



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

مكروبيولوجي:

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

LES BACTÉRIÉMIES AU SERVICE DES BRULÉS CHU CONSTANTINE

Présenté et soutenu par : SLIMANI INES

Le : 24/06/2019

TAOUTAOU IMEN

Jury d'évaluation :

Président: OULMI Lamia (Maître de conférences « B » - UFM Constantine).

Rapporteur: ALATOU Radia (Maître de conférences « A » - UFM Constantine).

Examineur: BOUCHLOUKH Warda (Maître assistant « A » - UFM Constantine).

Année universitaire
2018 – 2019



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

مكروبيولوجيا :

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

LES BACTÉRIÉMIES AU SERVICE DES BRULÉS CHU CONSTANTINE

Présenté et soutenu par : SLIMANI INES

Le : 24/06/2019

TAOUTAOU IMEN

Jury d'évaluation :

Président: OULMI Lamia (Maître de conférences « B » - UFM Constantine).

Rapporteur: ALATOU Radia (Maître de conférences « A » - UFM Constantine).

Examineur: BOUCHLOUKH Warda (Maître assistant « A » - UFM Constantine).

Année universitaire

2018 – 2019

Remerciements

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et notre grande gratitude à notre encadreur Mme **R. Alatou** pour sa disponibilité, sa confiance et sa patience et pour les précieuses informations qu'elle nous a prodigué avec intérêt et compréhension. Qu'elle*

trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité

*Nous tenons à gratifier aussi Mme **L. Oulmi**, pour l'intérêt qu'elle a porté à notre recherche en acceptant de présider le jury de ce mémoire. Nous lui sommes très reconnaissantes, Ses qualités scientifiques, pédagogiques et surtout humaines seront pour*

nous un exemple à suivre dans l'exercice de notre profession

*Nous adressons également nos vifs remerciements à M^{elle} **W. Bouchloukh** pour avoir bien voulu examiner ce travail. Nous lui avons toujours admiré ses qualités professionnelles ainsi que sa compétence et sa disponibilité.*

Nous remercions également l'équipe du laboratoire de microbiologie du CHU de Constantine

*et particulièrement «**Fatima Zohra** » pour son accueil et sa contribution dans ce travail.*

Enfin, nous dressons nos sentiments de gratitude et de reconnaissance à toute personne ayant

Contribuée de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Les bactériémies sont des affections graves responsables d'un taux élevé d'une morbidité et d'une mortalité significative dans le monde, ces affections constituent une urgence au niveau du diagnostic et à l'échelle thérapeutique. Notre étude prospective a été réalisée au niveau du centre Hospitalo-Universitaire de Constantine¹. La collecte des données s'est effectuée à partir des registres archivés d'hémoculture au CHU de Constantine. L'identification bactérienne a été faite par les méthodes conventionnelles. Les isolats sont identifiés selon les méthodes bactériologiques classiques et l'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion selon les recommandations du Clinical and laboratory standards institute (CLSI). Sur 69 échantillons d'hémocultures, 65,02% étaient positives tandis que les hémocultures négatives représentaient 31,9 %. Le sexe masculin est le plus exposé à la bactériémie avec un pourcentage de 62,2 % comparé au sexe féminin qui représente un pourcentage de 37,8%. Parmi les principaux germes incriminés, nous avons remarqué l'abondance de *Staphylocoque à coagulase négative* 33,9%, suivit d'*Acinetobacter baumannii* 16,9%, de *Klebsiella pneumoniae* 11,9%, *Staphylococcus aureus* 13,6% et *Pseudomonas spp* 8,5%. Nous rapportons une fréquence élevée de résistance aux antibiotiques testés notamment vis-à-vis de certains genres. Une multi-résistance : *Acinetobacter* (Ceftazidime : 100%, Gentamicine 87,5 %), une résistance absolue de *Klebsiella pneumoniae* à la Ticarciline et la Céfotaxime. Une résistance importante de *Staphylococcus aureus* à la Pénicilline 100 % et à l'Oxacilline (Méticilline) avec un pourcentage de 77,9 %. L'émergence de ces souches multi-résistantes nécessite une vigilance avec une application rigoureuse des mesures d'hygiène et une surveillance épidémiologique qui s'avèrent absolument indispensable à l'échelle de l'unité des brûlés et de l'hôpital, afin de mieux guider l'antibiothérapie probabiliste.

Mots clés: bactériémies, hémoculture, antibiogramme, brûlés, infection, résistance aux antibiotiques.

Abstract

Bacteremia are serious affections responsible of a high rate of significant morbidity and mortality in the world. These affections are an emergency in diagnosis and therapy. Our prospective study has been done at the hospital of Constantine City. Data were collected from hemoculture (Blood culture) archived register. Bacterial identification has been done by conventional methods. Isolates are identified according to classic bacteriological methods and the antibiogram is realized by the diffusion method according to the recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). On 69 sample of blood culture, 65.02% were positives, while negatives blood cultures represented 31.9%. The male is the most exposed to bacteremia with a rate of 62.2 %, compared to the women, which represents a rate of 37.8 %. Among the main, offending germs, we reported abundance of *Staphylococcus aureus* with negative coagulase 33.9%, then *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas spp* with a rate of 16.9%, 11.9%, 13.6%, 8.5% respectively. A high frequency of antibiotics resistance testing against some genus is reported. A multi-résistance concerning *Acinetobacter* (Ceftazidim: 100%, Gentamicin: 87.5 %), total resistance of *Klebsiella pneumoniae* to Ticarcilin and Cefotaxim. Important resistance of *Staphylococcus aureus* to Penicillin 100 % and Oxacillin (Methicillin) with a rate of 77.9 %. In order to better to guide probabilistic antibiotherapy, the emergence of multi-resistance strains requires vigilance with rigorous application of hygiene measures and epidemiological surveillance that is absolutely essential at the level of the born unit and the hospital.

Key words: bacteraemia, blood culture, susceptibility, burn, infection, antibiotics resistance.

ملخص

ان بكتيريا الدم هي حالة خطيرة مسؤولة عن ارتفاع معدل الإصابة بالأمراض والوفيات بشكل كبير في جميع أنحاء العالم هذه الحالات هي حالة طارئة على مستوى التشخيص وعلى المستوى العلاجي. وقد أجريت دراستنا في مركز مستشفى جامعة قسنطينة¹. يستند على جمع البيانات من سجلات الارشيف لزراعة الدم المحفوظة على مستوى المستشفى الجامعي قسنطينة¹. تم تحديد البكتيريا عن طريق الطرق التقليدية. يتم تحديد المعزولات وفقاً للطرق البكتريولوجية المعيارية ويتم إجراء المضاد الحيوي بواسطة طريقة الانتشار وفقاً ل CLSI. من بين 69 عينة دموية مزروعة، كانت نسبة (65.02%) إيجابية، في حين بلغت نسبة العينات الدموية المزروعة السلبية (31.9%)، وكان الذكر هو الأكثر تعرضاً للبكتيريا بمعدل 62.2% مقارنة بـ (37.3%) للإناث، (8%) من الجراثيم الرئيسية التي تم تشخيصها وجدنا وفرة *Staphylococcus coagulase négative* (33.9%)، متبوعاً بـ *Acinetobacter baumannii* بنسبة (16,9%)، *Klebsiella pneumoniae* بنسبة (11,9%)، *Staphylococcus aureus* بنسبة (13,6%) و أخيراً *Pseudomonas spp* بنسبة (8.5%). لقد لاحظنا ارتفاع وتيرة مقاومة المضادات الحيوية التي تم اختبارها خاصة فيما يتعلق بأنواع معينة كالتالي: (السيفنازيديم : 100%، جنتاميسين 87.5%): *Acinetobacter baumannii*، مقاومة تامة *Klebsiella pneumoniae* بالنسبة للستيكارسيلينوسيفوتاكسيم، مقاومة كبيرة من قبل *Staphylococcus aureus* بالنسبة للبنيسلين 100%. يتطلب ظهور هذه السلالات المتعددة المقاومة، اليقظة مع تطبيق صارم لتدابير النظافة والمراقبة الوبائية أمر ضروري للغاية على مستوى وحدة الحروق والمستشفى، لتحقيق أفضل توجيه للعلاج بالمضادات الحيوية المحتملة.

لكلمات المفتاحية: تجرثم الدم ، ثقافة الدم ، اختبار الحساسية ، الحروق ، مقاومة المضادات الحيوية.

Liste des figures

Figure01 : Coupe histologique de la peau normale.....	4
Figure02 : Brûlure thermique par retour de flamme.....	5
Figure03 : Brûlure électrique au niveau du l'index.....	5
Figure04 : Brûlure chimiques.....	6
Figure05 : profondeur des brûlures.....	7
Figure 06 : Automate (A)Bact/Alert 3D et Automate (B) VersaTREK utilisé au laboratoire.....	9
Figure 07 : Fréquences des hémocultures positives.....	26
Figure 08 : Répartition des hémocultures positives en fonctions du sexe.....	27
Figure09 :Répartition des hémocultures selon l'agent causal.....	29
Figure 10 : Fréquences des germes isolés.....	28
Figure 11 : Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K. P.S.E.S en fonction du sexe.....	30
Figure 12 : Profil de résistance de Staphylocoque à coagulase négative aux antibiotiques.....	31
Figure 13 : Profil de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques.....	32
Figure 14 : Profil de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux antibiotiques.....	33
Figure 15 : Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques.....	34
Figure 16 : Profil de résistance d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques.....	35

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les principaux germes isolés.....	14
Tableau02 : les précautions standards à respecter lors de soins à tout patient.....	16

Liste des Abréviations

CLIN : Comité de Lutte Contre les Infections Nosocomiales.

BGN : Bactérie a Gram Négatif.

-lactamine : Bêta-lactamine.

BLSE : Bêta-Lactamase à Spectre Elargie.

UFC : Unité Formants Colonies.

CHUC : Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine.

HMC : Hôpital Militaire de Constantine.

C3G : Céphalosporines de Troisième génération.

TSI : Triple Sugar Iron.

CMI : Concentration Minimale D'inhibition.

BGNNF : Bacilles à Gram Négatif Non Fermentaires.

BNF : Bacilles non fermenté

Table des matières

Liste des figures	i
Liste des tableaux	i
Liste des abréviations	ii
Résumé	
ABSTRACT	
Introduction.....	1

Synthèses bibliographique

I. Anatomie sur la peau humaine	2
1. Définition	2
2. Histologie	2
2.1 L'épiderme	2
2.2 Le derme	2
2.3 L'hypoderme.....	2
II. La brûlure.....	3
1. Définition.....	3
2. Étiologie	3
2.1 Brûlure thermique	3
2.2 Brûlure électrique	4
2.3 Brûlure chimique	4
3. Les différentes classes de brûlures	5
4. Facteur de gravité	6
III. Bactériémie.....	6
1. Définition	6
2. La nature de la bactériémie	6
2.1 Bactériémie primaire	6
2.2 Bactériémie secondaire	6
2.3 Pseudo bactériémie	6
2.4 Bactériémie nosocomiale	6
3. Les différents types de bactériémie.....	7

3.1 La bactériémie transitoire	7
3.2 La bactériémie intermittente	7
3.3 La bactériémie continue	7
4. Distinction entre bactériémie et septicémie	7
5. Physiopathologie de l'infection chez le brûlé.....	8
5.1 Contamination endogène du brûlé	8
5.2 Contamination exogène du brûlé	9
5.3 Infection non invasive et infection invasive	11
5.4 Conséquence de l'infection	11
6. Principaux germes isolés	12
7. Prévention et traitement	13
7.1 Prévention des infections chez les brûlés	14
7.2 L'antibiothérapie curative	14

Matériel et méthodes

1 Matériel.....	16
1.1. Cadre et durée de l'étude	16
1.2. Echantillon étudié	16
1.3. Recueil des données	16
1.4. Critères d'inclusion	16
2 Méthode de travail.....	16
2.1 Réception.....	16
2.2 Les prélèvements	17
2.3 Modalité.....	17
2.4 Isolement des bactéries.....	17
2.4.1 Examen macroscopique des flacons d'hémocultures.....	17
2.4.1.1 Système manuel.....	17
2.4.1.2 Système automatisé	18
2.4.2 Repiquage et isolement des flacons positifs	18
2.4.2.1 La culture.....	19
2.4.2.2 Examen microscopique.....	19
2.5 Identification biochimique	21
2.5.1 Préparation de la suspension bactérienne.....	21
2.6 Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	22

2.6.1 Inoculum.....	22
2.6.2 Ensemencement.....	22
2.6.3 L'application des disques d'antibiotiques	23
2.6.4 La Lecture	23

Résultats et discussion

1. Fréquences des hémocultures positives	24
2. Répartition des hémocultures positives en fonction du sexe.....	25
3. Répartition globale des souches selon l'agent causal.....	25
4. Fréquence des germes isolés.....	26
5. Fréquence d'isolement des bactéries du groupe <i>K. pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>E. coli</i> , SCN en fonction du sexe.....	27
6. Profile de résistances des bactéries isolées aux antibiotiques	29
6.1 Profile de résistance de Staphylocoque à coagulase négative aux antibiotique.....	92
6.2 Profil de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques	30
6.3 Profil de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux antibiotiques	31
6.4 Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques	33
6.5 Profil de résistance d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques	33
Conclusion	35
Références bibliographiques	37
Annexes	I

Introduction

La brûlure entraîne la destruction de la peau qui représente une barrière naturelle protégeant l'organisme contre les agressions mécaniques, chimiques, physiques et microbiennes.

À sa prise en charge initiale, il n'existe pas de malade plus propre qu'un brûlé. On utilise souvent à ce propos l'expression « stérilisé par le feu », [1]. La plaie est rapidement colonisée après 48 heures par les bactéries Gram positives présentes sur la peau principalement *Staphylococcus aureus*. Après 72 heures, la plaie se voit coloniser par des bactéries Gram négative tel que : *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* [2].

