



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 الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

Profil bactériologique des bactériémies à bacilles Gram négatif

Présenté et soutenu par : BOUKEROUAZ Amel

Le 22/06/2017

BENMEHIDI Ramla

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr HAMIDECHI A. (Professeur-UFM Constantine).

Rapporteur : Mme SEKHRI-ARAF A N. (Maître de conférences-UFM Constantine).

Examinatrice : Mme OULMI. (Maître de conférences-UFM Constantine).

Année universitaire

2016 - 2017

Remerciements

Nous tenons à remercier particulièrement et chaleureusement avec notre grande gratitude notre encadreur Mme Sekhri-Arafa Nedjouda pour tous les efforts inlassables, et toute la patience que vous avez déployée pour que ce travail soit élaboré. Pour tous ses conseils et ses encouragements, pour toutes ces informations si précieuses, gratuitement livrées.

Ce fut pour nous, un honneur et un grand plaisir d'avoir préparé notre mémoire sous votre guidance et nul mot ne qualifie notre gratitude.

Nos vifs remerciements pour les membres du jury à commencer par Mr. Hamidechi pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce travail.

A Mme Oulmi Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner notre travail.

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

Nous voudrions présenter nos remerciements et notre gratitude au chef de service du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital CHU de Constantine Monsieur Benlabed. K d'avoir accepté de nous recevoir dans son laboratoire.

Nos remerciements s'adressent également au personnel du laboratoire : au docteur Mme Benkhemissa. M, à Amel et Amina. Nous sommes très heureuses d'avoir appris auprès de vous.

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

Dédicace :

Je dédie cette thèse :

A toi maman Assia,

Pour l'affection, la tendresse et l'amour dont tu m'as toujours entouré; pour le sacrifice et le dévouement dont tu m'as toujours fait preuve; pour l'encouragement sans limites que tu ne cesses de manifester.

A toi papa Zineeddine,

Pour qui notre avenir compte tant. C'est avec beaucoup d'affection et de respect que je t'écris ces quelques mots, tout en sachant que jamais je ne pourrais te remercier pour tout ce que tu as sacrifié pour moi.

Que Dieu vous garde pour nous et fasse mériter de votre bénédiction.

A mes frères Ahmed nidal, Manar el islam et Tamer abdelhafid: que Dieu vous protège et vous prête bonne santé et longue vie.

A toute ma grande famille ; mes tantes, mes oncles mes cousins: avec toute mon affection et mes meilleurs souhaits de bonheur et de santé.

A mes chers amis (es): Houda, Nerdjess, Randa, Ouided, et Amel : vous m'avez toujours soutenu, encouragé et aidé, merci beaucoup pour tout ce que vous avez fait pour moi, pour votre présence. Je vous adore.



RAMLA

Dédicace

*A mes chers parents Azzedine et Souad,
Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.*

J'espère être à la hauteur de vos espérances et ne jamais vous décevoir. Je vous rends hommage par ce modeste travail.

Qu'Allah tout Puissant vous accorde le Paradis et vous procure santé, bonheur et longue vie.

A ma belle et très chère sœur chaïma, A mes frères walid et zaki,

Ces quelques lignes ne sauront exprimer toute l'affection et l'amour que je vous porte, votre soutien et vos encouragements ont été pour moi d'un grand réconfort.

Que dieu vous assiste et vous réserve une vie pleine de succès et de bonheur.

A toute ma famille A mes tantes, oncles, cousines et cousins.....

Que ce travail soit le témoin de toute mon affection, mon estime, et mon attachement.

A mes chères copines: Rawnak, Amina, Amira, Kenza, Ramla.



Amel

Abstract

Bacteremia is serious conditions, responsible for significant morbidity and mortality world wide. These conditions constitute a diagnostic and therapeutic emergency. The objectives of this study are isolation and identification of causative organisms and to determine their resistance profile.

This is a retrospective study of one year (2016-2017) eand two months (March-Avril 2017) at the centers University Hospital of Constantine. Data collection took place from archived blood culture records, in addition to an internship of two months.

The results of 3408 are among these blood cultures, 31% were positive indicating a bacteremia condition, and 69% were negative. The male is the most exposed to bacteremia. Isolated from blood cultures of the different services indicate that the center burned is great provider followed by the transfusion center.

1045 bacterial strains were collected with proportion of Gram negative bacilli (49%), among the Gram negative bacilli isollated two prédominant groups which are in descending order, Enterobacteria, Non-fermentative rods with the respective proportions of 61%, 34%, in addition the brucella with a lesser extent (5%).

One hundred and fifty-eight ESBL-producing strains the most isolated are *Klebsiella pneumoniae* by 68 isolates and *E. coli* by 55 isolates.

Epidemiological characteristics and antibiotics susceptibility surveillane are required to improve empiric treatment of bacteremia; about the high rate of antibiotic resistance, the establishment of a monitoring program became important to define the characteristics of bacteremia in our structure, and thus provide the basis for an appropriate empirical treatment.

Blood culture is still the routine diagnosis of bactermia. However, this technique shows limitations. So new technologies such as biomolecular methods promise a diagnosis of bactermia revolution in the coming years.

Keywords: bacteremia, blood culture, antibiotic resistance, the enterobacteria, non-fermenting Gram-negative bacilli.

ملخص:

تجرثم الدم هي حالة خطيرة المسؤولة عن قسط كبير من الحالات المرضية والوفيات في جميع أنحاء العالم. وتشكل هذه الظروف حالة طوارئ تشخيصية وعلاجية.

الهدف من هذه الدراسة عزل والتعرف على الكائنات الحية المسببة وتحديد اختبار الحساسية للمضادات الحيوية.

هذه دراسة بأثر رجعي لمدة سنة (2016-2017) و شهرين (مارس-أفريل) في المركز الاستشفائي الجامعي قسنطينة.

النتائج المتحصل عليها عزل 3408 زراعة للدم من بينها 31 % إيجابي يدل على حالة تجرثم الدم، و 69% كانت سلبية.

الذكور هم الأكثر عرضة لتجرثم الدم. تم عزل اغلب العينات من مركز الحروق متبوعة بمصلحة مركز نقل الدم.

ألف و خمسة وأربعون سلالات بكتيرية قد تم تحديدها، مع انتشار العصيات سلبية Gram 49 %. من بين عصيات سلبية Gram المعزولة توجد مجموعتين ساندتين، والتي هي بالترتيب التنازلي: المعوية، العصيات غير مخمرة سلبية Gram مع نسب كل منها من 61%، 34%، وأيضا Brucelle بدرجة أقل (5%).

السلالات المنتجة للنسب المقاومة β لكتمين بطيف ممد مئة وثمانية وخمسين و الأكثر عزلة:

Klebsiella pneumoniae بنسبة 68 سلالة و *E.coli* 55 سلالة

معرفة البيئة البكتيرية ورصد المقاومة للمضادات الحيوية ضرورية لتوجيه العلاج بالمضادات الحيوية في بيئتنا. مع ارتفاع معدل مقاومة المضادات الحيوية أصبح إنشاء برنامج الرصد مهما لتحديد خصائص تجرثم الدم في مؤسستنا وبالتالي توفير الأساس لتلقي العلاج التجريبي المناسب.

زراعة الدم لا يزال التشخيص الروتيني لتجرثم الدم. و برغم النتائج المحدودة للتقنية. التكنولوجيا الجديدة مثل الطرق الجزيئية البيولوجية تعد بكثرة في تشخيص حالات تجرثم الدم في السنوات المقبلة.

الكلمات المفتاحية: تجرثم الدم، زراعة الدم، مقاومة المضادات الحيوية، العصيات غرام السلبية، المكورات المعوية، عصيات غرام السلبية غير مخمرة.

Résumé :

Les bactériémies sont des affections graves, responsables d'une morbidité et d'une mortalité significatives à travers le monde. Ces affections constituent une urgence diagnostique et thérapeutique.

Les objectifs de cette étude sont l'isolement et l'identification des germes en cause et la détermination de leurs profils de résistance.

Il s'agit d'une étude rétrospective d'une année (2016-2017) et le travail de paillasse de deux mois (Mars-Avril 2017) au niveau du centre hospitalier CHUC. La collecte des données s'est faite à partir des registres archivés d'hémoculture, en plus d'un stage pratique de deux mois.

Sur un total de 3408 hémocultures réalisées, 31% ont été considérées positives témoignant d'un état bactériémique, et 69 % étaient négatives. Le sexe masculin est le plus exposé à la septicémie. Les hémocultures isolées proviennent des différents services où le centre des brûlés est le grand provoyeur suivis par le centre de transfusion.

Mille quarante cinq (1045) souches bactériennes ont été identifiées, avec une prévalence des bacilles à Gram négatif de 49 %. Parmi les bacilles à Gram négatif isolés deux groupes prédominants, qui sont par ordre décroissant: les Entérobactéries, les Bacilles à Gram négatif non fermentants avec les proportions respectives de 61%, 34%, en plus les brucelles avec une moindre mesure (5%).

Les cent cinquante-huit souches productrices de BLSE les plus isolées sont *Klebsiella pneumoniae* par 68 isolats et *E.coli* par 55 isolats.

La connaissance de l'écologie bactérienne et la surveillance de la résistance aux antibiotiques sont nécessaires pour guider l'antibiothérapie dans notre environnement. Face au taux élevé de résistance aux antibiotiques, l'instauration d'un programme de surveillance est devenue importante pour définir les caractéristiques des bactériémies dans notre structure, et fournir ainsi la base pour un traitement empirique approprié.

L'hémoculture reste aujourd'hui le diagnostic de routine des bactériémies. Cependant cette technique montre des limites. Donc des nouvelles technologies telles que les méthodes Biomoléculaires promettent une révolution du diagnostic des bactériémies dans les prochaines années.

Les Mots clés: La bactériémie, l'hémoculture, la résistance aux antibiotiques, les entérobactéries, les Bacilles à Gram négatif non fermentant.

Liste des figures

Figure 1: Les trois principaux mécanismes des bactériémies.

Figure 2: l'évolution de la gravité des syndromes septiques.

Figure 3: composition de sang.

Figure 4 : les antibiogrammes testés pour entérobactéries et pour bacilles non fermentaires.

Figure 5 : image de synergie entre AMC et β -lactamine de *K.pneumoniae* .

Figure 6 : Répartition globale des hémocultures selon la culture.

