
- Alcool à 95C°.....1.0ml
- Rouge de phénol à 1%.....0.25g
- Eau distillé.....100ml

pH=7

**08. Gélose Mueller-Hinton**

- Infusion de la viande de bœuf.....300ml.
- Peptone de caséine.....17,5 g.
- Amidon de maïs.....1,5g.
- Agar.....17g.

pH = 7,4

**II. La liste des antibiotiques testés :**

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DR. BENBADIS CONSTANTINE  
 SERVICE DE MICROBIOLOGIE – PR.K. BENLABED – Poste : 20 – 94

N° : \_\_\_\_\_/

## ANTIBIOGRAMME - ENTEROBACTERIE

Nom.....Prénom.....Age.....

Nature du Prélèvement.....Service :.....

Diagnostic Bactériologique :.....

AMOXICILLINE			GENTAMYCINE		
AMOXICILLINE + AC.CLAVULANIQUE			KANAMYCINE		
TICARCILLINE			TOBRAMYCINE		
PIPERACILLINE			NETILMYCINE		
CEFAZOLINE			AMIKACINE		
CEFOXITINE			ACIDE NALIDIXIQUE		
CEFOTAXIME			PEFLOXACINE		
CEFTAZIDIME			CIPROFLOXACINE		
CEFEPIME			SULFAMETHOXAZOLE + TRIMETOPRIM		
AZTREONAM			COLISTINE		
ERTAPENEM			CHLORAMPHENICOL		
IMIPINEM			NITROFURANTOINE		
FOSFOMYCINE					
TETRACYCLINE					