La brûlure est grave lorsqu'elle engage le pronostic fonctionnel et/ou vital par son étendue, sa profondeur, sa topographie, les circonstances de survenue et l'agent vulnérant. L'infection chez les brûlés est donc la complication majeure après la période initiale de choc. Elle engendre surcoût, prolongement du séjour hospitalier, surcharge de travail favorisant l'infection nosocomiale qui est responsable de plus de 75 % de mortalité [3] (décès après le 5^{ème} jour).

La bactériémie est définie par la présence dans le sang des bactéries viables. Elle peut être transitoire, asymptomatique, ou, au contraire s'accompagner de manifestations cliniques majeures. Elle se traduit le plus souvent par une infection localisée, parfois une infection endo-vasculaire, elle continue d'être une importante cause de morbidité et de mortalité, en dépit de la disponibilité des agents antimicrobiens puissants et de moyens de diagnostique sophistiqués [4].

La fréquence de certains germes par rapport à d'autres chez les patients dépend de la flore bactérienne normale résidente du malade, de la durée d'hospitalisation, et du site de prélèvement [2]. Les germes identifiés comme responsables de l'infection chez les patients atteints de brûlure appartiennent aux BNF (*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*), aux cocci à Gram positif (surtout *Staphylococcus aureus*) et aux entérobactéries (comme *Klebsiella pneumoniae*) [5, 6, 7].

Il s'agit d'un travail prospectif réalisé pendant tout le mois de février 2019 au sein du service de microbiologie du CHU Constantine. Notre étude s'est intéressée à l'identification des microorganismes incriminés dans l'infection chez les brûlés, suivit de la détermination du profil de résistances aux antibiotiques des souches identifiées.

Synthèse
bibliographique

I Anatomie de la peau humaine

1 Définition

La peau peut être considérée comme un organe à part entière. C'est même le plus étendu de l'organisme (plus 2m² chez l'adulte) et le plus lourd du corps humain, il représente 15% du poids adulte et recouvre tout le corps et se prolonge au niveau des orifices naturels par les muqueuses (nasale, anales, buccales etc....), ainsi communique l'intérieur du corps avec l'extérieur [7].

2 Histologie

La peau est constituée de trois couches superposées : l'épiderme ou couche cornée, le derme ou tissu conjonctif, l'hypoderme ou tissu graisseux comme c'est illustré dans la figure 1[3].

2.1 L'épiderme

Elle constitue la couche épithéliale de surface en contact avec l'environnement extérieur, constitué essentiellement de kératinocytes (90 %) mais aussi de mélanocytes et de cellule de Langerhans (responsables du rejet de greffe) [8].

2.2 Le derme

C'est une couche intermédiaire de tissu conjonctif, il est essentiellement fibreux. Il est constitué d'un réseau dense, de collagène, élastine et réticuline. Ses cellules principales sont les fibroblastes qui synthétisent les protéines de structure. Il contient également des vaisseaux lymphatiques et des terminaisons nerveuses[3].

2.3 L'hypoderme

Couche la plus profonde, est constitué de tissu conjonctif lâche et différencié et répond au tissu graisseux sous-cutané, il est vascularisé et innervé [7].

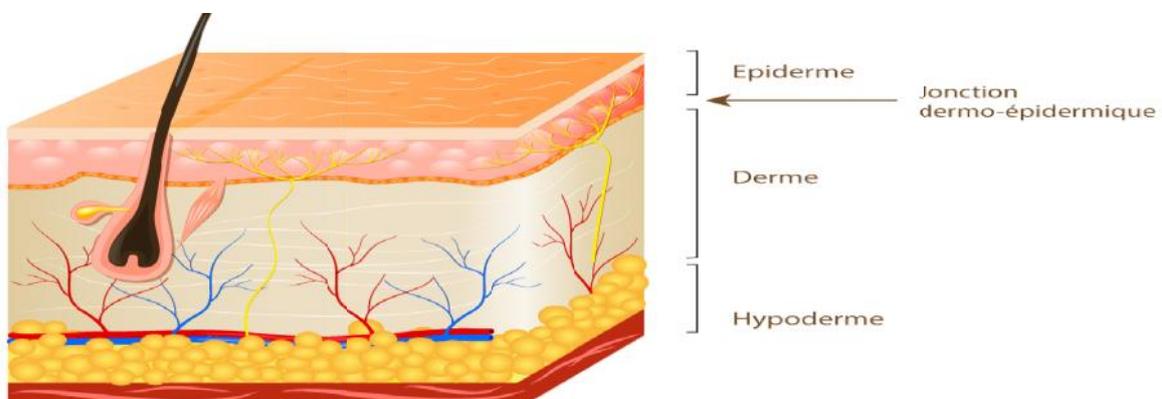


Figure01 : Coupe histologique de la peau normale [8].

II. La brûlure

1 Définition

Une brûlure est la destruction traumatique de la peau et des tissu sous-jacents provoquée par leur exposition a une chaleur intense, ou par leur contacte avec un agent chimique ou bien physique.

➤ Causes

Les brûlures peuvent êtres causé par des liquides bouillants, des solides chaud ou en combustion, des agents chimiques (acides, bases, phosphore), de l'électricité ou des agents radioactifs (rayon X).

2 Ethnologie

Il existe plusieurs types de brûlures

2.1 Thermiques

La brûlure thermique est causée par le contact de la peau avec un agent chaud solide ou liquide, dont la température dépasse les 60 degré Celsius pendant un temps d'exposition de plusieurs secondes. Les agents solides entraînent des lésions limitées et profondes, alors que les agents liquides entraînent des lésions étendues dont la profondeur dépend du point d'ébullition et de la viscosité du liquide concerné [2].



Figure02 : Brûlure thermique par retour de flamme [9].

2.2 Electriques

L'électrisation, ou électro-traumatisme, est un accident lié au passage d'un courant électrique dans l'organisme. Elle représente environ 8 % des causes de brûlures. Dans près de 80 % des cas, l'électrisation s'associe à des brûlures cutanées. La gravité de la brûlure est fonction de l'intensité et de la tension du courant ainsi que de sa localisation et du temps de contact. Les brûlures électriques entraînent une brûlure au point de contact dit point d'entrée mais aussi tout le long du trajet que la décharge électrique va suivre dans le corps et au niveau du point de sortie. Les points d'entrée et de sortie du courant sont souvent des brûlures du troisième degré à type de plaques noires, sèches, de petites dimensions [2].



Figure03 : Brûlure électrique au niveau du l'index [9].

2.3 Chimiques

Elles représentent environ 2 % des brûlures. Les brûlures chimiques sont causées par des acides ou des bases. La gravité de la brûlure est corrélée aux propriétés chimiques du produit, à sa concentration et au temps de contact.

Les brûlures chimiques se limitent aux zones de contact avec la peau. La réaction chimique, notamment d'oxydation, entraîne un dégagement de chaleur, ce qui rajoute une composante thermique à la brûlure chimique. Les brûlures causées par les bases (d'emblée profondes, évolutives, plus graves) sont responsables de nécroses par liquéfaction ce qui favorise sa pénétration en profondeur jusqu'à ce qu'elles soient neutralisées ou éliminées. Les brûlures par acides entraînent typiquement une nécrose, créant une barrière qui limite sa progression en profondeur. Elles sont moins dévastatrices que les brûlures par les bases [9].



Figure04 : Brûlure chimiques [9].

3 Les différentes classes de brûlures

Selon leur étendue, on distingue les brûlures dites bénignes (touchant moins de 15% de la surface du corps), des brûlures graves (touchants de 15% à 60% de la même surface), des brûlures au-dessus des ressources thérapeutiques actuelles, touchant plus de 60% de la surface corporelle .

Les brûlures sont également classés en fonction de leur profondeur.

- **Brûlures du premier degré** : affecte la parties superficielle de l'épiderme. Elle est caractérisée par la présence de trois signes de l'inflammation (rougeur, chaleur, douleur) .
- **Brûlures du deuxième degré** : Le deuxième degré est une destruction de l'épiderme avec possible atteinte de la membrane basale .
- **Brûlures du troisième degré** : destruction de la totalité de la peau (épiderme et derme) .

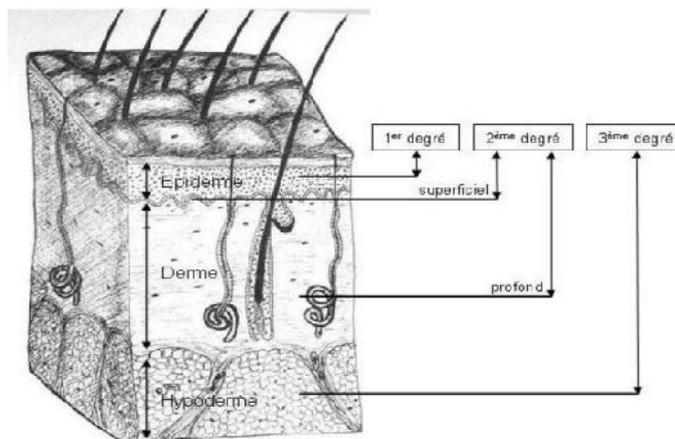


Figure05 : profondeur des brûlures [10].

Le tissu est cartonné et épaissi. La cicatrisation spontanée est impossible. La guérison ne peut être obtenue que par une greffe dermo-épidermique précédée d'une excision des nécroses [11].

4 Facteur de gravité

L'évaluation de la gravité de la brûlure est nécessaire pour l'orientation des brûlés, la prise en charge thérapeutique et l'estimation du pronostic de survie face à une brûlure, il convient de mettre en évidence lors du diagnostic :

- la surface ou l'étendue de la brûlure, la profondeur de la brûlure, la localisation de la brûlure, l'âge du sujet brûlé, l'agent vulnérant, le terrain de la brûlure [12].

III Bactériémie

1 Définition

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 [13].

2 La nature de la bactériémie

2.1 Bactériémie primaire Le germe pathogène isolé dans l'hémoculture n'est pas impliqué dans l'infection d'un autre site [14].

2.2 Bactériémie secondaire Le micro-organisme isolé dans l'hémoculture est déjà impliqué dans l'infection d'un autre site de l'organisme [14].

2.3 Pseudo bactériémie Présence d'une hémoculture positive pour un ou plusieurs germes mais dont la croissance ne reflète pas la réalité clinique: contamination [14].

2.4 Bactériémie nosocomiale Survient 48h après l'hospitalisation [14].

3 Les différents types de bactériémie

La bactériémie peut être transitoire, intermittente ou continue : [15].

3.1 La bactériémie transitoire

Est une décharge de microorganismes quelques minutes à quelques heures, survenant après irritation d'une muqueuse colonisée par une flore microbienne ou manipulation de tissus infectés. Elle peut être spontanée ou provoquée par des gestes invasifs [13].

3.2 La bactériémie intermittente

Est retrouvée dans les infections à Bacilles Gram négatif. Elle survient, disparaît puis revient avec le même germe. Elle est classiquement associée à une infection cloisonnée, non ou mal drainée [13].

3.3 La Bactériémie continue

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'endocardie 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 [13].

4 Distinction entre bactériémie et septicémie

L'utilisation du terme de 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 [16].

Dans notre étude on utilisera le terme bactériémie.

5 Physiopathologie de l'infection chez le brûlé

A sa prise en charge initiale, il n'existe pas de malade plus propre qu'un brûlé. On utilise souvent à ce propos l'expression « stérilisé par le feu », la brûlure ne sera, en effet, pas colonisée avant 6 à 24 heures. Cette colonisation progressive va alors s'adapter aux

différentes thérapeutiques instaurées faisant de ce malade un patient dangereux pour son entourage car porteur de germes de plus en plus résistants.

Ces épisodes infectieux sont quasi inévitables chez les sujets gravement brûlés et sont liés à une rupture d'équilibre entre une colonisation trop importante et l'état d'un malade aggravé par une déficience immunitaire, des infections nosocomiales, des gestes chirurgicaux répétés, une carence nutritionnelle ou par l'apport brutal de germes extérieurs par des gestes invasifs[3].

5.1 Contamination endogène du brûlé

Les sources de contamination endogène ont plusieurs voies :

L'oropharynx

Il abrite notamment le streptocoque bêta-hémolytique pouvant contaminer la brûlure très précocement (dans les 2 à 3 jours après la brûlure), entraînant une cellulite cutanée ou plus tardivement au moment de l'épidermisation avec infection des zones greffée conduisant à une lyse de la greffe [3].

La peau

La peau représente également une source de contamination possible par le staphylocoque. En effet, la contamination par *Staphylococcus aureus* est la plus redoutable, la plus fréquente et la plus précoce après le staphylocoque coagulase négative, longtemps considérée comme d'origine exogène, elle ne l'est en effet que dans 60% des cas environ. La contamination par *Staphylococcus epidermidis* est également possible. Cependant, elle est moins fréquente et représente moins d'un tiers des infections à staphylocoque.

En profondeur, la peau est porteuse au niveau des glandes sudoripares et des bulbes pileux de germes pathogènes notamment de Pyocyaniques. A partir de ces gîtes, les bactéries se propagent vers la superficie mais aussi parfois vers les tissus sains sous-jacents[3].

Les fèces

Avec notamment les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*), le streptocoque D (entérocoque) et les pyocyaniques[3].

L'intestin

Le rôle de l'intestin dans la contamination endogène des brûlures est probable. Le passage des germes et des endotoxines a été démontré expérimentalement dans la brûlure chez le rat, ce sont surtout les bactéries à Gram négatif qui franchissent la barrière intestinale (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*,) et qui passent dans les circulations portales et lymphatiques : c'est la translocation bactérienne.