Figure 7 : Répartition des hémocultures selon l'agent causal.

Figure 8 : Répartition des hémocultures selon le sexe.

Figure 9 : Répartition globale des bacilles à Gram négatif selon les groupes bactériens.

Figure 10: Répartition des souches selon les services.

Figure 11 : profil globale de résistance des bacilles à Gram négatif.

Figure 12 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli*.

Figure 13 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae*.

Figure 14 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Enterobacter spp.*

Figure 15 : Profil de résistance aux antibiotiques d'*Enterobacter cloacae*.

Figure 16 : Profil de résistance aux antibiotiques de *Salmonella heidelberg*.

Figure 17 : Profil de résistance aux antibiotiques de *Providencia spp.*

Figure 18 : Profil de résistance aux antibiotiques de *Proteus mirabilis*.

Figure 19 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces d'entérobactéries.

Figure 20 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Acinetobacter baumannii*.

Figure 21 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Pseudomonas aeruginosa*.

Figure 22 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Acinetobacter spp.*

Figure 23 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces des Bacilles non fermentant.

Figure 24 : Profil de résistance des souches BLSE.

Figure 25 : Profil de résistance des souches *E.coli* BLSE.

Figure 26 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* BLSE.

Liste des tableaux

Tableau 1: les facteurs favorisant part à part aux portes d'entrées pour les bacilles à Gram négatif.

Tableau 2 : Les portes d'entrée et les principales localisations secondaires des bactériémies selon les microorganismes.

Tableau 3 : Antibiotiques testés pour les bacilles à Gram négatif.

Tableau 4: Classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine.

Tableau 5 : Caractères biochimiques des entérobactéries.

Tableau 6 : Les étapes de la méthode de diffusion en gélose.

Tableau 7 : aspect macroscopique des bacilles à gram négatif des flacons.

Tableau 8 : les différents aspects macroscopiques des colonies observées sur les milieux de cultures.

Tableau 9 : Identification biochimique des entérobactéries.

Tableau 10 : Répartition globale des souches isolées selon le Gram.

Tableau 11: Répartition des hémocultures en fonction des souches bactériennes.

Tableau 12 : Répartition globale des germes selon le sexe.

Tableau 13 : Répartition des souches bactériennes selon le service.

Tableau 14 : Profil de résistance des Entérobactéries.

Tableau 15 : Profil de résistance aux antibiotiques des Bacilles non fermentant.

Tableau 16 : La répartition globale des BLSE selon les espèces

Liste des abréviations

CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CHUC : Centre Hospitalo Universitaire de Constantine.

BLSE: β -lactamase à Spectre Elargi.

GLU: Glucose.

LDC: Lysine décarboxylase.

ODC: Ornithine décarboxylase.

ONPG: Orthonitrophényl- β -galactoside.

SAC: Saccharose.

VP: Voges-Proskauer.

RM: Rouge de Méthyle.

URE: Urée.

BNF : Bacilles non fermentants.

MH : Mueller Hinton.

BBT : Bleu de bromothymol.

SIRS : syndrome de réponse inflammatoire systémique.

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie.

Fe³⁺ : Ion de fer.

H₂S : Sulfure d'hydrogène.

Table des matières

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
1-Définition.....	3
1-1-infection	3
1-2- Bactériémie.....	3
1-2-1 -Bactériémie primaire.....	3
1-2-2- Bactériémie secondaire.....	3
1-2-3- Pseudo bactériémie.....	3
1-2-4 - Bactériémie nosocomiale.....	4
2- Données physiopathologiques	4
2-1- La Bactériémie transitoire.....	4
2-2- La Bactériémie intermittente.....	4
2-3- La Bactériémie continue.....	5
3- Distinction entre bactériémie et septicémie.....	5
3-1- définition de la septicémie	5
5- L'origine de la bactériémie et les facteurs favorisant.....	5
5-1- l'origine de la bactériémie	5
5-2- Les facteurs favorisant la bactériémie	6
6-Les différentes Portes d'entrée et localisation secondaire des bactériémies.....	6
6-1-Les symptômes.....	8
6- Les symptômes et diagnostic.....	8
6-2- diagnostic.....	8
7- Hémoculture.....	8
7-1- Définition du sang	8
7-2- Définition d'hémoculture.....	9
8- Le Traitement.....	9

9- Etiologie.....	11
9-1 Coccis à Gram positif.....	11
9-2 Les bacilles à Gram négatif.....	11
9-2-1 Les entérobactéries.....	11
9-2-1-1 Etude des principaux genres.....	13
9-2-2 Les bacilles à Gram négatif non fermentaires.....	15
9-2-2-1 Etude des principaux genres.....	16
9-2-3- Brucella.....	17
10- Les antibiotiques.....	18
10-1- Définition.....	18
11- La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	18
11-1- Définition.....	19
11-2- Types de résistance	19
Matériel et Méthodes	
Matériel	
1-Centre de l'étude.....	20
2-Durée de l'étude.....	20
3-Taille d'échantillon.....	20
Méthodes	
1- Prélèvement.....	20
1-1-Quand prélevé.....	21
1-2- Eviter les contaminants et travailler en sécurité.....	21
1-3-Prélever une quantité de sang suffisante.....	21
1-4- Effectuer un nombre de prélèvement suffisant.....	21
1-5- Milieux de l'hémoculture.....	22
1-6 – Acheminement.....	22
2- Identification bactérienne.....	22
2-1- Les méthodes manuelles.....	23
2-1-1- Examen macroscopique.....	23
2-2 - Détection automatisée.....	23
2-3- Repiquage et isolement.....	24
2-4 - Examen microscopique	24
3- Tests biochimiques et métaboliques.....	25
3-1- Test de l'oxydase.....	25

3-2- Identification par galerie biochimique classique.....	24
4- L'antibiogramme.....	27
4-1- Méthode de diffusion en gélose.....	29
5- Recherche de β -lactamase à spectre élargi (BLSE).....	30
5-1- Test de synergie	30
Résultats	
1- Identification macroscopique.....	32
1-1- Aspect macroscopique des flacons.....	32
1-2- Aspect macroscopique des colonies.....	32
2- Identification microscopique.....	34
3- Identification biochimique.....	34
3-1-Test de l'oxydase	34
3-2-Galeries biochimiques.....	34
4- Répartition globale des hémocultures selon la culture.....	36
5- Répartition globale des hémocultures selon l'agent causal.....	36
6- Répartition globale des souches isolées selon le Gram.....	37
7-Répartition globale des hémocultures selon le sexe.....	37
8-Répartition globale des bacilles à Gram négatif selon les groupes bactériens.....	38
8-1-Répartition des hémocultures en fonction des souches bactériennes isolées.....	38
9-Répartition globale des bacilles à Gram négatif selon le sexe	40
10- Répartition des souches isolées selon le service.....	41
11-Répartition des espèces bactériennes selon le service.....	41
12- Profil de résistance.....	43
12-1- Profil globale de résistance des bacilles à Gram négatif.....	43
12-2-Profil de résistance des entérobactéries.....	44
12-2-1-Profil de résistance aux antibiotiques des souches d' <i>Escherichia coli</i>	45
12-2-2-Profil de résistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	45
12-2-3- Profil de résistance aux antibiotiques d' <i>enterobacter spp</i>	46
12-2-4- Profil de résistance aux antibiotiques d' <i>Enterobacter cloacae</i>	47
12-2-5- Profil de résistance aux antibiotiques de <i>Salmonella heidelberg</i>	47
12-2-6- Profil de résistance aux antibiotiques de <i>Providencia spp</i>	48

12-2-7- Profil de résistance aux antibiotiques de <i>Proteus mirabilis</i>	49
12-2-8- Profil de résistance aux antibiotiques de <i>Citrobacter freundii</i>	49
12-2-9 Comparaison des taux de résistance des différentes espèces d'Entérobactéries.....	50
12-3- Profil de résistance des bacilles non fermentant	51
12-3-1- Profil de résistance aux antibiotiques des souches <i>Acinetobacter baumannii</i>	52
12-3-2- Profil de résistance aux antibiotiques des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52
12-3-3-Profil de résistance aux antibiotiques des souches <i>Acinetobacter spp</i>	53
12-3-4- Comparaison des taux de résistance des différentes espèces des bacilles non fermentant	54
13- La répartition globale des BLSE selon les espèces	56
13-1- Profil de résistance des souches de BLSE.....	57
13-1-1- Profil de résistance des souches <i>E.coli</i> BLSE.....	57
13-1-2- Profil de résistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE.....	58
Discussion	60
Conclusion	71
Références bibliographique	73
Annexes	
Résumé	

Introduction

Introduction

Les bactériémies continuent d'être une importante cause de morbidité et de mortalité, en dépit de la disponibilité des agents antimicrobiens puissants et de moyens de diagnostic sophistiqués. Ces infections sont classées comme étant la 11^{ème} principale cause de décès aux états unis, ce qui a représenté près de 36000 décès en 2008 (**Lachhab, 2014**).

Leur incidence est corrélée à l'augmentation de l'utilisation des cathéters veineux centraux ou périphériques. Le séjour en unité de soins intensifs et le non-respect des règles élémentaires d'asepsie et d'hygiène sont des facteurs de risque supplémentaires. Le taux de mortalité qui leur est attribué est élevé, notamment en cas de bactériémie poly microbienne, mais leur importance clinique est souvent sous-estimée en Afrique subsaharienne (**Okalla Ebongue et al., 2014**).

Par ailleurs, on sait que le terrain influence la mortalité et la morbidité des bactériémies. Ainsi, Les sujets immunodéprimés (porteurs De néoplasie ou d'hémopathie, sous corticothérapie, les cytopéniques ou les sujets séropositifs) sont plus fréquemment touchés (4-15%) (**Lankoande, 2002**).

Les bactériémies posent un problème majeur de prise en charge, il faut en effet trouver un compromis entre l'urgence du traitement et la difficulté à poser un diagnostic précis dans de brefs délais, elles constituent une urgence diagnostique et thérapeutique. Le moyen d'investigation le plus sûr pour confirmer une bactériémie est l'hémoculture qui est aux yeux de l'infectiologue un moyen essentiel pour reconnaître le germe responsable et tester sa sensibilité aux antibiotiques. Mais bien souvent, l'isolement du germe exige un long délai incompatible avec l'urgence de la situation (**Lankoande, 2002**).