S = SENSIBLE

I = INTERMEDIAIRE

R = RESISTANT

Constantine le,.....  
 Le Chef d'Unité,

### III. Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries :

**Table de lecture 1 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries.**

Antibiotiques Médicaments	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	5-13	14-16	2-17	2-32	16	6-8	La réponse à l'ampicilline est variable pour l' <i>Enterococcus</i>
Aminocyclitol -Ac. clavulonique	20/10µg	5-13	14-17	2-18	2-32/16	16/8	6-8	Les biotests des céphalosporines et de l'actinomycine ont été revus en fonction des propriétés PK/PD et des données cliniques. Après l'application de ces biotests, les points de coupure de sensibilité pour les céphalosporines, l'actinomycine (20 µg) et le ceftriaxone (30 µg) ont été modifiés (13 µg pour les 0h).
Céfazolin	30µg	5-19	20-22	2-23	2-8	4	6-2	Suite à la révision des biotests des céphalosporines, la valeur critique pour le ceftriaxone a été revue. La valeur critique pour le ceftriaxone est de 4 µg/ml. La valeur critique pour le ceftriaxone est de 4 µg/ml.
Céfuroxime	30µg	5-14	15-17	2-18	2-32	16	6-8	Suite à la révision des biotests des céphalosporines, la valeur critique pour le cefuroxime a été revue. La valeur critique pour le cefuroxime est de 16 µg/ml.
Colistine	30µg	5-14	15-17	2-18	2-32	16	6-8	A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSSE garde tout son intérêt, car les études épidémiologiques et les biotests moléculaires (par exemple PCR) sont utilisés pour le traitement des infections non conjuguées.
Colistine	30µg	5-22	23-25	2-29	2-4	2	5-1	Pour obtenir les résultats des céphalosporines orales quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non conjuguées du tractus urinaire, le test de la colistine est utilisé à côté de la colistine.
Ceftriaxone (infections non complicées du tractus urinaire)	30µg	5-14	—	2-15	2-32	—	5-16	Les résultats de la ceftriaxone permettent de prédire les résultats pour les céphalosporines orales - cefixime, cefprozil, cefprozil, cefprozil, cefprozil et cefprozil quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non conjuguées du tractus urinaire dues à <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>P. aeruginosa</i> . Ceftriaxone, ceftriaxone et ceftriaxone ont été ajoutés aux biotests individuellement car certains souches peuvent être sensibles à ces antibiotiques alors qu'ils sont résistants à la ceftriaxone.
Ceftriaxone	30µg	5-17	18-20	2-21	2-16	8	5-4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1 g toutes les 8h.
Adaptation	30µg	5-17	18-20	2-21	2-16	8	5-4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1 g toutes les 8h.
Imipénem	10µg	5-19	20-22	2-23	2-4	2	5-1	Les biotests des carbapénèmes ont été revus en fonction des propriétés PK/PD et des données cliniques. La valeur critique pour le biotest de l'imipénem a été revue. La valeur critique pour le biotest de l'imipénem est de 2 µg/ml.
Értapénem	10µg	5-18	19-21	2-22	2-2	1	5-0,5	La sélectivité phénotypique d'une carbapénème par le test BMT est réservée aux études épidémiologiques pour les infections compliquées.
Amoxicilline	30µg	5-14	15-16	2-17	2-64	32	5-16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est observée chez les souches isolées de tractus urinaires extra-hospitaliers en milieu hospitalier.
Gentamicine	10µg	5-12	13-14	2-15	2-10	8	5-4	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est observée chez les souches isolées de tractus urinaires extra-hospitaliers en milieu hospitalier.
Acide nalidixique	30µg	5-13	14-16	2-19	2-32	—	5-16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est observée chez les souches isolées de tractus urinaires extra-hospitaliers en milieu hospitalier.
Carbapénem	5µg	5-15	16-20	2-21	2-4	2	5-1	Visible pour les infections autres que les infections du tractus urinaire.
Chloramphénicol	30µg	5-12	13-17	2-18	2-32	16	5-8	N'a pas été revu pour les souches isolées d'UTI sauf pour les souches de <i>Enterococcus</i> . Visible pour <i>S. Typhi</i> et <i>S. Dysenteriae</i> spp. extra-hospitaliers.
Colistine**	CMI	—	—	—	2-2	—	6-2	Visible pour les infections autres que les infections du tractus urinaire.
Fosfomycine	300µg	5-14	15-16	2-17	2-128	64	5-32	Visible uniquement pour les souches d'UTI isolées d'infections urinaires. La valeur de 300µg correspond à la posologie de 300µg.
Fosfomycine	200µg	5-12	13-15	2-19	2-256	128	5-64	Visible uniquement pour les souches d'UTI isolées d'infections urinaires. La valeur de 200µg correspond à la posologie de 200µg.
Tenidipolone*	1,2µg	5-10	11-15	2-16	2-4/16	—	5-2/8	Visible uniquement pour les souches d'UTI isolées d'infections urinaires. La valeur de 1,2µg correspond à la posologie de 1,2µg.
Sulfaméthoxazole	23/15µg	5-10	11-15	2-16	2-4/16	—	5-2/8	Visible uniquement pour les souches d'UTI isolées d'infections urinaires. La valeur de 23/15µg correspond à la posologie de 23/15µg.

\* Tableau extrait du Document M100 - 52K, Vol. 34, n°1, 2014. Performance standard de l'antibiogramme par diffusion en milieu solide.  
 \*\* Extraits des recommandations 2014 de l'Association Française de Radiobiologie et de Chimie des Antibiogrammes.

## IV. Résultats

Tableau 08 : Fréquences des hémocultures positives.

Culture	Nombre	Pourcentage
Culture positive	3074	36.42%
Culture négative	5255	62.26%
Culture contaminée	106	1.26%
Total	8440	100%

Tableau 09 : Répartition des hémocultures positives en fonction du sexe.

Sexe	Nombre	Pourcentage
Masculin	1664	54.13%
Féminin	1410	45.87%
Total	3074	100%

Tableau 10 : Répartition des hémocultures positives en fonction des secteurs d'activités.

	Service	Nombres	Pourcentage
Service de réanimation (46.9%)	Réanimation des brulés	787	25.6%
	Réanimation	655	21.3%
Service de médecine (30.6%)	Infectiologies	468	15.2%
	Neurologie	100	3.3%
	Hématologie	168	5.5%
	Gastrologie	107	3.5%
	Médecine interne	94	3.1%
Service de chirurgie	Urgence chirurgicale	56	1.8%
Pédiatrie		169	5.5%
Nurseries		56	1.8%
Autres		414	13.5%
Total		3074	100%

Tableau 11 : Fréquences des germes isolés.