Ces translocations bactériennes intestinales ont deux conséquences possibles : au stade initial de la brûlure, elles interviennent pour une bonne part dans les phénomènes de choc qui peuvent accompagner les brûlures étendues. Par la suite, elles peuvent être à l'origine d'infections à distance notamment de la brûlure et du poumon.

Le seul traitement préventif dont l'efficacité a été démontrée est la nutrition entérale précoce. Les translocations bactériennes intestinales peuvent déclencher dans les brûlures graves une cascade d'évènements pouvant aboutir rapidement à des défaillances polyviscérales mortelles avant qu'un germe quelconque puisse être identifié [3].

Sur le plan local, les causes de l'invasion microbienne sont de plusieurs ordres mais sont essentiellement liées au déficit cutané. La perte d'une barrière cutanée efficace, liée à une nécrose locale rapidement exsudative, entraîne localement un terrain plus que favorable au développement bactérien. La brûlure crée une dénaturation protéique qui fournit un milieu de culture idéal à la prolifération bactérienne.

La diminution de l'immunité locale contribuant au développement *in situ* des micro-organismes, la nécrose locale, les thromboses vasculaires réduisant l'oxygénation tissulaire et les échanges cellulaires sont autant de facteurs qui, *in situ* vont altérer temporairement les défenses locales. La fonction des neutrophiles et des macrophages locaux est altérée: diminution de la phagocytose, de la bactéricidie et altération du chimiotactisme. Le pH local est également altéré favorisant la prolifération bactérienne [3].

5.2 Contamination exogène du brûlé

La contamination exogène est liée aux matériels présents dans le service, les locaux mais aussi et avant tout au personnel. Dans un centre de brûlés espace clos, cette contamination peut rapidement prendre un aspect épidémique qu'il faut détecter avant d'en reconnaître la cause. Il s'agit de contaminations croisées qui peuvent se produire par les mains (des malades ou du personnel soignant), par l'eau (hydrothérapie, répétition des

bains nébuliseurs, robinet...) par voie aérienne (poussières, courant d'air, ventilateurs...) ou par voie sanguine (cathéters par exemple) [3].

Les bactéries les plus souvent incriminées sont de nature nosocomiale :

Staphylococcus aureus

A transmission essentiellement manu portée, le *S. aureus* produit des enzymes qui digèrent la matrice extracellulaire essentielle à la cicatrisation de la plaie. Il peut également sécréter des toxines pouvant entraîner un syndrome de choc toxique chez les patients brûlés[3].

Pseudomonas aeruginosa

Transmis par contact, par voie aérienne ou par ingestion. Il est caractérisé par sa tardivité (isolé 10 à 15 jours après la brûlure). Néanmoins, certaines colonisations précoces ne sont pas exclues. Ce germe est souvent virulent avec une atteinte cutanée en profondeur et une large diffusion sanguine. C'est la plus fréquente des bactéries à Gram négatif contaminant la brûlure[3].

Acinetobacter baumannii

Apparu comme une nouvelle menace pour la population brûlée. Il est caractérisé pour sa capacité d'acquérir et d'accumuler les facteurs de résistance ainsi qu'un fort potentiel épidémique intra-hospitalier. C'est une bactérie ubiquitaire, elle diffuse dans l'environnement à partir des individus infectés ou des porteurs sains (la transmission par les mains est la plus fréquente). L'isolement de *A. baumannii* chez le patient brûlé se fait tardivement, il est favorisé par le prolongement du séjour hospitalier et est à l'origine de la complication de la prise charge [3].

Entérobactéries

En effet, leur mode de transmission paraît aussi bien endogène qu'exogène[3].

Streptocoque D (entérocoque)

Transmis surtout par voie fécale et plus rarement par certains matériels. Ces infections exogènes transmises en milieu hospitalier sont souvent dues à des souches multi-

résistantes. Le risque infectieux est d'autant plus grand que le patient est gravement atteint et que la durée d'hospitalisation est plus longue . Toute antibiothérapie à large spectre favorisera la sélection des bactéries résistantes. C'est l'un de ces germes colonisant qui sera secondairement infectant[3].

5.3 Infection non invasive et infection invasive

Les bactéries qui ont contaminé les zones brûlées vont se multiplier à la superficie de l'escarre et dans l'exsudat .

Cette colonisation microbienne peut rester limitée à la brûlure seule, accélérant la détersion grâce aux enzymes protéolytiques sécrétées par les bactéries : l'infection est dite alors non invasive. Des signes généraux existent mais ils sont habituellement modérés et les hémocultures demeurent négatives.

En revanche, l'infection est dite invasive lorsqu'après avoir colonisé le tissu brûlé, le germe responsable envahit les couches saines sous-jacentes, le tissu de granulation est atteint et la brûlure s'approfondit par l'envahissement des petits vaisseaux qui se thromboses sous l'effet de l'infection. Cet approfondissement peut atteindre l'aponévrose musculaire et parfois s'étendre au muscle sous-jacent.

Les signes généraux sont au premier plan, avec atteinte multiviscérale mettant directement en jeu le pronostic vital. Dans ce contexte, les hémocultures sont généralement positives[3].

5.4 Conséquences de l'infection

L'infection déclarée traduit un débordement des moyens de défense de l'organisme par la virulence des germes. Celle-ci fait courir un double risque au brûlé . Un risque local (arrêt de la cicatrisation, approfondissement des lésions, échec des greffes), et un risque général (septicémies) .

L'infection locale non traitée précocement peut évoluer vers la septicémie d'où l'intérêt primordial de l'antibiothérapie locale. En effet, une brûlure infectée est à l'origine d'une septicémie dans 5% des cas si la surface brûlée est inférieure à 20% et dans 90% des cas si son étendue est supérieure à ce pourcentage .

La septicémie peut évoluer vers une septicémie sans complication qui finit par une guérison complète du malade, ou une septicémie sévère mettant en jeu le pronostic vital, avec notion de défaillance d'organe ou également un choc septique avec hypotension

persistante pouvant conduire au décès. Ces étapes sont progressives, une simple septicémie sans complication mal traitée peut tourner vers un choc septique et éventuellement conduire à la défaillance d'organes multiples et le décès [3].

6 Les principaux germes isolés

Plusieurs germes peuvent être à l'origine des bactériémies (tableau 01) [10].

Tableau01 : Les principaux germes isolés[10].

Agents causale	Genres	Espèces
Cocci à Gram positif	<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>
Cocci à Gram négatif	<i>Neisseria</i>	<i>N. meningitidis</i>
Bacilles aéro-anaérobie facultatifs à Gram négatifs	<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, E. cloacae</i> <i>S. marcescens</i> <i>P. mirabilis, P. vulgaris</i> <i>P. stuartii</i> <i>M. morganii</i> <i>Y. pestis</i> <i>H. influenzae</i>
B G N aérobies stricts	<i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>A. baumannii</i>
Bacilles aérobies à Gram positifs anaérobie facultatifs	<i>Listeria</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Bacilles anaérobies à Gram négatifs	<i>Bactéroides</i>	<i>B. fragilis</i>

7 Prévention et traitement

7.1 Prévention des infections chez les brûlés

➤ Comité de lutte contre les infections nosocomiales

Dans chaque établissement hospitalier, le Comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) se charge de mettre au point un programme de maîtrise des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR), ce programme de maîtrise comporte deux volets :

- Le bon usage des antibiotiques.
- L'interruption de la transmission croisée des BMR qui repose sur :

- L'identification des réservoirs (surtout les patients porteurs infectés ou colonisés) qui doit être rapide, identification particulièrement indiquée dans les services à risque notamment celui des brûlés.

- Leur isolement prescrit par le médecin pour une période déterminée. Cet isolement est à la fois technique (port de gants, de sur blouses, de masques lors de contacts rapprochés, renforcement du lavage des mains) et géographique (chambres individuelles ou à défaut poste de lavage des mains situé à proximité du lit).

- Leur signalisation et la mise en place d'un système d'information permettant de repérer ces patients lors de leur transfert ou d'une nouvelle hospitalisation. - Et parfois la chimio-décontamination des patients porteurs. Dans certains cas où les réservoirs sont environnementaux (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp*), les mesures complémentaires à prendre relèvent du nettoyage et de la désinfection .

Toutes ces mesures sont importantes car l'impact des BMR est lourd : prescription accrue des antibiotiques les plus récents souvent onéreux, charges en soins plus importantes, forte présomption d'une incidence et d'une gravité accrues des infections nosocomiales avec prolongation des durées d'hospitalisation .

Le tableau 02 résume les précautions d'hygiène à appliquer définies par les « Centres for Disease Control and Prevention » aux Etats Unis en 1996, ces précautions standards synthétisent les mesures de précautions universelles et celles d'isolement vis-à-vis de tout produit biologique d'origine humaine [3].

Tableau02 : les précautions standards à respecter lors de soins à tout patient[3].

Lavage et ou désinfection des mains	-Après le retrait des gants entre deux patients, deux activités -Des fiches techniques doivent décrire la technique à utiliser dans chaque cas.
Port de gants (gants doivent être changés entre deux patients, deux activités)	-Si risque de contact avec du sang ou tout autre produit d'origine humaine, les muqueuses ou la peau lésée du patient notamment à l'occasion de soins à risque de piqûre (hémoculture, pose et dépose de voie veineuse, chambre implantable, prélèvements sanguins...) et lors de la manipulation de tubes de prélèvements biologiques, linge et matériel souillé. -Lors de tout soin lorsque les mains du soignant comportent des lésions.
Ports de surblouses, lunettes, masques	-Si les soins ou manipulations exposent à un risque de projection ou d'aérosolisation de sang ou tout autre produit d'origine humaine (aspiration, endoscopie, actes opératoires, autopsie, manipulation de matériel et linge souillé).
Matériel souillé	-Matériel piquant /tranchant à usage unique : ne pas décapuchonner les aiguilles, ne pas désadapter à la main, déposer immédiatement après usage ce matériel dans un conteneur adapté qui doit être disponible à proximité et dont le niveau de remplissage maximale est vérifié. -Matériel réutilisable : manipuler avec précaution le matériel souillé par du sang ou tout autre produit d'origine humaine. -Vérifier que le matériel a subi un procédé d'entretien (stérilisation ou désinfection) approprié avant d'être utilisé.
Surfaces souillées	-Nettoyer ou désinfecter avec un désinfectant approprié les surfaces souillées par des projections ou aérosolisation de sang ou tout autre produit d'origine humaine.
Transport de prélèvements biologiques de linge et de matériel souillé	-Les prélèvements biologiques le linge et instruments souillés par du sang ou tout autre produit d'origine humaine doivent être transportés dans un emballage étanche fermé.
Si contact avec du sang ou liquide biologique	-Après piqûre, blessure : lavage et antiseptie au niveau de la plaie. -Après projection sur muqueuse, conjonctivite : rinçage abondant.

7.2 L'antibiothérapie curative

Elle est prescrite en cas d'infection sévère avérée et doit être rapidement instaurée. L'attente des résultats des différents prélèvements recherchant les germes, ne doit pas retarder cette mise en route. L'antibiothérapie pourra être débutée à l'aveugle, en prenant en compte les germes les plus souvent rencontrés dans les brûlures, il est courant d'utiliser

une bi ou une trithérapie efficace contre les *staphylocoques dorés*, les *Pseudomonas* et les entérocoques.

La posologie des antibiotiques est adaptée aux données pharmacocinétiques du brûlé par diminution des concentrations sériques et tissulaires nécessitant d'augmenter les doses, augmentation du volume de distribution, diminution des protéines plasmatiques, augmentation de la filtration glomérulaire. La nature des antibiotiques doit être rapidement adaptée en fonction des résultats des prélèvements bactériologiques[8].

a) l'antibiothérapie de première intention qui est l'utilisation des antibiotiques à visée curative, sans attendre les résultats des prélèvements qui ont pu être effectués, L'objectif est de résoudre une situation infectieuse menaçante. Ce souci d'efficacité influence la décision thérapeutique, mettant au second plan les risques liés au traitement. En pratique, la précocité de la mise en route de l'antibiothérapie est un facteur de succès. Cependant, il faut prendre le temps de pratiquer les prélèvements adéquats (hémocultures notamment). La voie veineuse est recommandée ; la dose doit être suffisante, la répartition dans la journée et la posologie unitaire sont appropriées.

L'antibiothérapie de première intention est un traitement provisoire : elle doit être adaptée en fonction des données bactériologiques mais surtout en fonction de l'évolution clinique du patient. Sa durée est de 24 heures. Pour chaque infection et chaque germe, les médecins disposent d'un ou plusieurs traitements standard, dits de « première intention », fondés sur la pratique et l'expérience médicale. Ces traitements évoluent en fonction de la situation épidémiologique des maladies infectieuses [8].

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

1 Matériel

1.1 Cadre et durée de l'étude

L'étude a été réalisée au laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalo-universitaire Ibn Badis de Constantine sur une période d'un mois (du 1 février 2019 au 28 février 2019). Elle s'intéresse à l'épidémiologie et au profil de résistance des microorganismes isolés à partir de prélèvements de patients brûlés.

1.2 Echantillon étudié

Notre population d'étude est constituée de malades hospitalisés dans le centre des brûlés du CHU Constantine. Au total 69 échantillons de sang ont été réceptionnés au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU Constantine durant la période d'étude.

1.3 Recueil des données

Les données sont recueillies à partir du registre des hémocultures et des antibiogrammes des archives du laboratoire de microbiologie.

1.4 Critères d'inclusion

Nous avons inclus dans notre étude tout les échantillons de sang, provenant d'un patient hospitalisé au centre des brûlés ayant une infection certaine. Un prélèvement est considéré comme positif lorsque la culture met en évidence généralement un seul germe, plus rarement deux germes.

2 Méthode de travail

2.1 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.