La connaissance des principales espèces bactériennes responsables de bactériémies et de leur profil de sensibilité aux antibiotiques permet de donner une base objective à l'antibiothérapie probabiliste. Or, cet élément d'écologie bactérienne est en évolution permanente et la documentation microbiologique n'est pas toujours présente, en particulier dans notre région où les données sont rares.

Cette connaissance des espèces permet de réduire l'émergence et la diffusion de bactéries multi résistantes aux antibiotiques, qui viennent compliquer la prise en charge empirique des bactériémies (**Salou et al., 2014**).

Introduction

Dans cette optique, nous avons voulu mettre la lumière sur les bactériémies nosocomiales au niveau du centre hospitalo-universitaire de Constantine (CHUC) en analysant les statistiques d'hémoculture concernant une année (2016-2017) en plus d'un travail de paillasse de deux mois (mars-avril 2017).

Les objectifs de ce travail sont orientés vers:

- L'isolement et l'identification des germes en cause;
- La description du profil épidémiologique des isolats des bactériémies du centre d'étude (CHUC).
- La détermination du profil de résistance aux antibiotiques des principaux germes isolés.

*Synthèse
bibliographique*

1-Définition

1-1-infection

L'infection se définit par l'envahissement de l'organisme par un agent étranger, comme une **bactérie** ou un **virus**, provoquant un état pathologique par une lésion des cellules locales, une libération de substances toxiques ou par une réaction intracellulaire germe-anticorps (**Chablou, 2011**).

Une infection est: soit locale, soit généralisée, exogène (c'est-à-dire due à des germe qui proviennent de l'environnement), soit endogène.

1-2- Bactériémie

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 (**Thirion et al., 2010**).

Elle traduit le plus souvent par une infection localisée, parfois une infection endo-vasculaire (**Moudjongue Omock, 2014**).

- Nature des bactériémies

1-2-1 -Bactériémie primaire

Le germe pathogène isolé dans l'hémoculture n'est pas impliqué dans l'infection d'un autre site.

1-2-2- Bactériémie secondaire

Si le micro-organisme isolé dans l'hémoculture est déjà impliqué dans l'infection d'un autre site de l'organisme.

1-2-3- Pseudo bactériémie

Présence d'une hémoculture positive pour un ou plusieurs germes mais dont la croissance ne reflète pas la réalité clinique: **contamination**.

1-2-4 - Bactériémie nosocomiale

Survient **48h** après l'hospitalisation (**El bouderkou, 2015**).

2- Données physiopathologiques

Les bactériémies sont divisées selon trois schémas physiopathologiques suivant leur point de départ et l'existence ou non d'un relais endocirculatoire (**Vaubaudolle, 2007**) (**Figure 1**).

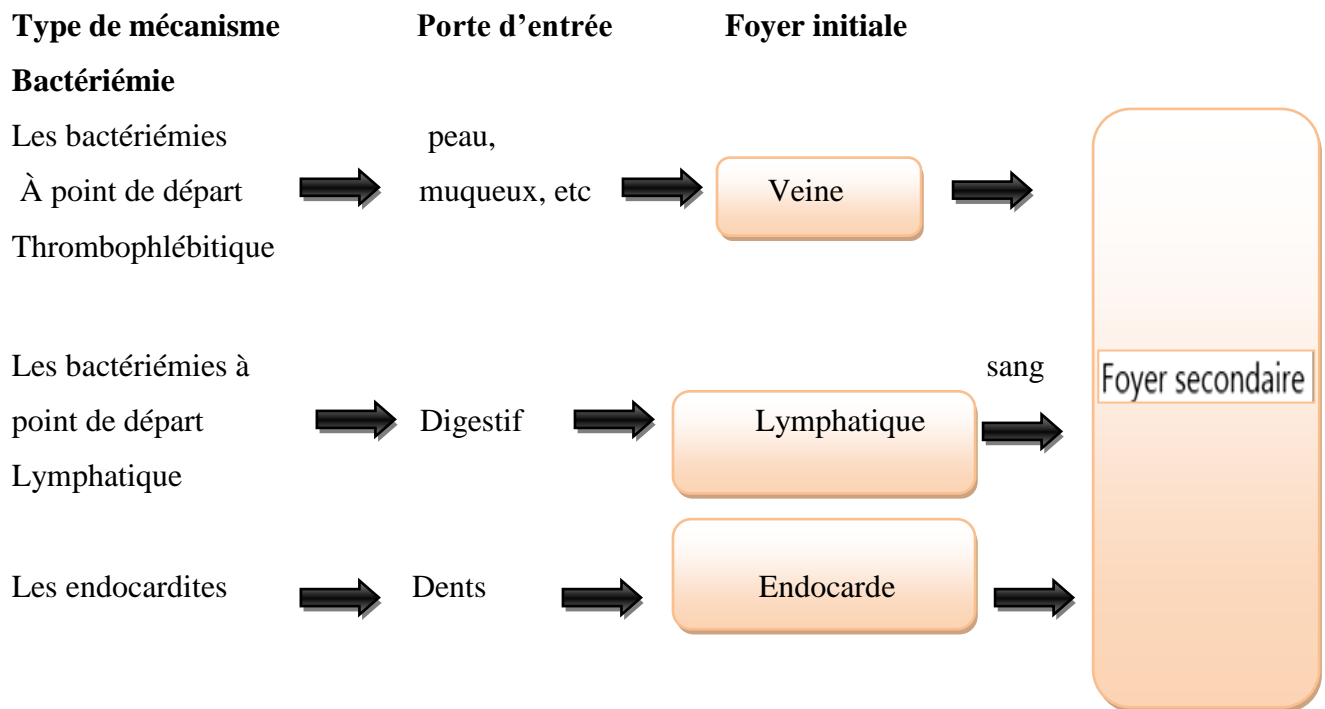


Figure 1: Les trois principaux mécanismes des bactériémies (**Lachhab, 2014**).

- La bactériémie peut être transitoire, intermittente ou continue:

2-1- La Bactériémie transitoire

Est une décharge de 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.

2-2- La Bactériémie intermittente

Est retrouvée dans les infections à Bacilles Gram négatif, les suppurations, la pneumonie et l'ostéomyélite. Elle survient, disparaît puis revient avec le même germe. Elle est classiquement associée à une infection cloisonnée, non ou mal drainée.

2-3- 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 autre foyer endovasculaire (Benzriouil, 2010).

3- 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 » (Trivalle, 2009). Dans notre étude on utilisera le terme bactériémie.

3-1- définition de la septicémie

La septicémie est une décharge massive, répétée et permanente de germes dans le sang à partir d'un foyer infectieux initial (Kouadio *et al.*, 2013).

Ce foyer s'est constitué lors du passage de bactéries exogènes par une porte d'entrée muqueuse ou tégumentaire, Le cadre général des syndromes dits « septiques » se présente sous trois stades de gravité croissante: (Figure 2).



Figure2: l'évolution de la gravité des syndromes septiques
(Moudjongue Omock, 2014).

5- L'origine de la bactériémie et les facteurs favorisants

5-1- l'origine de la bactériémie (nosocomiale ou communautaire)

Les bactériémies sont classées comme toutes les infections en communautaires et nosocomiales. Une bactériémie nosocomiale est généralement acquise dans un contexte de résistance bactérienne et elle est souvent associée à une procédure invasive tandis qu'une bactériémie communautaire se développe spontanément, sans association avec une intervention médicale et se produit dans un environnement microbien moins résistant (Vallés, 2008).

5-2- Les facteurs favorisant la bactériémie

Tableau1: Les facteurs favorisant part à port aux portes d'entrées pour les bacilles à Gram négatif (Pebret, 2003; Makki, 2007).

Portes d'entrée	Facteurs favorisants
Digestive	péritonite, sigmoïdite, angiocholite, chirurgie abdominale, cholécystite,... etc.
Uro-génitale	avortement, accouchement infecté, sonde urinaire,... etc.
Respiratoire	pneumopathie, trachéotomie, intubation,... etc.

6- Les différentes Portes d'entrée et localisation secondaire des bactériémies :

Les localisations secondaires dépendent des microorganismes, elles sont recherchées par l'examen clinique qui oriente les examens complémentaires. Les portes d'entrée et les principales localisations secondaires des bactériémies selon les microorganismes sont détaillées dans le tableau (**Tableau 2**).

Synthèse Bibliographique

Tableau 2 : Les portes d'entrée et les principales localisations secondaires des bactériémies selon les microorganismes.

Agents pathogènes	Porte d'entrée	Localisations secondaires
Coques Gram positif		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cutanée, vasculaire (cathéter, toxicomanie)	Endocardie, os, articulation, méninge, matériels étrangers implantés
Streptocoque du groupe A	ORL, cutanée	
Streptocoque du groupe B	Gynécologique, urinaire	
Streptocoque du groupe D	Digestive	Endocardie
Streptocoque non groupable	Dentaire	Endocardie
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pulmonaire	Méninges, articulations, péritoine, péricarde
Entérocoque	Digestive, urinaire	Endocardie
Bacilles Gram négatif		
Entérobactéries*	Urinaire, digestive, biliaire	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Digestive, urinaire, pulmonaire, site opératoire, vasculaire (cathéter)	
Anaérobies		
<i>Bacteroides spp.</i> , <i>Prevotella spp.</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i>	Digestives, gynécologique	Cerveau
<i>Fusobacterium spp.</i>	Pleuropulmonaire	Cerveau
<i>Clostridium perfringens</i>	Cutanée, gynécologique	

<http://www.cnerea.fr/UserFiles/File/national/desc-des/livre-masson-2015/infections/septicemie.pdf> .

6- Les symptômes et diagnostic

6-1- Les symptômes

Certains patients sont asymptomatiques ou ne présentent qu'une fièvre peu élevée. L'apparition de symptômes tels que :

- Tachypnée,
- Des frissons une fièvre persistante,
- Une altération de la conscience,
- Une hypotension,
- Des symptômes gastro-intestinaux (douleurs abdominales, nausées, vomissement et diarrhée) évoquent une sepsis ou choc septique (Allan, 2017).

6-2- diagnostic

Le diagnostic des bactériémies passe par l'isolement du germe responsable de l'infection au niveau du sang.

Le diagnostic positif de bactériémie repose sur la positivité des hémocultures. Des hémocultures doivent être réalisées en cas de suspicion clinique de bactériémie et dans le bilan de toute suspicion d'infection bactérienne sévère (Elbouderkou, 2015).