Le groupe	L'espèce	Le nombre de cas isolés	La fréquence
Cocci à Gram positif 1903(57.3%)	SCN	1259	37.9%
	<i>S. aureus</i>	415	12.5%
	<i>Streptococcus spp</i>	98	3%
	<i>Enterococcus spp</i>	131	3.9%
Entérobactéries 592(17.8%)	<i>K. pneumoniae</i>	238	7.1%
	<i>K. oxytoca</i>	24	0.7%
	<i>Enterobacter spp</i>	63	2%
	<i>Proteus spp</i>	30	0.9%
	<i>M. morganii</i>	6	0.2%
	<i>E. cloacae</i>	35	1%
	<i>Serratia spp</i>	18	0.5%
BGN non fermentaires 448 (13.4%)	<i>P. aeruginosa</i>	124	3.7%
	<i>A. baumannii</i>	324	9.7%
Autres bactéries		284	8.5%
Levures		59	1.8%
Total		3322	100%

Tableau12 : Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction du sexe.

Genre \ Sexe	<i>K. pneumoniae</i>		<i>E. cloacae</i>		<i>Serratia spp</i>	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Masculin	123	51.7%	20	57.1%	10	56%
Féminin	115	48.3%	15	42.9%	8	44%
Total	238	100%	35	100%	18	100%

**Tableau 13 :** Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K.E.S en fonction de secteur d'activité.

Services		Genre	<i>Klebsiella spp</i>		<i>Enterobacter spp</i>		<i>Serratia spp</i>	
			Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Service de réanimation	Réanimation médicale		83	31.7%	23	23.5%	3	16.7%
	Réanimation des brulés		45	17.2%	28	28.6%	0	0%
Service de médecine	Infectiologie		25	9.5%	7	7.1%	0	0%
	Hématologie		18	6.9%	4	4.1%	0	0%
	Gastrologie		14	5.3%	9	9.2%	11	61.1%
	Neurologie		7	2.7%	5	5.1%	1	5.6%
Service de chirurgie	Urgence chirurgicale		4	1.5%	0	0%	0	0%
Pédiatrie			9	3.4%	5	5.1%	3	16.7%
Nurserie			23	8.8%	3	3.1%	0	0%
Autres services			34	13%	15	15.3%	0	0%
Total			262	100%	98	100%	18	100%

**Tableau 14 :** Profil de résistance de *K. pneumoniae*.

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de souches résistant	Pourcentage de résistance
Ampicilline	52	52	100%
Amoxicilline +Ac.Clavulanique	122	90	73.8%
Céfazoline	127	102	80.3%
Céfoxitine	127	19	15%
Céfotaxime	114	83	72.8%
Céftazidime	54	40	74.1%

Aztréonam	37	27	73%
Imipénème	127	12	9.4%
Ertapenem	61	13	21.3%
Amikacine	77	10	13%
Gentamycine	126	76	60.3%
Acide Nalidixique	64	30	46.9%
Ciprofloxacine	110	52	47.3%
Chloramphénicol	44	4	9.1%
Colistine	73	0	0%
Fosfomycine	47	5	10.6%
Sulfamethoxazole+Trimethoprim	73	48	65.8%
Amoxicilline	64	64	100%

Tableau 15 : Profil de résistance d'*E. cloacae*

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de souches résistant	Pourcentage de résistance
Ampicilline	10	9	90%
Amoxicilline +Ac. Clavulanique	20	20	100%
Céfazoline	20	20	100%
Céfoxitine	20	20	100%
Céfotaxime	20	19	95%
Céftazidime	11	7	63.6%
Imipénème	21	2	9.5%
Ertapenem	12	2	16.7%
Amikacine	12	2	16.7%
Gentamycine	21	11	52.4%
Acide Nalidixique	8	3	37.5%
Ciprofloxacine	21	11	52.4%
Chloramphénicol	8	3	37.5%
Colistine	10	0	0%
Fosfomycine	9	0	0%