La ponction du sang veineux se fait de la sorte :

- 10 ml pour l'adulte.
- Pour l'enfant et le nourrisson, ça varie selon le poids : de 2 à 5 ml.
- Pour le nouveau-né de 1 à 2 ml [17].

2.2 Les prélèvements

Les prélèvements sont reçus et vérifiés par rapport à leur conformité, avec nom, prénom du malade, accompagné d'une fiche de renseignement clinique qui 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 ensuite numérotés et enregistrés.

2.3 Modalité

Les prélèvements 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 37° C.

2.4 Isolement des bactéries

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 8^{ème} jour d'incubation. La surveillance des flacons se fait d'une façon 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 [18].

2.4.1.2 Système automatisé

Le système automatisé est basé sur l'utilisation de deux automates : **Versa TREK°** et **Bact/Alert 3D**.(Figure 06) Les flacons utilisés sont des flacons adaptés à l'incubation dans l'automate. Ils contiennent 40 ml de bouillon de culture (Annexe II) et un détecteur de CO₂. Ce système permet la détection des cultures positifs en décelant les modifications de la quantité de CO₂ par une méthode colorimétrique. Le CO₂, produit par le métabolisme des microorganismes, passe à travers la membrane de manière passive, ce qui produit une

réaction chimique acidifiant l'indicateur colorimétrique La durée d'incubation maximale dans les automates est de 5-6 jours pour la majorité des germes isolés : Si l'automate signale des flacons positifs, on réalise un repiquage sur 3 milieux de cultures différents : gélose Hektoen, milieu de Chapman, milieu Chocolat. S'il n'y a aucun signal de positivité après les 5 jours d'incubation, le résultat sera déclaré négatif définitivement et un repiquage sur les milieux n'est pas nécessaire[19].



Figure 06 : Automates :(A)Bact/Alert 3D, Automate (B) VersaTREK utilisé au laboratoire

2.4.2 Repiquage et isolement des flacons positifs

Cette étape consiste à repiquer chaque culture positive 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 Hektoen

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 biliaries ainsi qu'un indicateur de pH (le bleu de bromothymol) (Annexe I).

Milieu de Chapman

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif permettant la croissance des germes halophiles. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus* (Annexe I).

Milieu Chocolat

Milieu riche non sélectif pour l'isolement des bactéries exigeantes (Annexe I).

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 [20].

2.4.2.2 Examen microscopique

Cet 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.

Préparation de frottis

Déposer une goutte d'H₂O sur la lame, toucher une colonie à l'aide d'une pointe jaune pour prélever des bactéries, il n'est pas nécessaire de prendre beaucoup de bactéries frotter la pointe dans la goutte d'eau, laisser sécher à l'air puis Passer trois fois la lame dans la petite flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

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, puis un lavage préalable, après le solvant, on procède à une contre-coloration avec un colorant rouge, comme la fuchsine de Ziehl diluée [21].

Observation 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).
- Recouvrir 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.

2.5 Identification biochimique

2.5.1 Préparation de la suspension bactérienne

La préparation de la suspension bactérienne en un tube qui contient 1 à 2 ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension va servir à ensemer différents milieux de culture en tubes permettant ainsi de mettre en évidence différents caractères (Annexe II).

Les milieux de cultures ensemencés par la suspension préparée sont : **Milieu TSI** « Triple Sugar Iron » **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 (Annexe I).

Technique

Une colonie est ensemencée en réalisant une piqûre centrale dans le culot et des stries serrées sur la pente. Remettre le bouchon du tube sans le revisser totalement. Incubation à 30°C pendant 24 heures [20].

Milieu mannitol-mobilité

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 (Annexe I).

Technique

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

Milieu urée-indole

Principe

Le milieu urée-tryptophane appelé improprement milieu urée-indole est un milieu complexe qui fournit un ensemble de résultats utiles pour la différenciation des entérobactéries(Annexe I). Il permet de détecter :

- L'urée

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 [21].

- L'indole

L'indole est le produit de l'hydrolyse du tryptophane par une enzyme 'la tryptophanase'. Il est mis 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 d'une panoplie antibiotiques par la méthode de l'Antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton

2.6.1 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 Mac Ferland (MF) ou à une Densité Optique (D.O) de 0.08 à 0.10 lue à 625nm.
- L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

2.6.2Ensemencement

- 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.
- Refaire l'opération deux 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 Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

2.6.3 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.

Dans notre étude, 22 antibiotiques ont été testés : les β -lactamines : Pénicillines P, Oxacilline (OXA), Amoxicilline(AMX), Amoxiciline+ Acide clavulanique (AMC), Ticarcilline (TIC), Céfazoline (CZ), Céfoxitine (FOX), Céfotaxime (CTX), Céfotazidime (CAZ), Azétronam (AZT), Imipenème (IMP). Parmi les aminosides : Amikacine (AK), Gentamicine (GM), Tobramycine (TOB). Concernant les quinolones : Acide nalidixique (NA), Ciprofloxacine (CIPRO) et autres colistine (COL), Vancomycine (V), Fosfomycine(FOT), Sulfaméthoxazol+ Triméthoprime (SXT), Erythromycine (ERY), Pipéracilline (PIP), Lincomycine (L), Chloramphénicol (C), Acide fusidique (FD) et Kanamycine K.

2.6.4 La 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 Pétri fermée.
- Pour les bactéries testées sur MH au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront faits sur boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques dans le tableau de lecture. Classifier la bactérie dans l'une des Catégories Sensible (S), résistant (R) ou intermédiaire (I) [22,23](AnnexeIII).

*Résultats et
Discussions*

II. Résultats et discussions

1 Fréquences des hémocultures positives

Durant la période d'étude prospective qui s'est tenue du 1^{er} au 28 février 2019, 69 prélèvements provenant du service des brûlés du CHU de Constantine ont été réceptionnés au laboratoire de Microbiologie.

Sur un total de 45 hémocultures pratiquées. 65.2% ont été révélées positives, tandis que les hémocultures négatives représentaient 31.9%, viennent enfin les hémocultures contaminées avec seulement 2.9 % (Figure 07).

A partir des flacons signalés comme positifs par l'automate(Annexe III), nous avons réalisé un repiquage sur trois milieux de cultures différents : Gélose Chapman, Gélose Hektoen, Milieu Chocolat S'il n'y a aucun développement bactérien après cinq jours d'incubation au niveau de l'automate, le résultat sera déclaré comme négatif définitivement.

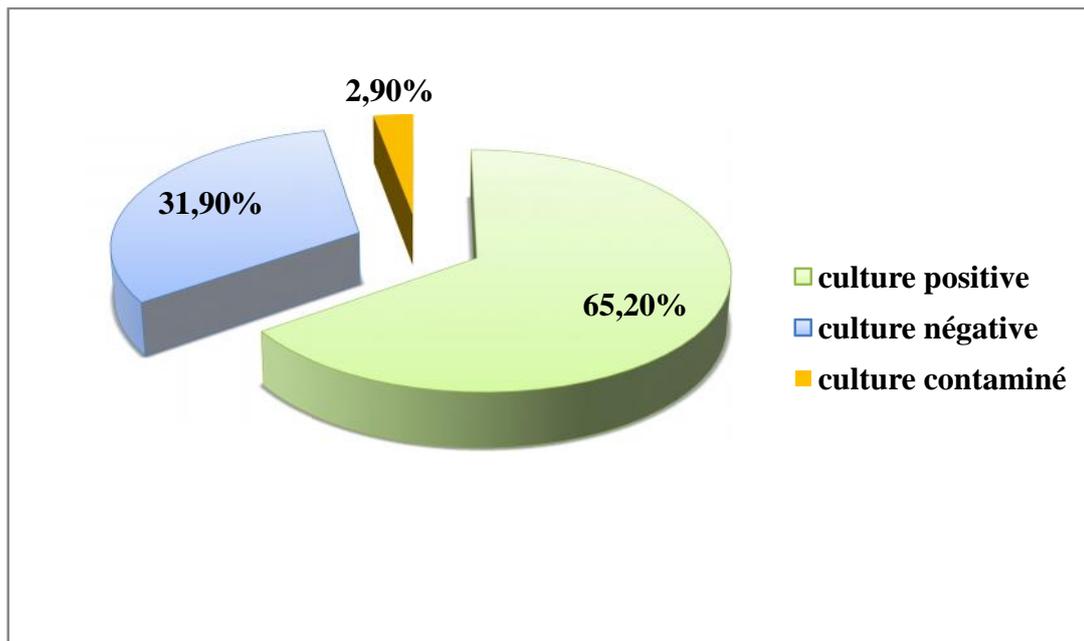


Figure 07 : Fréquences des hémocultures.

Une étude faite en 2013 dans l'unité des brûlés à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V de Rabat (HMIMV) rapporte que parmi 112 prélèvements reçus, 76.8 % étaient positifs tandis que 23.2 % étaient négatifs. Ces résultats se rapprochent de ceux de notre étude [24].

2 Répartition des hémocultures positives en fonction du sexe

D'après nos résultats, les infections au niveau du service des brûlés touchent plus la population masculine avec une fréquence de 62.2 % par rapport à la population féminine qui ne représente que 37.8 %. Ceci correspond à un sexe ratio (H/F) = 1,64(Figure 08).

Une étude menée à l'hôpital Ibn Sina de Rabat en 2012 a montré une prédominance masculine avec un sexe ratio de 1,25[25].

Par ailleurs, nous pouvons rapporter cette prédominance masculine au fait que les hommes sont plus exposés aux accidents de travail à risque dans les chantiers (Macon, électricien, soudeur etc....).

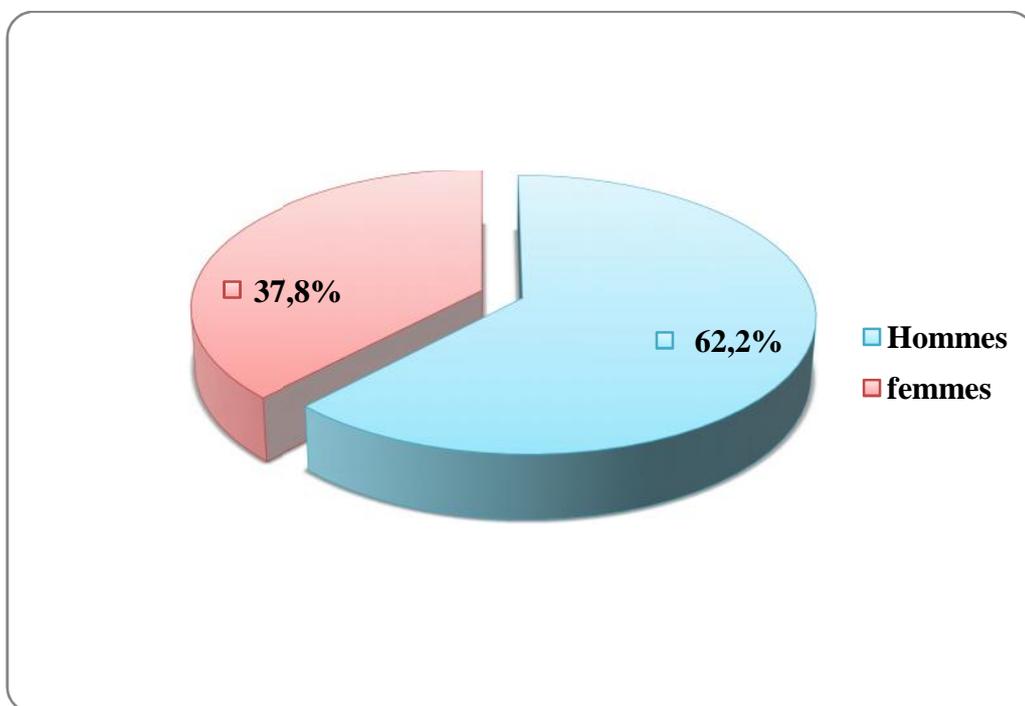


Figure 08 : Répartition des hémocultures positives en fonctions du sexe.

3 Répartition globale des souches selon l'agent causal

Les résultats de notre étude indiquent que les bactéries sont responsables des bactériémies dans 96.6% des cas, et que les levures sont représentées avec seulement 3.4%(figure 10).

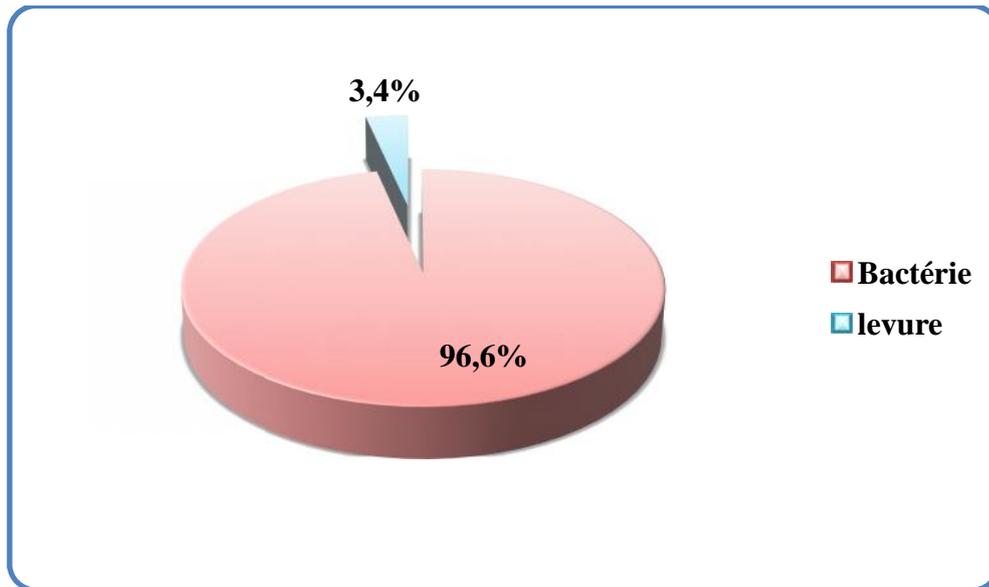


Figure 09: Répartition des hémocultures selon l'agent causal.