7- Hémoculture

7-1- Définition du sang

Le sang est un liquide rouge biologique circulant dans les artères et les veines sous l'impulsion du cœur.

Un individu en contient de 5 à 7 L de sang dans son corps, ce qui représente environ 8% de son poids total. Le sang est constitué de plasma, de globules rouges, de globules blancs et de plaquettes. Il distribue l'oxygène, les hormones et les nutriments à toutes les cellules, tous les tissus et tous les organes du corps pour, ensuite, les débarrasser de leurs déchets. Le sang joue aussi un rôle dans la défense immunitaire.

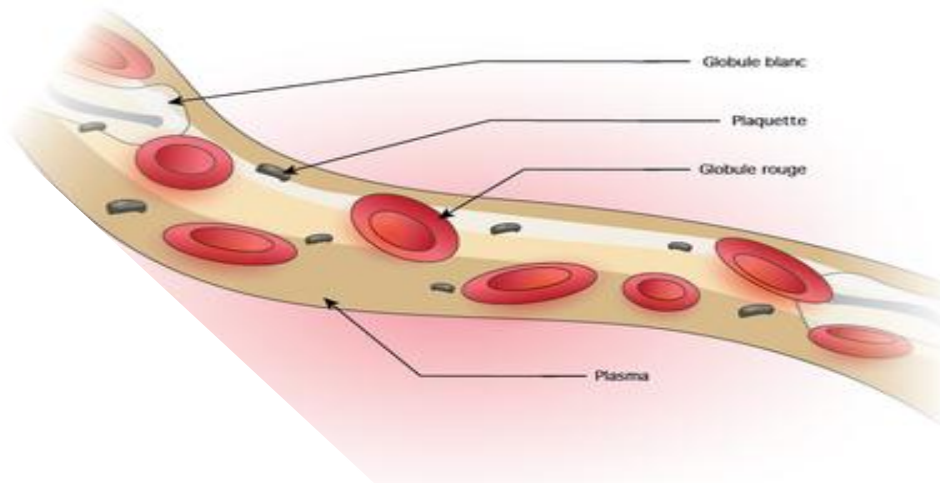


Figure 3: Compositions du sang

<http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/23699-sang-definition>

7-2- Définition d'hémoculture

L'hémoculture est un examen essentiel en bactériologie médicale, qui permet de mettre en évidence le passage des micro-organismes dans le sang, de les identifier et de caractériser leur profil de sensibilité aux anti-infectieux. De très nombreux agents pathogènes peuvent être isolés à partir d'hémocultures. Ils sont soit d'origine communautaire, soit acquis à l'hôpital (Berrezzouk, 2008).

8- Le Traitement

En cas de suspicion de bactériémie, des antibiotiques sont administrées de manière ampérique après les prélèvements bactériologiques nécessaires. Un traitement continu implique l'ajustement de l'antibiothérapie selon les résultats de la culture et de l'antibiogramme et, le drainage d'éventuels abcès et habituellement l'ablation de tout dispositif interne susceptible d'être à l'origine de la bactériémie (Allan, 2017).

Synthèse Bibliographique

Tableau représente les différents antibiotiques testés pour les bactéries à Gram négatif (Tableau 3).

Tableau 3 : Antibiotiques testés pour les bacilles à Gram négatif (Labani, 2016).

Bêtalactamines	Pénicillines	Ampicilline
		Amoxicilline
		Ticarilline
		Pipéracilline
	Carbapénèmes	Imipénème
		Ertapénème
	Monobactame	Aztréonam
	Inhibiteurs de bêtalactamase	Amoxicilline-Acide clavulanique
		Tiracilline Acide-Clavulanique
		Pipéracilline-Tazobactam
	Céphalosporines	Céfalotine
		Céfépime
		Céfoxitine
Céfixime		
Ceftriaxone		
Céfotaxime		
Ceftazidime		
Aminosides	Gentamicine	
	Tobramycine	
	Amikacine	
Quinolones	Ciprofloxacine	
	Norfloxacine	
Autres	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	
	Fosfomycine	

9- Etiologie

9-1 Coccis à Gram positif

Ces espèces sont largement représentées dans la flore commensale de la peau et des muqueuses. Leur présence devra être discutée pour éliminer ce qui est une contamination accidentelle et la différencier d'une bactérie impliquée dans un processus infectieux véritable. Elles sont anaérobies et aérobies strictes ou aéro-anaérobies facultatives (**Lankonade, 2002**).

9-2 Les bacilles à Gram négatif

Les bacilles à Gram négatif occupent une place importante en pathologie humaine. Généralement, on les divise en deux grands groupes : les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (**Liassine, 2000**).

9-2-1 Les entérobactéries

- Historique et Taxonomie

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. La création de ce groupe a été proposée par **Rahn en 1937** qu'il dénomma enterobacteriaceae et dans lequel il rassembla les genres bactériens déjà décrits (tels que: *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Shigella*) dans le genre unique **Enterobacter**.

Les entérobactéries sont des **Eubactéries**, appartiennent à la division des **Proteobacteria**, la classe des **Gammaproteobacteria**, à l'ordre des **Enterobacteriales** et à la famille des **Enterobacteriaceae** (**Joly et Reynaud, 2002**).

Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique dont les principaux sont : *Escherichia*, *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (**KES**), *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella-Shigella(SS)*, *Yersinia* (**Zouhdi, 2009**).

On peut les classer dans le tableau suivant :

Synthèse Bibliographique

Tableau 4: Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine (Pilet *et al.*, 1979).

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

- Habitat

Le nom d'entérobactéries a été donné parce que ces bactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques, suivant les espèces microbiennes, du tube digestif de l'homme et des animaux.

On les trouve aussi dans la cavité buccale, au niveau des vois aériennes supérieures et sur les organes génitaux. On les rencontre dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires (**Fauchère et Avril, 2002; Achkour, 2012**).

- Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène des entérobactéries chez l'homme est considérable. Les infections sont soit bien définies et peuvent concerner tous les sujets soit non spécifiques touchant les sujets immunodéprimés, en particulier ceux qui sont hospitalisés. Dans la majorité des cas, l'origine de l'infection est soit endogène à partir des flores bactériennes, soit exogène provenant de milieu extérieur. Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections (**communautaires et nosocomiales**) (**Medboua, 2011**).

Etude des principaux genres

1-*Escherichia coli*

-Définition et habitat

Escherichia coli (**colibacille**) est une entérobactérie **mobile** capable de **fermenter le lactose** et de **produire de l'indole**.

Hôte normal de l'intestin et des animaux, c'est l'espèce aérobie la plus représentée dans le tube digestif. La présence de colibacilles ou espèces voisines dans l'eau est un témoin de contamination fécale (**Bakhoun, 2004**).

- Caractéristiques

Escherichia coli exprime les caractères généraux des entérobactéries:

- Fermente le lactose,
- Production d'indole (milieu kligler),
- Gazogène,
- Souvent pas de production de H₂S,
- Uréase négative,
- Pas d'utilisation de citrate et pas de formation d'acétoïne (**Biomerieux, 2004**).

- Pouvoir pathogène

- Infections extra-intestinales: Infections urinaires.
- Infections extra-intestinales :
 - Infections abdominales : cholécystites, péritonites, appendicites.
 - Infections génitales : prostatites.
 - Infections ostéo-articulaires.
 - Bactériémies. Méningites néonatales et neurochirurgicales.
- Infections puerpérales.
 - Infections de plaies chirurgicales (nosocomiales).
 - Infections intestinales : diarrhées infectieuses (**Allag, 2003**).

2- Klebsiella

- Définition

Au sein des entérobactéries, les bactéries du genre *Klebsiella* se distinguent par leur immobilité constante, leur groupement en diplobacilles généralement encapsulés, Connue autrefois sous le nom de pneumobacille de Friedlander.

Klebsiella pneumoniae est une bactérie commensale de l'intestin, des voies respiratoires et des animaux (**Baerwolf et al., 2002**).

-Habitat

Klebsiella pneumoniae est une espèce ubiquiste, isolée des eaux de surface, des eaux usées, des effluents industriels, du sol, du bois, de végétaux divers (**Dong et al., 2003**) et des aliments. Elle est également retrouvée dans la flore fécale d'environ 30% des animaux et de l'homme, elle existe à l'état commensal sur la peau et les muqueuses, notamment respiratoires (**Sekhri Arafa, 2011**).

- Caractéristiques

Ce sont des bactéries à Gram négatif, immobiles, capsulés, surtout au sortir de l'organisme, très polymorphes.

- **Sur gélose** : les colonies de type mucoïde ont un aspect caractéristique; elles sont volumineuses (4 mm de diamètre), bombées, brillantes, opaques et souvent confluentes.

- **En bouillon** : on note la formation d'un trouble dense avec colorette visqueuse.

Klebsiella pneumoniae est en général :

- Gazogène,
- Fermente le lactose,
- Possédant une catalase,
- Urée positive,
- Indole négative, VP positive ou production d'acétoïne (**Achkour, 2012**).

- **Pouvoir pathogène**

Chez l'homme, elle est l'agent des pneumopathies aiguës, d'angines, d'otites, de cystites et d'affections rénales.

Klebsiella provoque des infections urinaires (5 % des infections en ville) et des surinfections des bronches chez les bronchitiques chroniques, voire des abcès du poumon (**Achkour, 2012**).

9-2-2 Les bacilles à Gram négatif non fermentaires

- **Définition**

Sont des bactéries aérobies strictes, caractérisées par un mode de production énergétique ne faisant pas intervenir la fermentation. Parmi les bacilles à Gram négatif 10 à 15% sont des BNF dont les 3/4 appartiennent à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*. Les autres espèces appartiennent aux genres: *Stenotrophomonas*, *Burkholderia*, *Acinetobacter* et *Achromobacter* (**Martin, 2011**).

-**Caractéristiques**

- **Caractères morphologiques et culturels**

Les bacilles à Gram négatif se présentent sous forme de bacilles longs et fins à extrémité effilée (*Pseudomonas*) mais également sous forme de diplobacilles à extrémité arrondie avec des formes coccoïdes et longues (*Acinetobacter*). Ils sont immobiles (*Acinetobacter*) ou mobiles.