Sulfamethoxazole+Trimethoprim	20	12	60%
Amoxicilline	10	10	100%

**Tableau 16** : Profil de résistance de *Serratia spp.*

<b>Antibiotiques</b>	<b>Nombre de souches testées</b>	<b>Nombre des souches résistantes</b>	<b>Pourcentage de résistance</b>
Amoxicilline+ Ac. Clavulanique	5	5	100%
Céfazoline	5	5	100%
Céfoxitine	5	2	40%
Céfotaxime	4	0	0%
Imipénème	5	1	20%
Amikacine	4	1	25%
Gentamycine	5	1	20%
Acide Nalidixique	5	2	40%
Ciprofloxacine	4	1	25%
Chloramphénicol	2	0	0%
Colistine	4	4	100%
Sulfathométhoxazole+Terméthoprim	5	1	20%

**LES BACTÉRIES DU GROUPE *KLEBSIELLA*, *ENTEROBACTER*, *SERRATIA*  
RESPONSABLES DES BACTÉRIÉMIES AUX C.H.U DE CONSTANTINE ET  
LEURS PROFILS DE RÉSISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES.**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en : Ecologie Microbienne

**Résumé :**

Les bactériémies sont des affections graves responsables d'un taux élevé d'une morbidité et d'une mortalité significatives dans le monde, ces affections constituent une urgence diagnostique et thérapeutique. Il s'agit d'une étude rétrospective de deux ans (du 1<sup>er</sup> Janvier 2016 ou 31 Décembre 2017) et prospective de 3 mois (1<sup>er</sup> Janvier au 31 Mars 2018), au niveau du centre Hospitalo-Universitaire de Constantine. La collecte des données s'est faite à partir des registres archivés d'hémoculture.

Sur un total de 8440 hémocultures réalisés 3074 étaient positives soit 36.42 %, le sexe masculin est le plus exposé à la bactériémie. Les hémocultures isolées proviennent des différents services et particulièrement du service de réanimation (46.9 %), et celui de médecine (30.6 %).

Les germes isolés des hémocultures montrent parmi les entérobactéries une prédominance du *K. pneumoniae* (7.1 %) et suivi par *E. coli* (6.4 %) et *E. cloacae* (1 %). Les espèces de *Serratia* sont rarement isolées représentent que (0.5 %).

Au sein du groupe K.E.S, on note une légère prédominance masculine avec un sexe ratio de 1.1. Elles sont prédominance dans le service de réanimation (48.1 %).

Au cours des dernières années, la résistance des entérobactéries aux antibiotiques (les trois principaux familles :  $\beta$ -lactamines, aminosides et les quinolones) a été à une hauteur constante, ceci pose un grand problème pour le diagnostic et le traitement des malades.

La résistance de *K. pneumoniae* au C3G est plus importante, les résultats comme suit : céfotaxime (72.8 %) et au ceftazidime (74.1%), elle est également résistante au d'autres familles tel que la ciprofloxacine (47.3 %) et la gentamicine (60.3 %), (9.1 %) des souches carbapénèmes.

Pour *E. cloacae* ont une résistance très élevée vis-à-vis la céfotaxime (95 %), ceftazidime (63.6 %), pour la gentamicine (52.4 %) et (52.4 %) sont résistantes à la ciprofloxacine. (9.5 %) sont résistants à l'imipénème.

Les souches de *Serratia spp* sont moins résistantes à la gentamicine (20 %), alors que 100 % sont résistantes à la colistine, et 20 % sont résistantes à l'imipénème.

**Mots clés :** Bactériémie, Hémoculture, groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, Résistances aux antibiotiques.

**Laboratoire de recherche :** le laboratoire de microbiologie du C.H.U BENBADIS de Constantine

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** OULMI Lamia (Maître de conférence - UFM Constantine),  
**Rapporteur :** LAOUAR Houcine (Professeur - UFM Constantine),  
**Examineur :** BOUZERAIB Latifa (Grade - UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 18/06/2016