Dans notre étude la bactériémie est due principalement aux bactéries et rarement aux levures. Une étude multicentrique réalisée en 2017 au niveau de CHU de Constantine a démontré que les bactéries sont responsables des bactériémies avec 1045 cas 97%, et que les levures sont représentées avec seulement 3% (28 cas)[28], ces résultats se rapprochent à notre travail.

4 Fréquences des germes isolés

La fréquence des germes isolés a indiqué une prédominance des cocci à Gram positifs 57.6%, suivit des staphylocoques à coagulase négatif qui étaient également parmi les germes les plus fréquemment isolés 33.9%. *S. aureus* représentait un pourcentage de 16.9 %, les *Streptocoques spp* étaient faiblement présents 4%.

Les BGN non Fermentaires représentent 22.1% des germe isolés avec une prédominance d'*Acinetobacter spp* 13.6 % suivit de *Pseudomonas spp* 8.5 %.

Les entérobactéries représentaient 16.9% des germes avec une prédominance de *K. pneumoniae* 11.9% suivit d'*E. coli* 1.6% et d'*Enterobacterspp*, 3.4 %, Les levures représentent seulement 3.4 % de notre effectif (Figure 09).

Nos résultats sont inférieur a une étude menée au centre de réanimation et du traitement des grands brûlés à Annaba qui rapporte une abondance des staphylocoque et des *Pseudomonas* avec un taux de 58%et 20% respectivement [26].

Nos résultats sont similaires à ceux de l'étude réalisée en 2009 à l'hôpital militaire de Rabat qui rapporte une abondance des bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGNNF) 39,7 %, suivis des entérobactéries 35,7 % et des cocci 24,6 % [27].

Les levures deviennent un agent majeur de l'infection nosocomiale, surtout chez les sujets sensibles comme le brûlé. Cette constatation est retrouvée dans toute la littérature mondiale comme par exemple les études de Salou *et al.*, en 2014, de Baudat *et al.*, en 2005 et de Séko Koné en 2009 rapportant des pourcentages proches: 1 %, 6 %, 0.1 % respectivement.

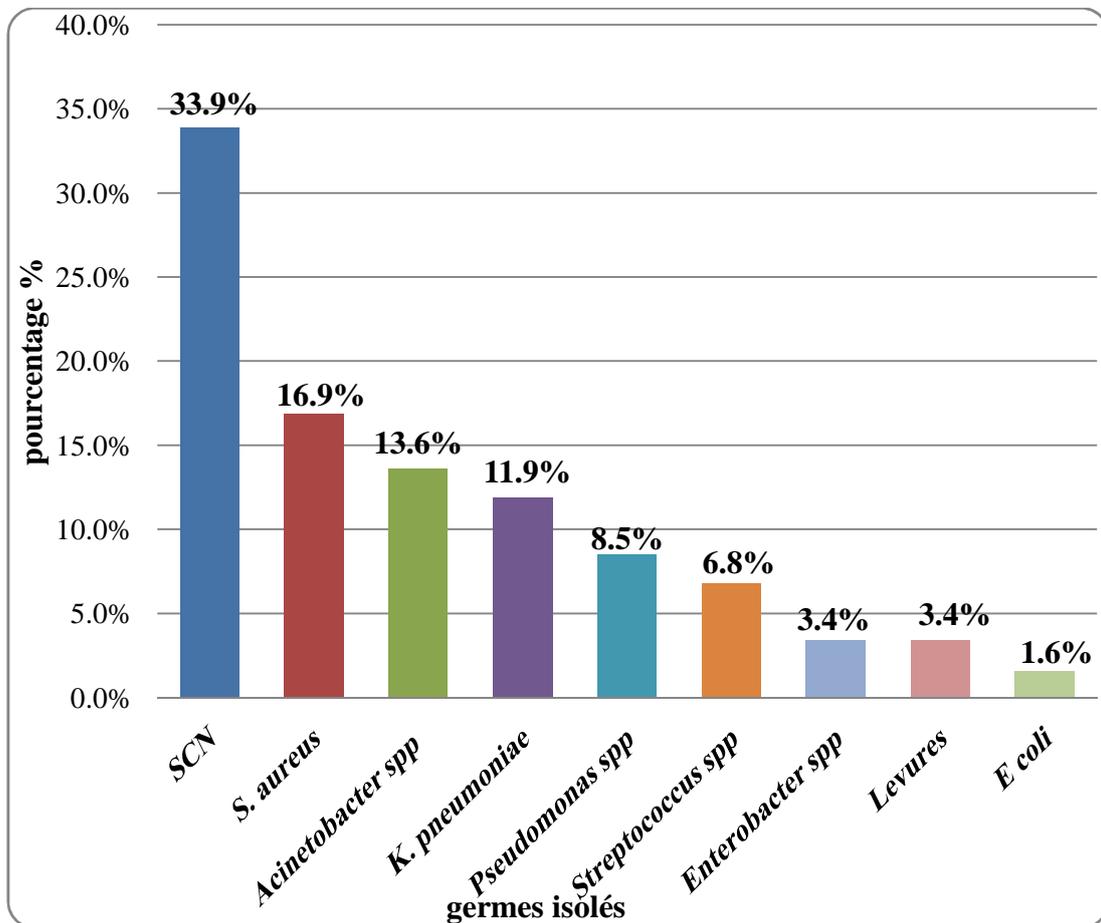


Figure 10: Fréquences des germes isolés.

SCN : staphylocoque a coagulase negatif

5Fréquence d'isolement des bactéries du groupe *K.pneumoniae*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter baumannii*, *E. coli*, SCN en fonction du sexe

Parmi les sept hémocultures dues à *K. pneumoniae*, 4 provenaient des sujets de sexe masculin soit 57 % des cas, alors que celles provenant des sujets de sexe féminin étaient de 3 patients soit 43 % (Figure 11). Ces résultats correspondent à ceux de l'étude de Sekhri (2011) avec une prédominance masculine [29].

Parmi les 5 hémocultures dues à *Pseudomonas*, 3 des cas provenaient de sexe masculin soit 60 %, alors que 2 cas provenant des sujets de sexe féminin avec un pourcentage de 40%.

Selon les résultats obtenus, 20 hémocultures dues à SCN, 14 des cas provenaient des sujets de sexe masculin soit 70%, alors que 6 cas provenaient des sujets de sexe féminin 30 %.

Parmi les 8 hémocultures dues à *Acinetobacter baumannii*, 4 provenaient de sexe masculin, et 4 cas provenant des sujets de sexe féminin.

Une seule hémoculture due à *E. coli*, a été identifié chez des sujets de sexe féminin.

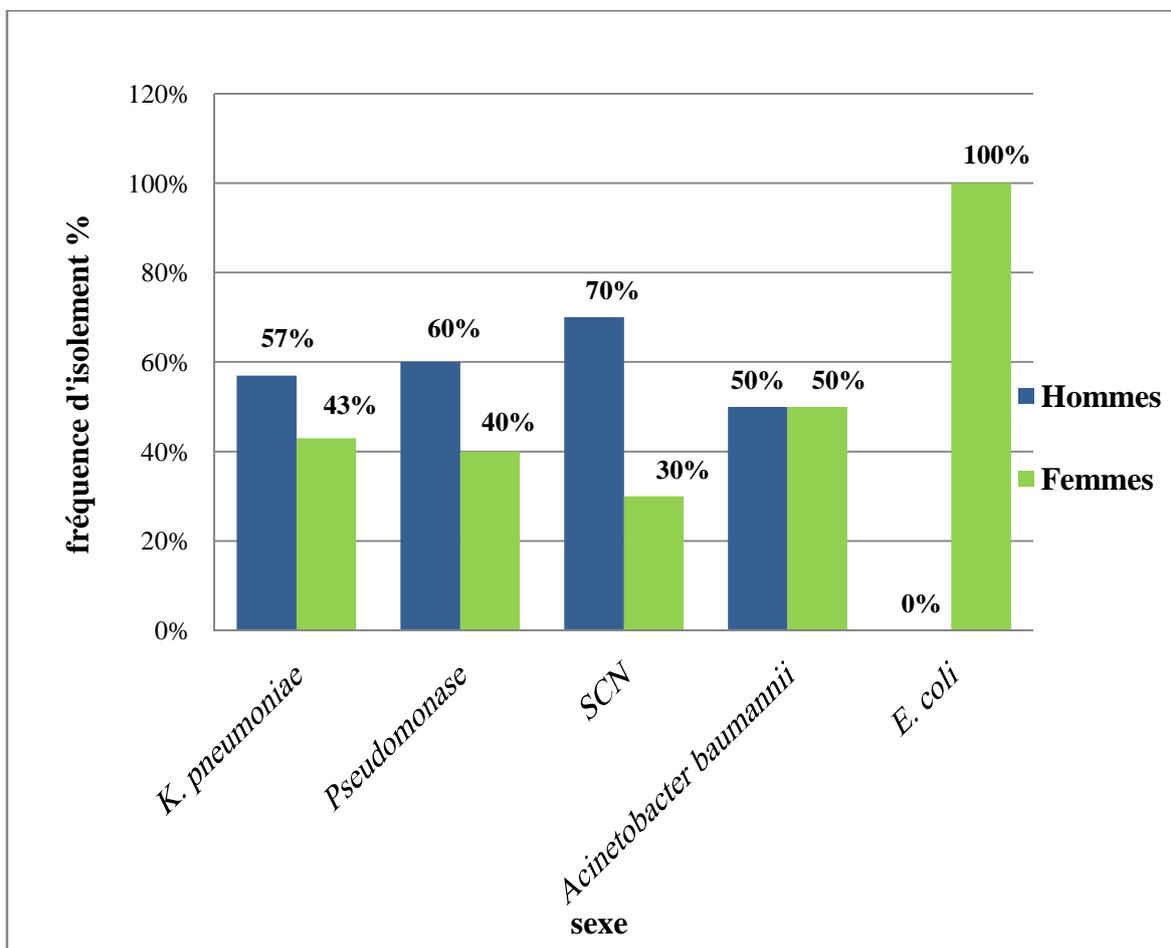


Figure 11: Fréquence d'isolement des bactéries du groupe K. P.S.A.E. en fonction du sexe.

Une étude multicentrique faite en 2016 au niveau de CHU de Constantine et au niveau de l'Hôpital Militaire de Constantine (HMC), a révélé une équivalence dans la répartition des souches selon les deux sexes [30]. Mais nous avons constaté dans notre

étude que *Pseudomonas* et SCN sont identifiés plus fréquemment chez les hommes comparés aux femmes, et l'inverse a été observé chez *E. coli*.

6 Profil de résistance des bactéries isolées aux antibiotiques

A. L'antibiogramme

C'est un test in vitro de sensibilité aux antibiotiques par la technique de diffusion sur milieu gélosé. La méthode appliquée est celle préconisée par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recommandée par l'OMS[31].

6.1 Profil de résistance de Staphylocoque à coagulase négative aux antibiotiques

La figure ci-dessous indique une résistance très élevée 100% de Staphylocoque à coagulase négative à la Pénicilline, l'Oxacilline et le Céfazoline, suivit de la Céfoxitine avec 95 %, l'Erythromycine avec 89,47 %, l'association Sulfaméthoxazole-triméthoprim avec 87,5 % la Gentamicine de 75 %, En dernier lieu vient la Spiramycine et la Tobramycine avec 50 % (figure 12).

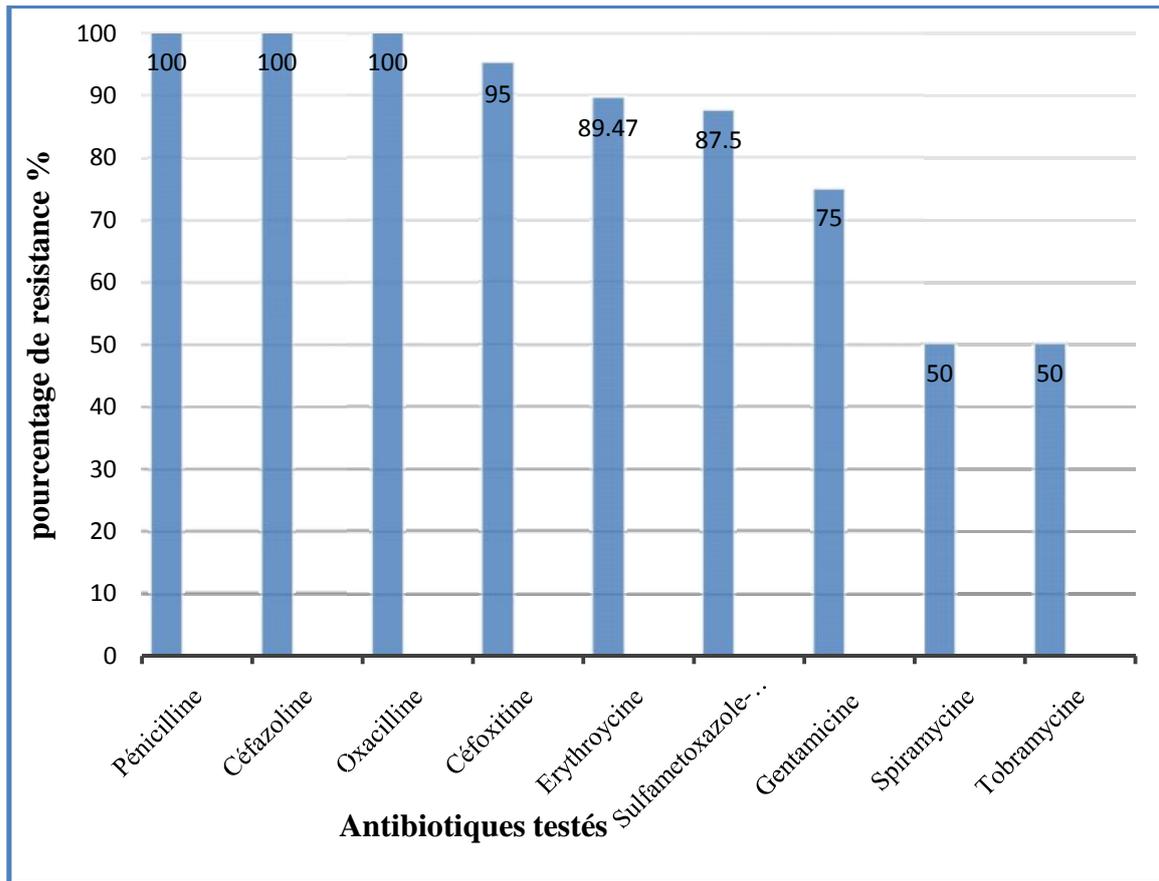


Figure 12 : Profil de résistance de Staphylocoque à coagulase négative.