En général, les bacilles à Gram négatif non fermentaires croissent sur milieux simples comme la gélose Tryptone-Caséine Soja (TSA) et la gélose lactosée de Drigalski. Certaines de ces bactéries élaborent des pigments :

- la pyocyanine, pigment bleu-vert, est pathognomonique de *Pseudomonas aeruginosa*.

- des pigments allant du jaune pâle au jaune orangé peuvent être produits par diverses espèces au sein des genres *Pseudomonas*, *Flavobacterium* et *Xanthomonas* (Diop, 2001).

9-2-2-1 Etude des principaux genres

1- *Pseudomonas*

- Définition et caractéristiques

Ce sont des bacilles à Gram négatif, aérobies stricts, possèdent une oxydase, non fermentaires, mobiles par une ciliature polaire, respirant ou non les nitrates, oxydant ou non le glucose.

Les espèces les plus fréquemment isolées en milieu médical sont : *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*. *Pseudomonas aeruginosa* (Schuster, 2001).

- Habitat

Ces bactéries occupent des niches écologiques variées, mais se retrouvent plus particulièrement dans les milieux humides tels que les eaux douces, les eaux de mer et les eaux thermales. Elles sont considérées comme une flore commensale chez l'homme ou l'animal.

Certaines jouent un rôle pathogène dont *Pseudomonas syringae* chez les plantes et *Pseudomonas aeruginosa* chez l'homme et l'animal (Avril et al., 2000).

- Pouvoir pathogène

Les *Pseudomonas* sont peu virulents pour l'individu normal, par contre ils sont considérés comme des agents infectieux redoutables lorsque les défenses immunitaires du sujet sont altérées. Les malades particulièrement sensibles sont les nourrissons, les personnes âgées, les sujets atteints d'affections graves, chroniques, métaboliques (**diabète**) mais surtout hématologiques ou cancéreuses. Chez les brûlés, cette infection est l'une des causes majeures de mortalité (Avril et al. 2000).

2- *Acinetobacter*

- Définition et caractéristiques

Les bactéries du genre *Acinetobacter* qui appartiennent à la famille des Moraxellaceae et *Acinetobacter baumannii* est l'espèce la plus fréquemment identifiée dans les infections humaines.

Synthèse Bibliographique

Ce sont des coccobacilles, courts, Gram négatif, non sporulés, parfois capsulés, immobiles (mais pouvant présenter une mobilité par saccade résultant de la présence de fimbriae polaires) (Peleg *et al.*, 2008).

- Habitat

Acinetobacter ssp est un germe ubiquitaire retrouvé dans les sols, l'eau potable, les eaux de surface ainsi que dans diverses denrées alimentaires.

Des souches d'*Acinetobacter ssp* sont fréquemment isolées des eaux usées et des

Boues activées des stations d'épuration (Lambert, 2007).

- Pouvoir pathogène

L'incidence des infections à *A. baumannii* a considérablement augmentée durant les 20 dernières années. En particulier dans les unités de soins intensifs et de chirurgie, des services où le risque de colonisation et d'infection est important, vu le terrain particulier des patients et la fréquence des manœuvres invasives (Giamarellou *et al.*, 2008).

9-2-3-Brucella

-Définition

Les *Brucella* sont de petits bacilles à Gram négatif, aérobies stricts, oxydase positifs, catalase positive.

Ce sont des coccobacilles de 0,5 à 1,5 µm de long et 0,5 à 0,7 µm de diamètre, non capsulés, la plus part des souches isolées en pathologie humaines produisant une uréase d'action rapide et intense qui comprennent trois espèces principales *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, qui sont responsables d'une maladie animale transmissible à l'homme, la brucellose (Fièvre de Malte)(Denis *et al.*, 2007).

-Pouvoir pathogène

Les *Brucella* sont responsables d'infections génitales avec avortement chez les femelles et lésions testiculaires chez le mâle. Ils sont responsables de septicémie subaiguë avec localisations viscérales multiples (articulaires, neuroméningéesetc ...).

Brucella pénètrent dans l'organisme par plusieurs voies: cutanée, digestive, respiratoire, puis gagnent par voie lymphatique le premier relais ganglionnaire.

Elles se multiplient et disséminent dans tout l'organisme par voie lymphatique et sanguine, ces germes sont phagocytés plus au moins rapidement par les macrophages puis détruits avec libération d'antigène et d'endotoxine (**Khetab *et al.*, 2010**).

10- Les antibiotiques

10-1- Définition

Toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi-synthétique capable d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (**Lavigne *et al.*, 2008**).

L'action antibactérienne s'effectue selon quatre principaux mécanismes :

- Une inhibition de la synthèse des constituants de la paroi,
- Un blocage de la synthèse des protéines,
- Un blocage de la synthèse des acides nucléiques
- Une altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique (**El bouderkou, 2015**).

11- La Résistance Bactérienne aux Antibiotiques

11-1- Définition

Le terme « résistance aux antibiotiques » repose sur deux définitions:

-Une souche est résistante lorsque la concentration d'ATB qu'elle est capable de supporter est notamment plus élevée que la concentration atteignable *in-vivo*.

-Une souche est dite « résistante » lorsqu'elle supporte une concentration d'ATB notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (**Grappin *et al.*, 2007**).

11-2- Types de résistance

-La résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les cellules de toutes les souches.

Elle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (**Fauchère et Avril, 2002**).

-La résistance acquise

Contrairement à la résistance naturelle, la résistance acquise intéresse certaines souches au sein d'une espèce bactérienne normalement sensible à cet antibiotique. **(El bouderkou, 2015).**

-la résistance croisée et Co résistance

La résistance croisée résulte d'un seul mécanisme biochimique et concerne des antibiotiques appartenant à la même famille.

La Co résistance est liée à plusieurs mécanismes (plusieurs gènes de résistance impliqués) et concerne des antibiotiques appartenant à différentes familles **(Sekhri Arafa, 2011).**

*Matériel et
Méthodes*

▪ **MATERIEL**

1- Centre de l'étude

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie du **C.H.U BENBADIS** de Constantine.

2- Durée de l'étude

Il s'agit d'un travail de paillasse de deux mois (**1 mars – 30 avril**), et puis une étude rétrospective d'une année (**2016 – 2017**) basée sur l'interprétation des résultats des hémocultures à partir des registres et des antibiogrammes des archives du laboratoire de microbiologie du **C.H.U BENBADIS** de Constantine.

3- Taille de l'échantillon

Durant la période de notre étude un total de **512** souches a été isolé des patients hospitalisés au niveau des différents services.

Les variables recueillies étaient:

- Fréquence des hémocultures.
- Répartition en fonction du service.
- Sexe du patient.
- Germes isolés.
- Sensibilité aux antibiotiques des isolats.

▪ **Méthodes**

Pour mettre en évidence la présence ou l'absence des microorganismes pathogènes dans le sang et d'étudier leur sensibilité aux différents antibiotiques, l'hémoculture est la technique microbiologique utilisée.

1- Prélèvement

C'est le préalable essentiel à tout examen de bactériologie. Le prélèvement de sang pour hémoculture doit répondre à plusieurs critères ou exigences :

- Mode de prélèvement

1-1- Quand prélever ?

Pour éviter toute fausse négative, il est impératif de pratiquer le prélèvement le plus tôt possible au cours de la maladie et surtout avant toute mise en route d'antibiothérapie (El mouali, 2012).

1-2- Eviter les contaminants et travailler en sécurité

- ✓ Le prélèvement doit être réalisé d'une façon stérile par ponction d'une veine superficielle, habituellement au pli du coude.
- ✓ Après un lavage antiseptique des mains de l'opérateur, la désinfection de la peau du malade est réalisée avec de l'alcool à 70 % puis un produit iodé. Une à deux minutes de contact est nécessaire pour obtenir l'effet antiseptique maximal de la polyvidone iodée.
- ✓ La désinfection du capuchon du flacon d'hémoculture doit être réalisée avec de l'alcool à 70 %.
- ✓ La ponction veineuse est la seule méthode fiable pour prélever du sang en vue de la culture (Berrezzouk, 2008).

1-3-Prélever une quantité de sang suffisante

Le nombre de bactéries par ml de sang étant en général faible, il importe de prélever une quantité suffisante de sang (Moudjongue Omock, 2014).

Un volume de 20 ml de sang prélevé augmente le pourcentage de positivité de 30%, comparativement à un volume de 10 ml qui est le minimum souhaitable chez l'adulte.

Chez l'enfant, la densité des bactéries dans le sang est plus importante que chez l'adulte (Berezzouk, 2008).

1-4- Effectuer un nombre de prélèvement suffisant

Deux à trois hémocultures par 24 heures, espacées de 30 à 60 minutes, sont généralement suffisantes pour isoler le germe responsable de la bactériémie (Denis et Cécile, 2007).

1-5- Milieux de l'hémoculture

Deux milieux biologiques; l'un incubé en aérobiose, l'autre en anaérobiose; ont pour but de cultiver les germes et d'améliorer la chance de les détecter précocement, à condition de doubler le volume du sang inoculé, ce qui accroît la sensibilité de l'hémoculture.

Les milieux de culture peuvent être :

- liquides : Bouillon trypticase soja = aérobie ; Bouillon thioglycolate = anaérobie.
- bi phasique (**Flacon Castaneda**) : qui est le plus utilisé.

Ces deux milieux permettent la culture de la plupart des bactéries rencontrées en pathologie humaine et contiennent un anticoagulant comme Le poly anéthol sulfonates de sodium (SPS) (**Accrombessy et Doussoh, 2014**) qui est utilisé dans la majorité des cas à une Concentration comprise entre **0,025 % et 0,05%**. En plus de l'activité anticoagulante, le **SPS** empêche la phagocytose et inactive le complément et certains antibiotiques (**Bergogne Bérézin, 1992**).

1-6 - Acheminement

Les hémocultures doivent être acheminées le plus rapidement possible au laboratoire afin d'être introduites dans l'automate le plus tôt possible.

Nous avons reçus les hémocultures qui doit être étiquetée correctement et accompagnée d'une demande sur patient; le service d'origine; la date, l'heure et le mode de prélèvement ainsi que la température du patient au moment où il est effectué, sans oublier une éventuelle antibiothérapie et le nature de celle-ci (**El mouali, 2012**).

2- Identification Bactérienne

Dès l'arrivée au laboratoire, les flacons d'hémoculture sont incubés à l'étuve à **37°C**. Ils sont examinés chaque jour.

Généralement, la culture se développe en **1 à 3 jours** mais il est de règle de conserver les milieux de culture à l'étuve pendant **10 jours** (**Kane Diop, 2001**).

- Les méthodes de détection

On distingue les techniques dites conventionnelles ou manuelles et les techniques faisant appel à des automates (**Annexe 1**).

2-1- Les méthodes manuelles

2-1-1- Examen macroscopique

La durée d'observation varie d'une semaine à un mois selon les laboratoires. La majorité des hémocultures se positivent en **2 à 3 jours** et au plus dans les cinq jours. Il faut donc conserver les flacons pendant une semaine sauf si des données cliniques font suspecter une brucellose ou une septicémie à bactérie à croissance lente.

Avec une certaine habitude, il est possible en fonction de l'aspect d'un flacon de pressentir l'identité de la bactérie en cause (**Benzriouil, 2010**).

La croissance est testée par :

- Un dépôt flocculeux au-dessus de la couche d'hématies;
- Une hémolyse;
- Une coagulation du bouillon;
- Une pellicule de surface;
- La production du **CO₂**;
- La présence de grains blancs à la surface ou à l'intérieur de la couche de sang (**Sékou Koné, 2009**).

2-2- Repiquage et isolement

Tout flacon positif (**flacon classique ou flacon du système Bactec**) est soumis à l'examen direct et à la subculture.

Quelques gouttes sont prélevées etensemencées par des stries serrées (**4 cadrons**) sur quatre milieux d'isolement.

Les milieux de culture utilisés sont :

- **Gélose au chocolat**

Sa préparation est la même que la gélose au sang frais accompagné d'un autoclavage. La cuisson permet de libérer certains facteurs de croissance (tels que **l'hémine qui est précurseur de coenzyme, transporteur d'électrons des cytochromes, NAD**), aussi la destruction de certains inhibiteurs Milieu enrichi utilisé pour les germes exigeants (**exemple: *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *Haemophilus...***) (**Benzriouil, 2010 ; Berezzouk, 2008**).

- **Gélose Hecktoen**

C'est une gélose de base nutritive et contenant trois glucides (**lactose, saccharose, salicine**), du bleu de bromothymol (**BBT**) comme indicateur de pH, de la fuchsine acide qui se colore en présence d'aldéhyde, des ions de **Fe³⁺**.

La gélose Hecktoen contient une concentration élevée en sels biliaires qui inhibe la croissance des bactéries Gram positif (**Benhanna *et al.*, 2006**) (**Annexe 2**).

2-3 - Examen microscopique

La coloration de Gram permet d'orienter le diagnostic. La mobilité lorsqu'elle existe est évidente (**Kane Diop, 2001**) (**Annexe 3**).

3- Tests biochimiques et métaboliques

3-1 - Test de l'oxydase

La recherche de l'oxydase, plus précisément du cytochrome C2 permet nous la différenciation d'un certain nombre de bacilles à Gram négatif non fermentatifs (**oxydase positive**) des entérobactéries (**oxydase négative**).

Le réactif utilisé est une solution aqueuse à 1% de tétraméthyl -p-phénylènediamine, elle est incolore à l'état réduit et bleue-violette à l'état oxydé.

➤ **Technique :**

- Laisser tomber une goutte du culot sur un buvard imbibé de réactif.
- La réaction est positive si une coloration bleu-violette apparaît dans les **5-10 secondes (Yersin et Viénet, 2008)**.

3-2- Identification par galerie biochimique classique

Après la coloration de Gram (observation microscopique) et ensemencement sur les milieux gélosés (observation macroscopique) les souches sont identifiées selon les méthodes classiques.

Les genres et les espèces sont différenciés sur la base des caractères biochimiques étudiés sur des milieux rassemblés dans la galerie d'identification (fermentation des sucres, décarboxylation d'acides aminés, production d'indole, d'acétoïne,...etc.). Dans notre étude ont utilisé la galerie classique des *Entérobactéries*, elle est composée de 6 milieux pour 6 tests biochimiques (**tableau4**) (**Annexe 4**).

Matériel et Méthodes

Tableau 5 : Caractères biochimiques des entérobactéries.

Milieux de culture	Test recherché	Ensemencement	Incubation	Réactifs à Ajouter	Résultats Positifs	Résultats négatifs
TSI Gélose (Glucose- Lactose- Saccharose)	Fermentation du : -Lactose -Glucose -Saccharose	-Stries serrées pour la pente. -Simple piqûre pour le culot	24h à 37°C		Pente jaune. Culot jaune.	Rouge brin.
	Production du Gaz.				Bulles d'air à l'intérieur de la gélose ou fissure de la gélose.	Pas de changement de l'aspect de la gélose.
	Production de H ₂ S.				Noircissement	Absence de noircissement
Citrate de Simmons	Utilisation du citrate de sodium comme source de carbone et d'énergie	Stries longitudinales de la pente.	37°C		Bleu	Vert
Mannitol-mobilité	Fermentation du mannitol Mobilité	Piqûre centrale	37°C		Jaune	Rouge
					Formation d'un voile en axe central	Absence d'anneau rouge, ou anneau jaune
Eau peptonée exempte d'indole	Production d'indole à partir du Tryptophane	Quelques gouttes de suspension bactérienne	37°C	Kovaks	Formation d'un anneau rouge à la surface	Absence d'anneau rouge.
Urée-Indole	Hydrolyse de l'urée	Quelques gouttes de suspension bactérienne	37°C		Rouge, rose à violet	Orange
Clark et Lubs	Production des acides organiques et des acides mixtes	Quelques gouttes de suspension bactérienne	37°C	VP	Apparition d'anneau rouge	Absence d'anneau rouge
				RM	Rouge	Jaune

TSI = Triple Sugar Iron **VP**= Vogs Proskauer **RM** = Rouge de Méthyle

L'identification biochimique peut se faire également par les galeries API 20E pour les entérobactéries et par API 20NE pour les bactéries non fermentaires (BNF) (indisponible au laboratoire de notre travail).

4- L'antibiogramme

L'antibiogramme est ne concerne que les hémocultures positives, il comprend la technique de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (Berrezzouk, 2008).

Dans notre étude, 13 antibiotiques ont été testés:

➤ **Parmi les β -lactamines :**

amoxicilline(AMX), ticarcilline(TIC), pipéracilline(PIP), ceftazidime(CAZ), céfazoline(CAZ), céfoxitine(FOX), céfotaxime(CTX), imipenème(IMP).

➤ **Parmi les aminosides :**

Amikacine(AK), gentamicine(GM).

➤ **Concernant les quinolones :**

ciprofloxacine (CIP) et autres : colistine (CO), et comme sulfamide : l'association triméthoprim sulfaméthaxazole (SXT).

ANTIBIOGRAMME : BACILLES NON FERMENTANTS

NOM : PRENOM : AGE :

NATURE DE PRELEVEMENT : SERVICE :

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

CARBENICILLINE	KANAMYCINE		
TICARCILLINE	TOBRAMYCINE		
PIPERACILLINE	GENTAMICINE		
TICARCILLINE+ ACLAVULANIQUE	AMIKACINE		
PIPERACILLINE+ TAZOACTAM	PEFLOXACINE		
CEFTAZIDIME	CIPROFLOXACINE		
CEFEPIME	SULFAMETHOXAZOLE		
CEFTIPIROME	TRIMETOPRIME		
CEFSULODINE	SULFAMETHOXAZOLE+ TRIMETOPRIME		
AZTREONAM	COLISTINE		
IMPENEME	CHLORAMPHENICOL		
FOSFOMYCINE			

sensible, R : résistant, I : intermédiaire

N° : _____

ANTIBIOGRAMME - ENTEROBACTERIE

Nom Prénom Age.....

Nature du Prélèvement..... Service :

Diagnostic Bactériologique :

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

S = SENSIBLE

Figure 4 : les fiches d'antibiogrammes testés pour entérobactéries et pour bacilles non fermentaires.

4-1- Méthode de diffusion en gélose

Dans notre étude, nous avons adopté la méthode du CLSI.

❖ **Technique : (tableau 6)**

Tableau 6: les étapes de la méthode de diffusion en gélose.

Le milieu	L'inoculum	L'ensemencement
<p>-La gélose Mueller–Hinton (MH) coulée en boîte de Pétri sur une épaisseur de 4 millimètre</p> <p>-elle peut être additionnée de 5 % de sang de cheval ou de mouton pour les bactéries plus exigeantes.</p> <p>-Les géloses sont séchées avant l'utilisation.</p>	<p>-A partir d'une culture pure de 18 à 24h sur milieu d'isolement, on prélève à l'aide d'une anse ou une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées qu'on dissocie dans 10ml d'eau physiologique stérile</p> <p>- bien homogénéiser la suspension bactérienne, sa charge doit être équivalente à 0,5 Mac Farland (correspond à environ 10⁸ bactéries/ml) (Medboua, 2011).</p>	<p>-Tremper l'écouvillon dans la suspension bactérienne.</p> <p>-Essorer l'écouvillon sur la paroi interne de tube de suspension</p> <p>-Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface, de haut en bas, en stries serrées.</p> <p>-Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois</p> <p>-Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.</p> <p>-Déposer les disques d'antibiotiques à tester.</p> <p>-Incuber les boîtes pendant 24h à 37°C (Sekhri-Arafa, 2011).</p>

❖ **Lecture et interprétation :**

Les résultats sont exprimés en mm après lecture des diamètres des zones d'inhibition et sont interprétés en trois catégories : **S**= sensible, **R**= résistant, **I**= intermédiaire, En se référant aux normes **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (Annexe5)**.

5- Recherche de β -lactamase à spectre élargi (BLSE)

Les β -lactaminases sont des enzymes plasmidiques qui hydrolysent toutes les β -lactamines sauf les céphamycines et les carbapénèmes.

Elles sont principalement retrouvées chez *Escherichia coli* en milieu communautaire et *Klebsiella pneumoniae* en milieu hospitalier. Elles peuvent être sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases (Salam, 2014).

- Recherche de BLSE

5-1- Test de synergie

Il consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamases et un disque C3G (ceftriaxone, ceftazidime, et cefotaxime) ou un monobactam (aztréonam). L'image de synergie dite en bouchon de champagne est caractéristique de la présence de BLSE.