Les profils de résistance que nous avons obtenue sont nettement supérieurs à ceux rapportés par l'étude menée au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Général de Douala au Cameroune (HGD) et qui indiquent : 33 %, 46.1 % pour la Gentamicine et L'Erythromycine respectivement [1]. Nos résultats sont également différents de ceux observés dans l'étude faite au CHU Ibn Rochd (Maroc) qui indique des taux de résistances faibles : Oxacilline 11,1 % et Gentamicine 11,1 % [26].

6.2 Profil de résistance de *Staphylococcus aureus*

Nous notons que toutes nos souches sont résistantes à la Pénicilline, le taux de résistance à l'Oxacilline (Méticilline) est de 77,9 % (SARM). Les taux de résistance à la Gentamicine, l'Erythromycine, et à la Lincomycine sont de 66%, 40 %, 40 % respectivement. Aucune résistance aux glycopeptides n'a été détectée(Figure 13).

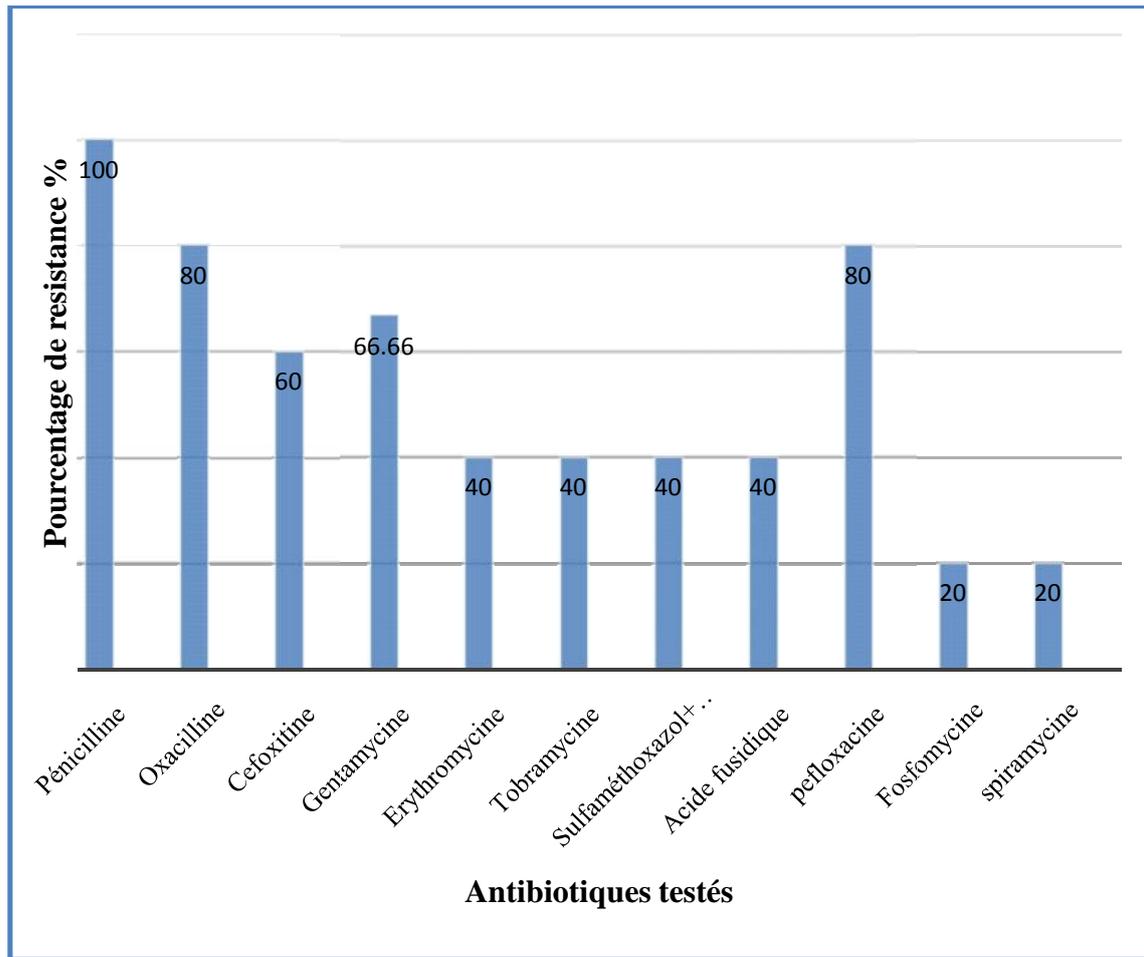


Figure 13 : Profil de résistance de *Staphylococcus aureus*.

Le profil de résistance obtenu est supérieur à celui rapporté par l'étude faite au niveau du CHU de sahloul, (Sousse,Tunis) où la résistance à la Gentamycine, et la Miticilline est évaluée respectivement à 35,5 % , 41%, mais aucune résistance aux glycopeptides n'as été également détectée [32].

Nos résultats sont aussi différents de ceux retrouvés dans l'étude réalisée en (2007) à l'hôpital du gouvernement médicale chandigarh (Inde) où des taux de résistances à l'érythromycine sont de 69,04 % [33].

6.3 Profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii*

Les souches d'*Acinetobacter* et spécialement celles appartenant à l'espèce *baumannii* sont considérés comme les bactéries les plus résistants aux antibiotiques. Le premier fait marquant de notre étude est le taux de résistance élevé 100% de nos souches aux céphalosporines de troisième génération (Céftazidime).

La résistance à l'Imipenème et à la gentamycine est de 100 % et 87.5 % respectivement.

Une faible résistance est observée vis-à-vis de la Colistine qui équivaut à 14,28 % (Figure 14).

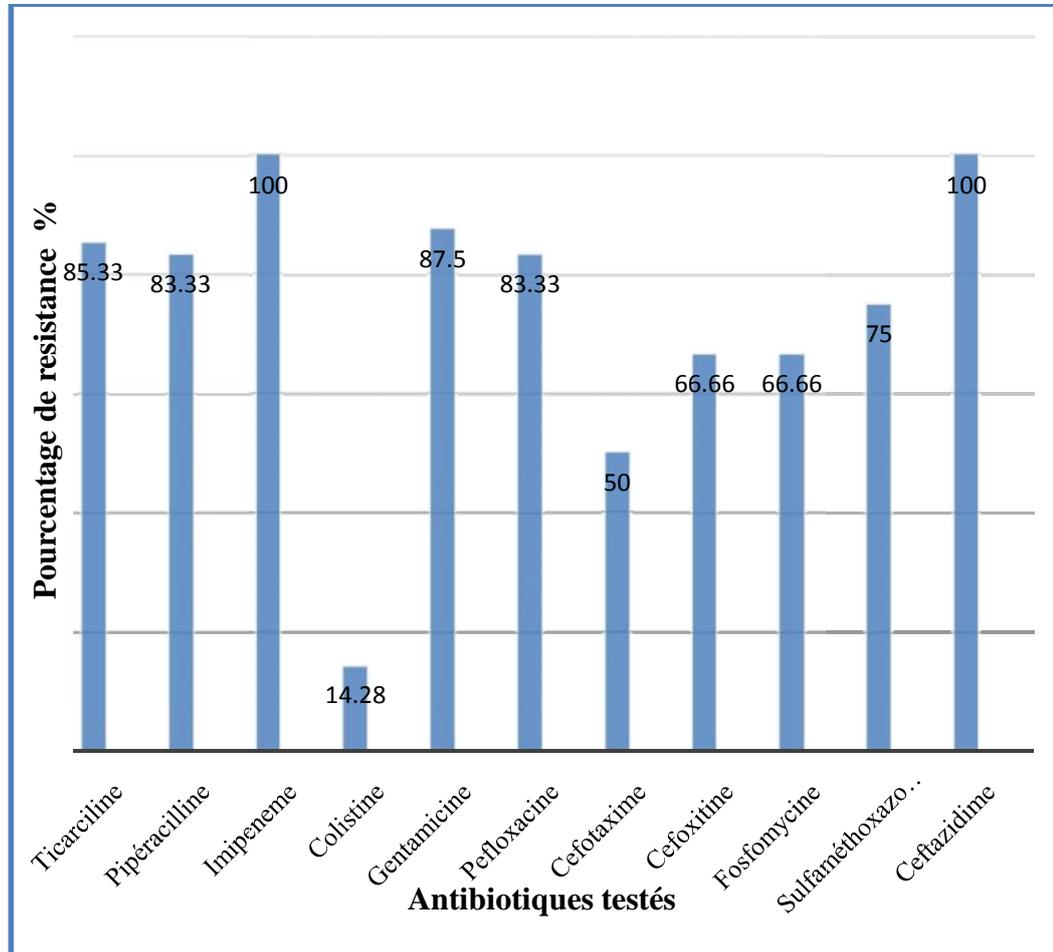


Figure 14 : Profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii*.

Nos résultats sont similaires à une étude faite à l'hôpital Accra (Ghana) qui montre une résistance à la gentamycine avec un taux de 78 %, mais sont nettement supérieur par rapport à la Cefotaxime avec un taux de 100 % [34].

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

6.4 Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae*

Les *Klebsiella* sont naturellement résistantes à l'Amoxicilline et la Ticarcilline. Pour le Céfotaxime la résistance est de 100 % et qui est due à la production d'une β lactamase à spectre étendu (BLSE). Ces germes demeurent sensibles à la Colistine et l'Imipenème (figure 15).

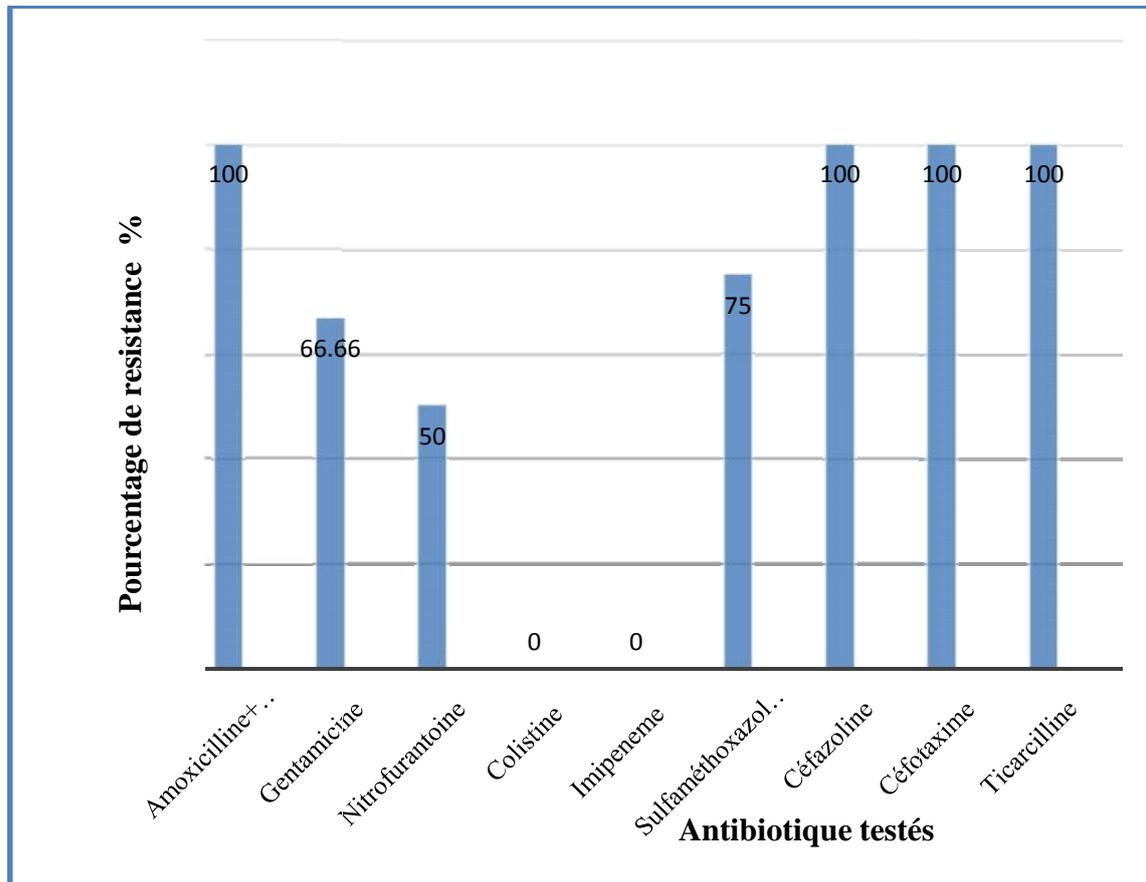


Figure 15 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae*.