Selon la technique du (CLSI) de l'antibiogramme, un inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18h. La gélose Mueller-Hinton estensemencée selon la méthode préconisée par (CLSI), puis deux disques, l'un contenant l'association amoxicilline-acide clavulanique et l'autre une céphalosporine de troisième génération, sont placés côte à côte à 3cm de distance mesurés centre à centre. Les boîtes de pétri sont incubées 18 h à 37° C (Sekhri-Arafa, 2011).

La lecture du test de synergie s'avère souvent délicate pour cela des tests complémentaires doivent être pratiqués: comme le test du double disque (Test espagnol).

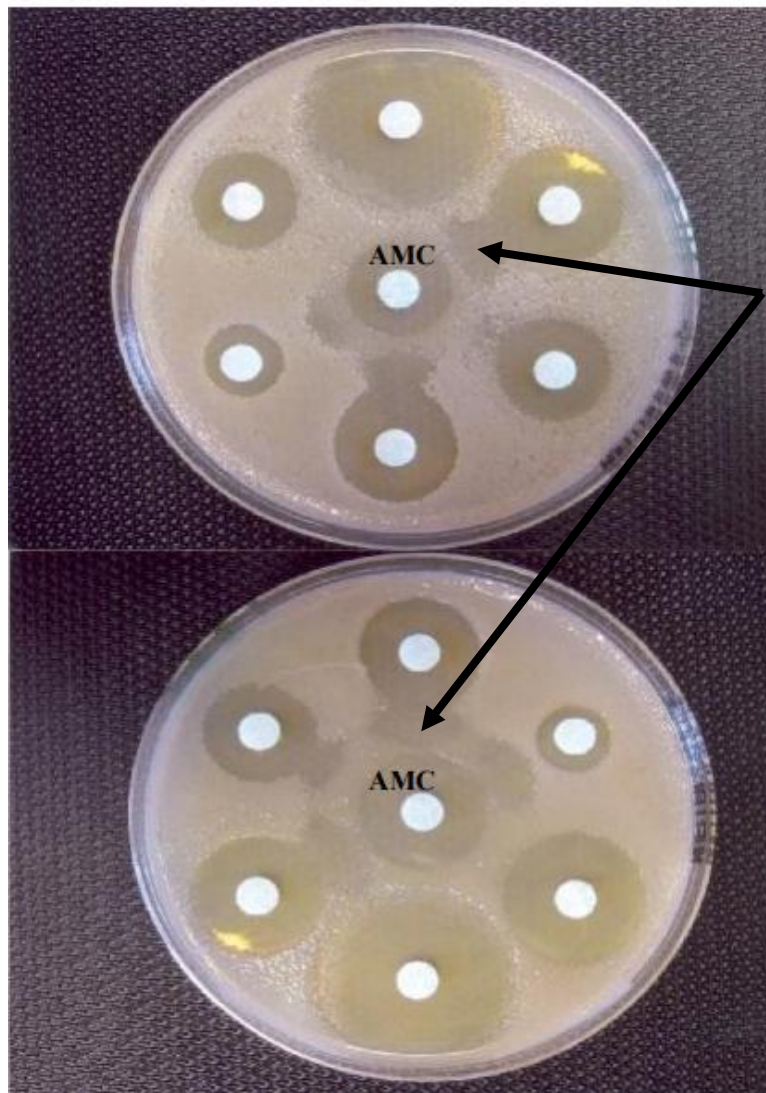


Figure 5 : image de synergie entre AMC et β -lactamine de *K.pneumoniae* (CAZ, CTX, ATM, CRO, CFP, IMP).

Résultats

1- Identification macroscopique

1-1- Aspect macroscopique des flacons

Le tableau ci-dessous présente l'orientation présomptive des bactéries responsables de la bactériémie en fonction de l'aspect du flacon d'hémoculture.

Tableau 7 : aspect macroscopique des flacons.

Signe observé	Bactérie en cause
Turbidité	Bacilles à Gram négatif aérobies, Staphylocoque, Bactéroïde.
Production de gaz	Bacilles à Gram négatif aérobies anaérobies.

1-1- Aspect macroscopique des colonies

Le tableau 7 présente les différents aspects macroscopiques des colonies, après l'incubation des boîtes à 37°C pendant 18 à 24 h, certains bacilles à Gram négatif se présentent comme indiqué sur le tableau :

Tableau 8: les différents aspects macroscopiques des colonies observées sur les milieux de culture.

Bactérie	Aspect des colonies
<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	Colonies grosses sèches de taille irrégulières de diamètre de 2 à 3 mm , de forme circulaire, lisses, à bord régulier, (lactose positif)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (<i>K.p</i>)	les colonies de type mucoïde, elles sont volumineuses de 3 à 4 mm , brillantes, opaques, rondes, bombées et muqueuses d'une couleur orange ressemblant à des gouttes de miel (lactose positif).

Résultats

Salmonella Les colonies apparaissent lors de l'isolement et diffèrent d'un milieu à une autre :

- Sur **Hektoen** : Colonies de **2 à 4 mm** de diamètre couleur verte avec ou sans centre noir.
- **Milieu SS** : les colonies apparaissent incolores (**Lactose négatif**) à centre noir (**production d'H₂S**).

Enterobacter Colonies brillantes, opaques, souvent d'aspect assez gras, légèrement bombées et muqueuses de couleur jaune (**lactose positif**).

Proteus Colonies donnant un aspect de nappe de diamètre de **0,5 à 1 mm** bleues, translucides avec une odeur désagréable.

Acinetobacter baumannii colonies de **1 à 2 mm**, lisses, à bordure nette, souvent muqueuses de couleur blanc-jaunâtre, (**lactose négatif**).

Pseudomonas aeruginosa colonies de **2 mm** de diamètre, mates, de couleur verte (**lactose négatif**), possèdent une odeur caractéristique (**acacia ou seringa**).

Brucella petites colonies de **0,5 mm** de diamètre, lisses, translucides, à bord régulier, parfois d'une couleur miel.

(Suite de tableau 8)

2-identification microscopique

Après coloration, l'observation sous microscope permet d'obtenir les résultats suivants :

- ***Enterobacter*** : bacilles à Gram négatif.
- ***E.coli*** : bacilles droit à Gram négatif.
- ***Proteus*** : bacilles à Gram négatif polymorphes pouvant apparaitre en formes très courtes.
- ***Klebsiella pneumoniae*** : diplobacilles à Gram négatif capsulés, très polymorphes.
- ***Salmonella*** : bacilles à Gram négatif.
- ***Acinetobacter baumannii*** : diplobacilles à Gram négatif, à extrémités arrondies avec des formes coccoïdes et longues isolées en courtes chaînettes, formes filamenteuses dans les cultures âgées.
- ***Pseudomonas aeruginosa*** : sont des petits bacilles à Gram négatif, longs et fins à extrémité effilée, droits, ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles.
- ***Stenotrophomonas*** : C'est un bacille à Gram négatif assez fin, de longueur moyenne, polymorphe.
- ***Brucella***: sont de petits coccobacilles à Gram négatif.

3-Identification Biochimique

3-1-Test de l'oxydase

En fonction du délai d'apparition de la coloration, on a :

- ***Entérobactéries (oxydase négative)***.
- ***Acinetobacter (oxydase négative)***.
- ***Pseudomonas aeruginosa (oxydase positive après 20 à 30 secondes)***.
- ***Stenotrophomonas maltophilia (oxydase positive tardivement)***.

3-2-Galeries biochimiques

L'étude des réactions biochimiques nous permet l'identification des différentes espèces.

Résultats

Tableau 9 : Identification biochimique des entérobactéries.

Milieux	Mannitol-mobilité		Citrate de simons	Urée-Indole		TSI				Clark et Lubs	
	Mannitol	Mobilité		Uréase	Indole	H ₂ S	Gaz en glucose	Lactose	saccharose	RM	VP
<i>Salmonella</i>	+	+	+/-	-	-	+/-	+	-	-	+	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	+/-	+	-
<i>E.coli</i>	+/-	+/-	-	-	+	-	+	+	-/+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	-	-	-	+	-/+	+	-	+
<i>Serratia marcescens</i>	+	+	+	-	-	-	-/+	-	+	+/-	-
<i>Proteus</i>	-	++	+/-	++	+/-	+	+	-	-/+	+	-/+
<i>Morganella morgani</i>	-	+	-	++	+	-	-/+	-	-	+	-
<i>Providencia</i>	+/-	+	+	+/-	+	-	-/+	-	-/+	+	-

(+) : Positif.

(-) : Négatif.

4- Répartition globale des hémocultures selon la culture

Dans notre étude **3408** hémocultures ont été réalisées, parmi lesquelles **1073** ont été positives (**31,48 %**) et **2335** ont été négatives (**68,52%**) (**Figure 7**).

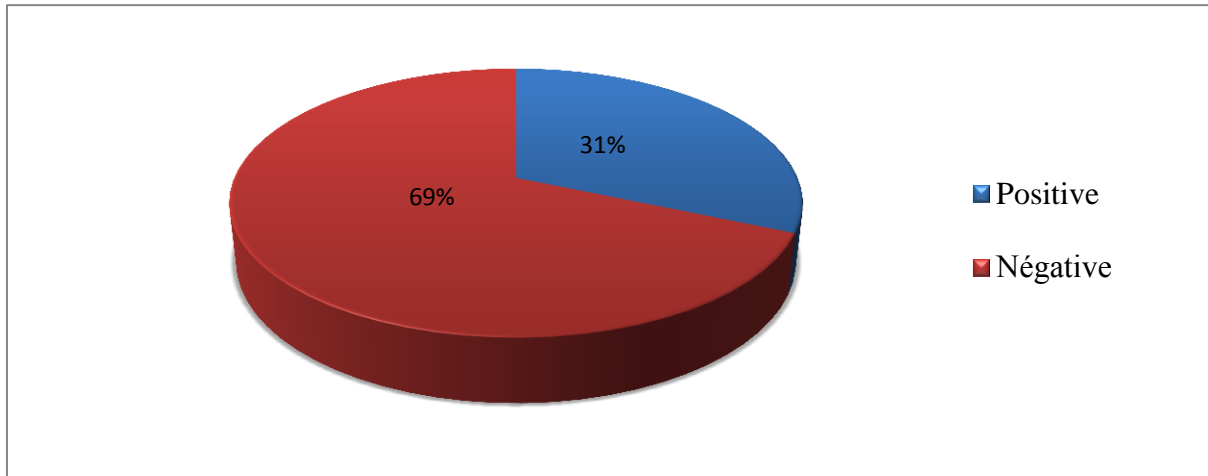


Figure 6 : Répartition globale des hémocultures selon la culture n=3408.