Nos résultats indiquent des taux de résistance supérieurs à ceux d'une étude menée à rabat (Maroc) et qui révéla des taux de résistance de 49% à la céfotaxime, 38% à la Gentamicine [7].

6.5 Profil de résistance d'*Escherichia coli*

A notre surprise nous avons constaté qu'*E. coli* présente une résistance absolue envers : la Pénicilline, Gentamycine, Sulfaméthoxazole-triméthoprim, Erythromycine, Ticarcilline, Lincomycine, Cefoxine, Oxacilline, Pefloxacin ce qui est incohérent (Figure 16).

Ce résultat peut être expliqué par une éventuelle contamination de la souche, ou par l'acquisition de gènes de résistances à partir de souches multi-résistantes comme *S. aureus*. Nous tenons à préciser que lors de la lecture de l'antibiogramme, nous avons remarqué également la présence de *S. aureus*. Donc notre résultat peut avoir deux interprétations :

- Soit *E. coli* a été contaminé par *S. aureus* qui est connue pour sa multi-résistance
- Soit *E. coli* a acquis des gènes des résistances par le mécanisme des transferts horizontaux principalement via les transposant et les interposant, ou par mutation génétique affectant le chromosome de la bactérie.

Par manque de temps l'antibiogramme n'a pu être confirmé.

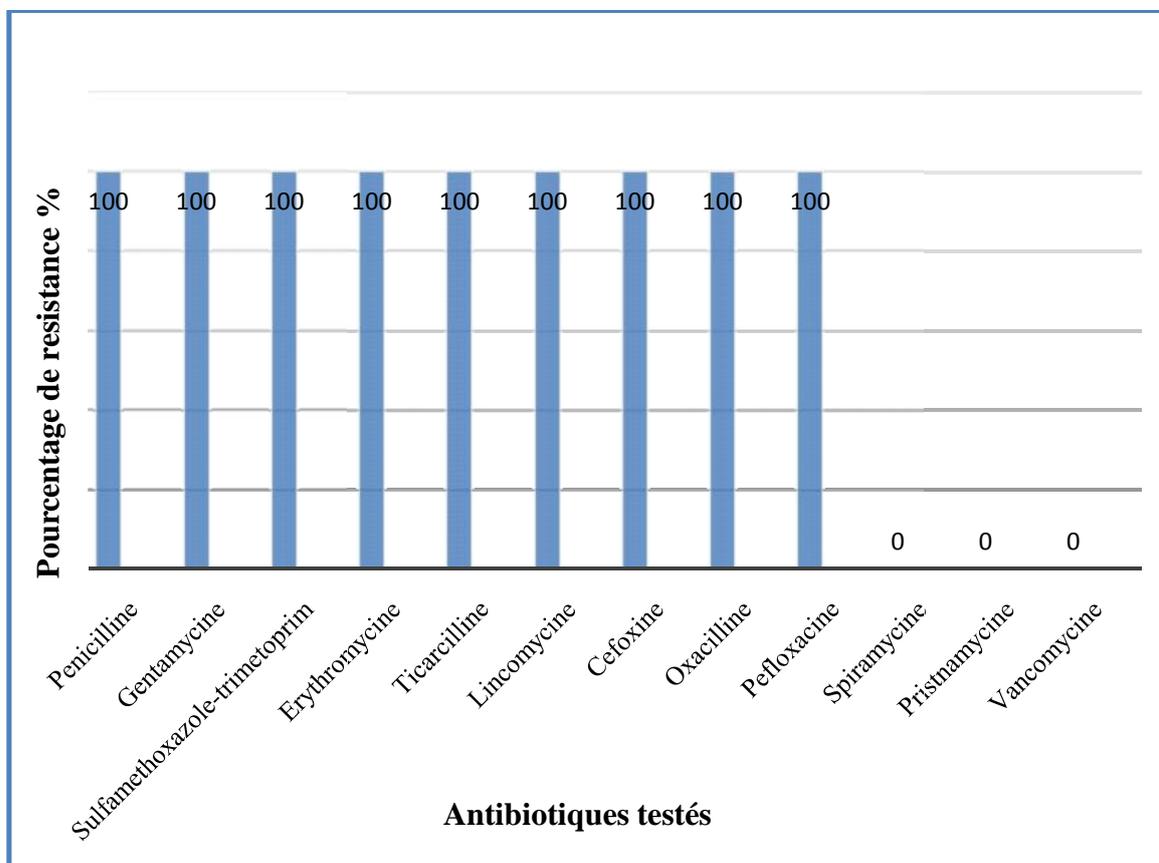


Figure 16 : Profil de résistance d'*Escherichia coli*.

Conclusion

Ce travail avait pour objectif la détermination et l'évaluation de la flore bactérienne isolée chez les patients hospitalisés au service des brûlés CHU de Constantine, et définir un profil de résistance ou de sensibilité à une panoplie d'antibiotiques, afin de donner une base objective à l'antibiothérapie probabiliste de ces infections dans ce service.

L'identification bactérienne a été réalisée par les méthodes conventionnelles. L'étude de la résistance aux antibiotiques (antibiogramme) a été effectuée par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Le taux d'hémocultures positives globales était de 65,2 %. Nous avons constaté une prédominance masculine avec un pourcentage de 62,2% par rapport au sexe féminin 37,8 %.

Sur les 69 hémocultures, nous avons remarqué l'abondance de Staphylocoque à coagulase négative 33,9% d'*A.baumannii* 16,9%, *K. pneumoniae* 11,9%, *Staphylococcus aureus* 13,6% et *Pseudomonas spp* 8,5%. Ces germes de nature nosocomiale par excellence suscitent une attention particulière du fait de leur difficulté de prise en charge et du prolongement de la durée du séjour hospitalier engendré.

La résistance aux Céphalosporines de 1^{ère} génération telle que la Céfazoline est de 100 % chez Staphylocoque à coagulase négative, hormis le cas d'*Acinetobacter baumannii*, aucune résistance des BGN n'a été notée vis-à-vis de la Colistine mais cette dernière doit être évaluée en termes de CMI pour mieux détecter les résistances intermédiaires de bas niveau.

En plus de leurs résistances naturelles à certains antibiotiques comme par exemple l'Amoxicilline et la Ticarcilline et pour certaines à la Céphalosporine de 1^{ère} 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 un pourcentage de résistance de 100 % vis-à-vis de Céfotaxime et Cefazoline respectivement, la résistance aux Carbapénèmes, Imipénème a été observée également pour la souche d'*Acinetobacter baumannii* avec un pourcentage de 100 % et chez les Staphylocoque à coagulase négative avec un pourcentage de 66,66%.

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.

Au terme de ce travail, nous pouvons conclure que l'écologie bactérienne du service des brûlés CHU Constantine présente une grande diversité avec des taux impressionnants et alarmants de résistance aux antibiotiques.

Par ailleurs, cette étude nous a permis de constater que les plaies des brûlés représentent un milieu adéquat pour l'apparition de divers types d'infections et les micro-organismes responsables varient selon les différentes périodes d'hospitalisation.

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

Référence

Bibliographique

- [1] **Lafourcade D.** (2016). Prise en charge de la brûlure cutanée thermique : parcours-type du centre de traitement des brûlés jusqu'à celui de rééducation. Sciences pharmaceutiques. Disponible en ligne sur : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01258461>
- [2] **Essayagh T.** (2013). Épidémiologie des infections chez les brûlés à l'unité des Brûlure de l'hôpital Militaire d'instruction Mohamed V de Rabat. Thèse de doctorat en Médecine.
- [3] **Arji S.** (2013). Aspects bactériologiques des prélèvements cutanés hémocultures et cathéters chez les brûlés. Étude rétrospective sur 4 ans (2007-2010) à l'HMIMV. Thèse de doctorat en pharmacie. . Université Mohammed V-Souissi, RABAT.
- [4] **Boukerouaz A., Benmehidi R.** (2017). Profil bactériologique des bactériémies à bacilles Gram négatif. Mémoire de Master: Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Université des Frères Mentouri Constantine 1.
- [5] **Carsin H., Bargues L., Stéphanazzi J., Béver H.**(2007). Brûlure. Médecine d'urgence, 25 -030-D-40.
- [6] <http://samu91.free.fr/coursint/brulur.htm>: consulté en avril-mai 2019.
- [7] **Moualkia F., Bouziane R.** (2018). Bactériologie du service des brûlés CHU constantine. en vue de l'obtention du diplôme en master : Ecologie Microbienne. Constantine : Université des frères Mentouri de Constantine.
- [8] **Darfaoui Z.** (2018). Les infections chez le brûlé : Données épidémiologiques, Cliniques et thérapeutiques. Thèse Pour l'obtention du doctorat en médecine .Faculté de médecine et de pharmacie. Marakach.p33.
- [9] **Lafourcade D.** (2015). Prise en charge de la brûlure cutanée thermique: parcours-type du centre de traitement des brûlés jusqu'à celui de rééducation. Thèse Pour l'obtention du doctorat en Sciences pharmaceutiques. Université de Bordeaux U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES.
- [10] **Aadelmalek A., Lezzar A.** (2018). Les bactéries du groupe Klebsiella, Enterobacter, Serratia responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistances aux antibiotiques. en vue de l'obtention du diplôme en master : Ecologie Microbienne. Constantine : Université des frères Mentouri Constantine 1.p12.

- [11] **Echinard Ch.,Latarjet J.** (1995).Les brulures.Paris: MASSON. p27-30.
- [12] **Hamze M et Dabboussi F., Izard D.** (2003). Sensibilité des Entérobactéries auxantibiotiques : Etude sur quatre ans (1998-2001) dans le nord du Liban. Santé : cahiers d'étude et de recherches francophones. **Vol 13.**
- [13] **Benmedakhen A., Benzine N E H et Gharbi T E.** (2016). Les bactéries responsables de bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistance auxantibiotiques. En vue de l'obtention du diplôme de docteur en Pharmacie. Constantine : Faculté de médecine département de Pharmacie. 3-4-5-43-44 p.
- [14] **El bouderkou M.** (2015) Bactériémies en réanimation: Epidémiologie, traitement etévolution. Thèse de doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad, Marrakech, p. 28- 27- 58-59.
- [15] **Benzriouil B.** (2010). Hémoculture : profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques à l'hôpital Ibn Sina de Rabat. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V-Souissi, RABAT, p.25-26 -36-37- 61.
- [16] **Trivalle C.,Chassagne P., Frioucourt P., Gonthier R., Jeandel C., Nourhashémi F., Pfitzenmeyer P., Belmin J,** (2009). La septicémie .2^{ème} édition. Masson. Paris.P.379.
- [17] **Di Martino P., Sirot D., Joly A., Darfeuille-michau 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.
- [18] **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.
- [19] **Vincent Langeron M.** (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.
- [20] **Derafa C.** Travaux pratique systématique bactérienne. Microbiologie. Sétif:Université Ferhat Abbas, 6-14 p.

- [21] **Mendaci A., 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. Université des Frères Mentouri Constantine 1.
- [22] **Sedрати 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.
- [23] Réseau Algérien de la Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques : Standardisation de l'antibiogramme à l'échèle nationale (Médecine humaine et vétérinaire). Document édité avec la collection de l'OMS. 6^{ème} édition, (2011).
- [24] **Arnould JF ., Floch R.** (2015). L'infection bactérienne chez le patient brûlé. Service de réanimation chirurgicale et des brûlés PTmC, nantes, France
- [25] **El mouali A.** (2012). Hémoculture : profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques à l'hôpital Ibn Sina de Rabat. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V-Souissi, Raba.
- [26] **Chaibdraa A., BentakoukM.C.**(2008). Etude Bactériologique sur 30 Mois dans un service de Brulés.Centre des brûlés adultes d'Annaba (2003-2005).21(1): 7–12.
- [27] **Dessalles N., Genco G., Heyouf H., Bégel N., Carsin H., ReineLosser M.**(2015).Réactivation des herpesviridae chez le patient brûlé grave. Anesthésie & Réanimation.01(1) :304-305.
- [28] **Boukerouaz A., Benmehidi R.** (2017).Profil bactériologique des bactériémies à bacilles Gram négatif. en vue de l'obtention du diplôme en master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université des frères Mentouri de Constantine.
- [29] **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 Science. Université des frères Mentouri Constantine1.

[30] **Derbali B.,Tiaouinine M.** (2016). Profil épidémiologique des septicémies nosocomiales au CHUC et à L'HMC. Mémoire de Master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Université des Frères Mentouri Constantine 1.

[31]<https://www.sante-sur-le-net.com/maladies/examens-medicaux/antibiogramme/>.

Consulté en mai 2019.

[32] **Thabet L., Zoghlami A., Boukadida J., Ghanem1 A., Messadi A.** (2013). Etude comparative de la résistance aux antibiotiques des principales bactéries isolées au service de Réanimation de brûlés durant deux périodes (2005-2008, 2008-2011) et dans deux structures hospitalières (Hôpital Aziza Othmana, Centre de traumatologie et grands brûlés ben Arous). 91(02): 138-142.

[33]**TilouchL., SaklyH., BoughattasS., Gargouri M., Ben Abdelaziza., Chaouch C., BoujaafarN.** (2017). Profil et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées au service des brûlés.Médecine et Maladies Infectieuses. 47(4) :S76.

[34] **Forson OA., Ayanka E., Olu-Taiwo M., Pappoe-Ashong PJ., Ayeh-Kumi PJ.** (2017).Bacterial infections in burn wound patients at a tertiary teaching hospital in Accra, Ghana.30(2):116-120.

Annexes

Annexe I

Milieu gélose au chocolat

Peptone trypsique de caséine	7.5g
Peptone pepsique de viande.....	7.5g
Amidon de maïs.....	1g
Hydrogénophosphate de potassium.....	4g
Dihydrogénophosphate de potassium.....	1 g
NaCl.....	5g
Hémoglobine.....	10g
Agar.....	15g
pH=7.2	

Gélose Hektoen

Peptone	12 g
Extrait de levure	3 g
NaCl.....	5 g
Sels biliaires.....	9 g
Thiosulfate de sodium.....	5 g
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5 g
Lactose.....	12 g
Salicine.....	2 g
Saccharose.....	12 g
Bleu de bromothymol.....	0,002 g
Fuchsine acide.....	0,1 g

Agar..... 14 g

pH = 7.5

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

Milieu Mueller Hinton

Infusion de viande de bœuf..... 300 g

Hydrolysate de caséine..... 17.5 g

Amidon1.5 g

Gélose10 g

Milieu TSI

Extrait de bœuf..... 3 g

Extrait de levure..... 3 g

Peptone..... 20 g

Chlorure de Sodium..... 5 g

Lactose..... 10 g

Saccharose..... 10 g

Glucose..... 1 g

Citrate ferrique..... 3 g

Thiosulfate de Sodium.....	3 g
Rouge de phénol.....	0.025 g
Gélose.....	12 g
pH = 7.4	

Milieu mannitol de mobilité

Hydrolysate tryptique de caséine.....	10.0g
Mannitol.....	7.5g
Rouge de phénol.....	0.4g
Nitrate de potassium.....	1.0g
Agar.....	3.5g
pH=7.5	

Milieux urée-Indole

Urée.....	2.0g
L-tryptophane.....	0.3g
KHPO ₄	0.1g
KH ₂ PO ₄	0.1g
NaCl.....	0.5g
Alcool à 95C°.....	1.0ml
Rouge de phénol à 1%.....	0.25g
Eau distillé.....	100ml
pH=7	

Annexe II

Aspect des milieux utilisés pour l'identification par galerie biochimique classique

Milieux	Aspect avant ensemencement	Aspect positif après ensemencement
T.S.I		
Citrate de Simmons		
Mannitol mobilité		
Urée-indole		

Annexe III

Bact-Alert3D mat et met

Le BacT/ALERT 3D est un appareil de détection des hémocultures positives. Il est composé d'une chambre d'incubation, d'un moniteur, d'un clavier, d'une imprimante, d'un lecteur de code-barres, d'un onduleur et d'une souris. La chambre d'incubation est subdivisée en deux tiroirs ayant chacun une capacité de 60 flacons de culture.



Procédure de chargement des flacons d'hémoculture :

Depuis l'écran principal, cliqué sur le bouton de chargement depuis l'écran principal, cliquer sur le bouton de chargement, L'écran ci-contre s'ouvre :

Scanner le code-barres du flacon.

- ✓ S'assurer que le N° flacon s'affiche dans le champ correspondant, et que le type de flacon correspond à celui à charger.

L'instrument indique alors les emplacements disponibles :

- ✓ Un voyant vert s'allume sur la face avant du ou des tiroir(s) où des positions sont disponibles.
- ✓ Ouvrir le tiroir dans lequel on souhaite charger le flacon. Un voyant orange, témoin d'ouverture, sur la face avant du tiroir choisi s'allume.
- ✓ Introduire le flacon dans une cellule disponible (diode verte allumée).
- ✓ L'écran de chargement se « rafraîchit », indiquant que la position choisie a bien associé le N° de code à barres du flacon introduit.
- ✓ La diode verte correspondante à la position chargée clignote.
- ✓ Revenir à l'écran principal en appuyant sur la touche ✓

Procédure de déchargement des flacons d'hémoculture négatifs :

Au moins une fois par jour, décharger les flacons au terme de leur protocole d'incubation.

- ✓ Cliquer, depuis l'écran principal, sur le bouton représentant un flacon négatif, allumé en bleu.
- ✓ Une diode verte s'allume dans le ou les tiroirs contenant des flacons négatifs à décharger.
- ✓ Ouvrir un tiroir dont la diode frontale est allumée en vert.
- ✓ Repérer la ou les diodes allumées en vert, des cellules contenant un flacon négatif à décharger.
- ✓ Retirer les flacons, un à un, sans cliquer sur la touche de validation, et sans les scanner : pour chacun des flacons déchargés, une fenêtre ouvre, indiquant le code à barre du flacon déchargé. La diode de la dernière position déchargée clignote en vert.
- ✓ Une fois les flacons retirés, cliquer sur la touche ✓ pour revenir à l'écran principal.

Procédure de déchargement des flacons d'hémoculture positifs :

Dès lors qu'un flacon prend l'état positif :

- ✓ Le fond d'écran BacT/ALERT s'allume en jaune
Si paramétrée, une alarme sonore retentit. Cliquer, depuis l'écran principal (fond jaune), sur le bouton représentant un flacon positif, allumé en bleu.
- ✓ Une diode verte s'allume dans le ou les tiroirs contenant des flacons positifs à décharger.
- ✓ Ouvrir le tiroir allumé.

- ✓ Repérer la ou les diodes allumées en vert, des cellules contenant un flacon positif à décharger.
- ✓ Retirer le ou les flacons, un à un, sans cliquer sur la touche de validation, et sans les scanner : pour chacun des flacons déchargés, une fenêtre s'ouvre, indiquant le code à barre du flacon déchargé. La diode de la dernière cellule déchargée clignote en vert.
- ✓ Une fois les flacons retirés, cliquer sur la touche ✓ pour revenir à l'écran principal



Flacon BacT/Alert

Annexe III

I. La liste des antibiotiques testés

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

N° : _____

ANTIBIOGRAMME : BACILLES NON FERMENTANTS

Nom.....Prénom.....Age.....

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

Diagnostic Bactériologique :.....

CARBENICILLINE		KANAMYCINE		
TICARCILLINE		TOBRAMYCINE		
PIPERACILLINE		GENTAMICINE		
TICARCILLINE + ACLAVULANIQUE		AMIKACINE		
PIPERACILLINE + TAZOBACTAM		PEFLOXACINE		
CEFTAZIDIME		CIPROFLOXACINE		
CEFEPIME		SULFAMETHOXAZOLE		
CEFPIROME		TRIMETOPRIME		
CEFSULODINE		SULFAMETHOXAZOLE + TRIMETOPRIME		
AZTREONAM		COLISTINE		
IMIPENEME		CHLORAMPHENICOL		
FOSFOMYCINE				

S : sensible, R : résistant, I : intermédiaire

Constantine le,

Chef d'Unité,

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DR. BENBADIS, CONSTANTINE**SERVICE DE MICROBIOLOGIE, PR K. BENLABED- POSTE : 20-94**

N°/.....

ANTIBIOGRAMME : STREPTOCOQUE, ENTEROCOQUE**STAPHYLOCOQUE, HAEMOPHILUS**

Nom :..... Prénom :..... Age :.....

Nature de prélèvement :..... Service :.....

Diagnostic Bactériologique :.....

PENICILLINE			ERYTHROMYCINE		
OXACILLINE			SPIRAMYCINE		
AMOXICILLINE			LINCOMYCINE		
AMOXICILLINE+ AC.CLAVULANIQUE			PRISTNAMYCINE		
CEFAZOLINE			TETRACYCLINE		
CEFOXITINE			MINOCYCLINE		
CEFOTAXIME			SULFAMETHOXAZOE +		
			TRIMETOPRIM		
IMIPINEM			AC. FUSIDIQUE		
KANAMYCINE			RIFAMPICINE		
TOBRAMYCINE			VANCOMYCINE		
GENTAMYCINE			TEICOPLANINE		
NETILMYCINE			PEFLOXACINE		
AMIKACINE			CIPROFLOXACINE		
GENTAMYCINE HN			LEVOFLOXACINE		
STREPTOMYCINE HN			OFLOXACINE		
TELITHROMYCINE			CHLORAMPHENICOL		
FOSFOMYCINE					

S: SENSIBLE; I: INTERMEDIAIRE ; R: RESISTANT

Constantine, le.....

Le Chef d'Unité

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DR. BENBADIS. CONSTANTINE**SERVICE DE MICROBIOLOGIE. PR K. BENLABED- POSTE : 20-94**

N°/.....

ANTIBIOGRAMME : ENTEROBACTERIES

Nom :..... Prénom :..... Age :.....

Nature de prélèvement :..... Service :.....

Diagnostic Bactériologique :.....

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

S: SENSIBLE; I: INTERMEDIAIRE; R: RESISTANT

Constantine, le.....

Le Chef d'Unité,

II. Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI

Table de lecture 3 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		CMI critiques (µg/ml)				Commentaires
		R	S	R	I	S		
Ticarcilline	75 µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128	32-64	≤ 16	Le disque de TTC doit être placé à côté du disque de CAZ. Une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE. (voir recherches complémentaires).
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128/2	32/2-64/2	≤ 16/2	
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤ 16	Les critères d'interprétation pour l'impipérème sont basés sur la posologie de 500 mg toutes les 6h.
Céfazodime	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Impipérème	10 µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 2	
Ambicascine	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine	CMI	—	—	—	≥ 32	16	≤ 8	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Doxycycline	30µg	≤ 9	10 - 12	≥ 13	≥ 16	8	≤ 4	Si résistance à doxycycline, réponse variable pour tétracycline.
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 4/76	—	≤ 2/38	La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut déterminer la CMI.
Colistine	CMI	—	—	—	≥ 4	—	≤ 2	

* Tableau extrait du Document M100 - S24, Vol. 34, n°1, 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twenty-fourth informational supplement.

Table de lecture 2 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$)					Commentaires
		R	I	S	R	I	S	S		
Ticarcilline	75 μg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128	32 - 64	≤ 16			Les valeurs critiques pour la piperacilline et la ticarcilline (avec ou sans ac clavulanique), sont basées sur une posologie d'au moins 3g toutes les 6 heures.
Ticarcilline + ac. clavulanique	75/10 μg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	$\geq 128/2$	32/2 - 64/2	$\leq 16/2$			Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'ATM (voir chapitre tests complémentaires).
Pipéracilline	100 μg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128	32 - 64	≤ 16			L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises.
Céftazidime	30 μg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8			Ceftazidime et Aztréonam : 1 g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h. Il est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comité des antibiotiques et CLIN de l'hôpital, de ces nouveaux critères d'interprétation. Consulter le clinicien, en particulier pour les patients spécifiques.
Aztréonam	30 μg	≤ 15	16 - 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8			
Imipénème	10 μg	≤ 15	16 - 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2			En cas de diamètre R ou I, faire une détection de carbapénémases (voir recherches complémentaires). Valeurs critiques basées sur une posologie de 1g toutes les 8 heures ou 500mg toutes les 6 heures.
Amikacine	30 μg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16			
Gentamicine	10 μg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4			
Nétilmicine	30 μg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8			
Tobramycine	10 μg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4			
Ciprofloxacine	5 μg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1			
Lévofloxacine	5 μg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2			Des observations cliniques suggèrent que les infections dues à des souches pour lesquelles la CMI de la fosfomycine est ≤ 128 mg/L (ECOFF) (Epidemiological cut-off value) pourraient être traitées avec de la fosfomycine.
Fosfomycine**	---	---	---	---	---	---	---			
Colistine	10 μg	≤ 10	---	≥ 11	≥ 8	4	≤ 2			

* Tableau extrait du Document M100 - S24, Vol. 34, n°1, 2014, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twenty-fourth informational supplement.

** Extraits des recommandations 2014 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

LES BACTÉRIÉMIES AU SERVICE DES BRULÉS CHU CONSTANTINE

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

Les bactériémies sont des affections graves responsables d'un taux élevé d'une morbidité et d'une mortalité significative dans le monde, ces affections constituent une urgence au niveau du diagnostic et à l'échelle thérapeutique. Notre étude prospective a été réalisée au niveau du centre Hospitalo-Universitaire de Constantine1. La collecte des données s'est effectuée à partir des registres archivés d'hémoculture au CHU de Constantine. L'identification bactérienne a été faite par les méthodes conventionnelles. Les isolats sont identifiés selon les méthodes bactériologiques classiques et l'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion selon les recommandations du Clinical and laboratory standards institute (CLSI). Sur 69 échantillons d'hémocultures, 65,02% étaient positives tandis que les hémocultures négatives représentaient 31.9 %. Le sexe masculin est le plus exposé à la bactériémie avec un pourcentage de 62,2 % comparé au sexe féminin qui représente un pourcentage de 37,8%. Parmi les principaux germes incriminés, nous avons remarqué l'abondance de Staphylocoque à coagulase négative 33,9%, suivit d'*Acinetobacter baumannii* 16,9%, de *Klebsiella pneumoniae* 11,9%, *Staphylococcus aureus* 13,6% et *Pseudomonas spp* 8,5%. Nous rapportons une fréquence élevée de résistance aux antibiotiques testés notamment vis-à-vis de certains genres. Une multi-résistance : *Acinetobacter* (Ceftazidime : 100%, Gentamicine 87.5 %), une résistance absolue de *Klebsiella pneumoniae* à la Ticarciline et la Céfotaxime. Une résistance importante de *Staphylococcus aureus* à la Pénicilline 100 % et à l'Oxacilline (Méticilline) avec un pourcentage de 77,9 %. L'émergence de ces souches multi-résistantes nécessite une vigilance avec une application rigoureuse des mesures d'hygiène et une surveillance épidémiologique qui s'avèrent absolument indispensable à l'échelle de l'unité des brûlés et de l'hôpital, afin de mieux guider l'antibiothérapie probabiliste.

Mots clés : bactériémies, hémoculture, antibiogramme, brûlés, infection, résistance aux antibiotiques.

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

Jury d'évaluation :

Président: OULMI Lamia (Maître de conférences « B » - UFM Constantine).

Rapporteur: ALATOU Radia (Maître de conférences « A » - UFM Constantine).

Examineur: BOUCHLOUKH Warda (Maître assistant « A » - UFM Constantine)

Date de soutenance : 24/06/2019