5- Répartition globale des souches selon l'agent causal

Les résultats de notre étude indiquent que les **bactéries** sont responsables des bactériémies dans **97% (1045)** des cas et que les **levures** sont représentées avec seulement **3% (28)** (**figure 8**).

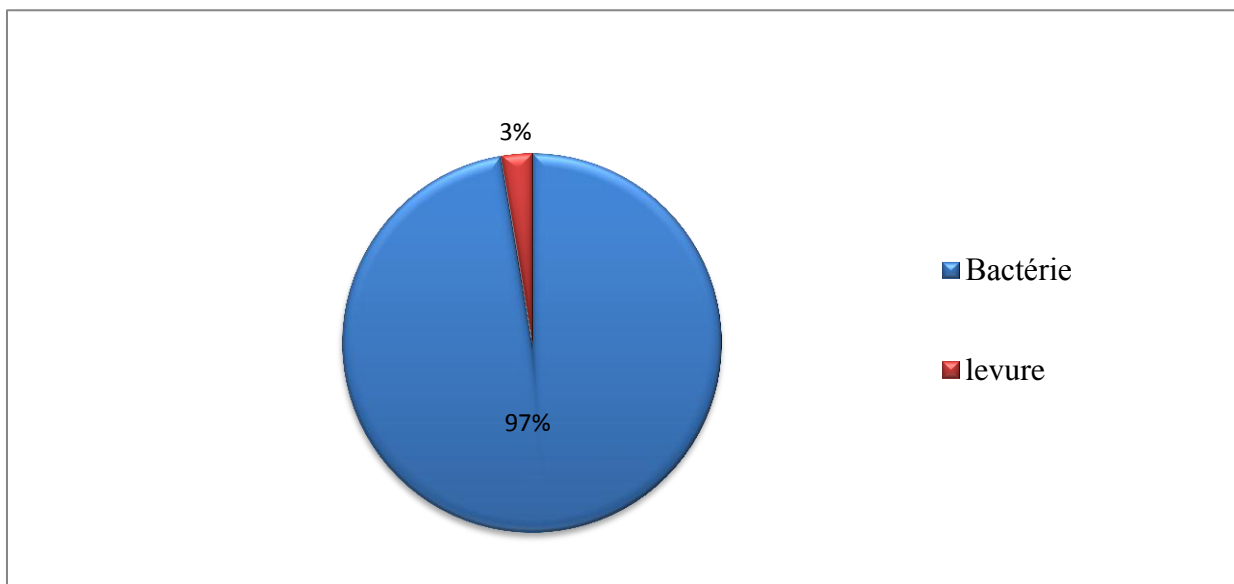


Figure 7 : Répartition des hémocultures selon l'agent causal n=1073.

Résultats

6- Répartition globale des souches selon le Gram

Les résultats illustrés ci-dessous indiquent une prédominance des bactéries à Gram positif avec un pourcentage de **51%** par rapport aux bactéries à Gram négatif avec **49%**.

Tableau 10: Répartition globale des souches isolées selon le Gram n=1045.

Gram	Nombre	Pourcentage (%)
Positif	533	51
Négatif	512	49
Total	1045	100

7- Répartition globale des hémocultures selon le sexe

Parmi les **1073** souches isolées d'hémocultures positives, **470 (44%)** proviennent de femmes et **603 (56%)** d'hommes. On remarque qu'il ya une prédominance de sexe masculin par rapport au sexe féminin, avec un sexe ratio de **1.28 (Figure 9)**.

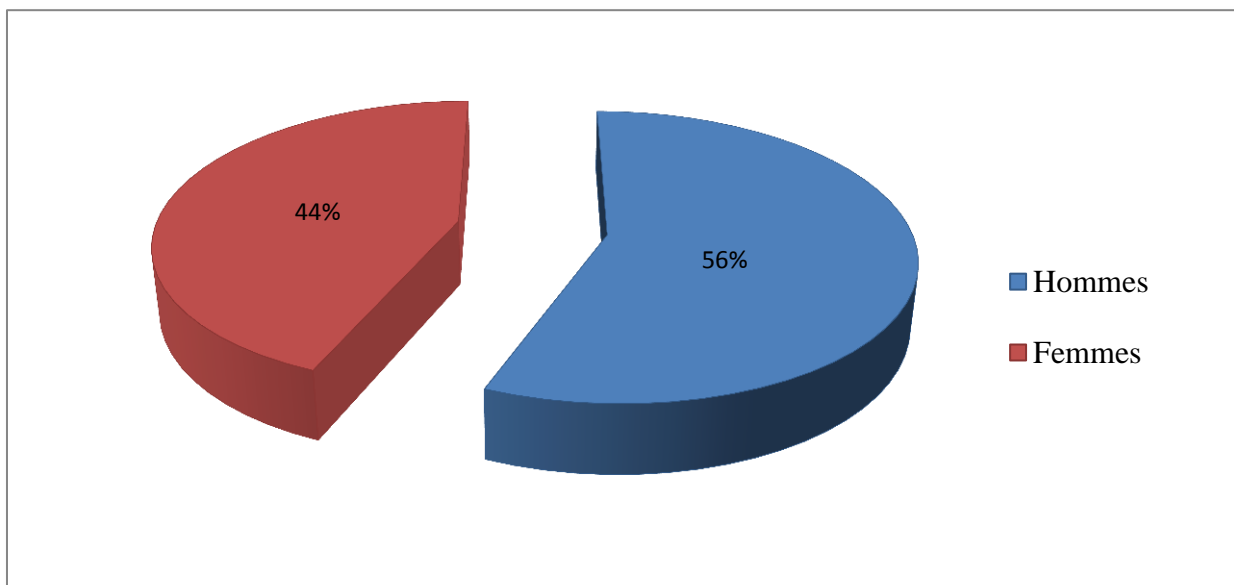


Figure 8 : Répartition des hémocultures selon le sexe n=1073.

8- Répartition globale des bacilles à Gram négatif selon les groupes bactériens

La répartition des souches isolées selon les groupes bactériens montre que les entérobactéries sont les germes les plus incriminés à **61,52% (315)**, suivies par le groupe des bacilles non fermentant avec un taux de **33,78% (173)**, les autres bacilles à Gram négatif comme les *Brucelles* avec le taux le plus faible **4,68% (24)** (**figure 10**).

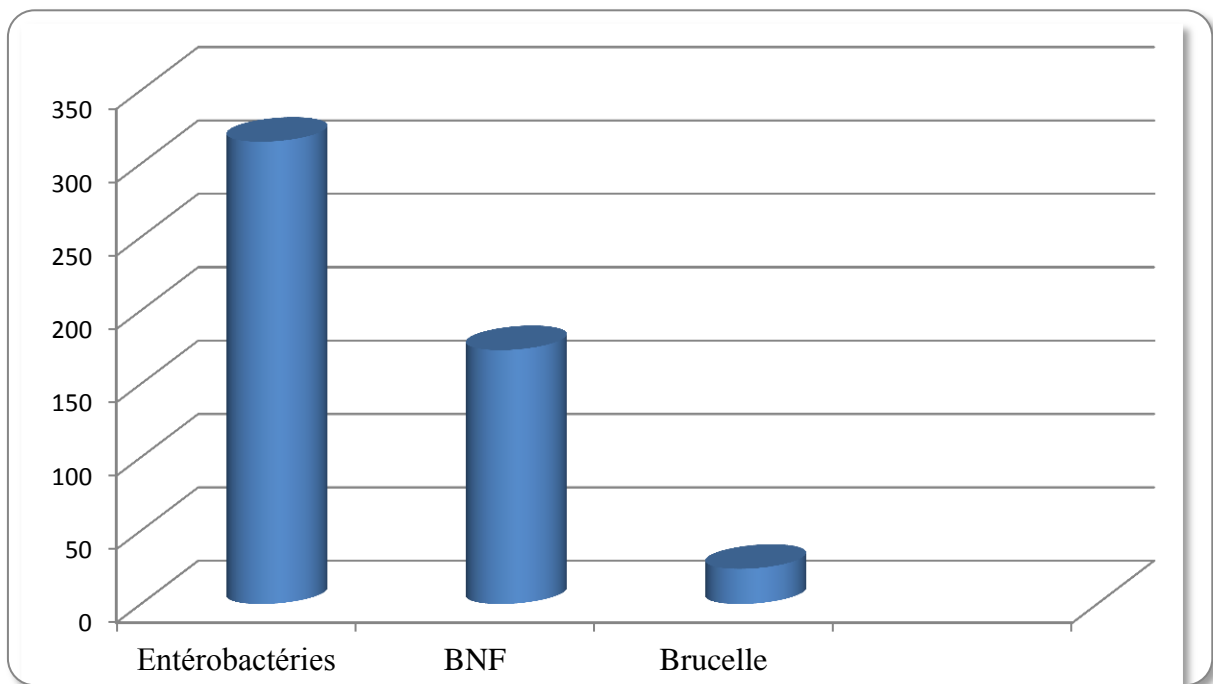


Figure 9 : Répartition globale des bacilles à Gram négatif selon les groupes bactériens n=512.

8-1-Répartition des hémocultures en fonction des souches bactériennes isolées

Le tableau ci-dessous montre la répartition des principales souches bactériennes par ordre décroissant, *Escherichia coli* (**19.14%**), *Klebsiella pneumoniae* (**16.6%**), *Acinetobacter baumannii* (**16.01%**) et *Pseudomonas aeruginosa* (**12.69%**) (**Tableau 11**).

Résultats

Tableau 11: Répartition des hémocultures en fonction des souches bactériennes n=512.

Souche bactérienne	Nombre	Pourcentage%
<i>Escherichia coli</i>	98	19.14
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	85	16.6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	82	16.01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	65	12.69
<i>Enterobacter cloacae</i>	30	5.85
<i>Acinetobacter spp</i>	30	5.85
<i>Brucelles</i>	24	4.68
<i>Enterobacter spp</i>	15	2.92
<i>Providencia spp</i>	14	2.73
<i>Proteus mirabilis</i>	11	2.14
<i>Klebsiella oxytoca</i>	10	1.95
<i>Salmonella heidelberg</i>	7	1.36
<i>Enterobacter</i>	7	1.36
<i>Enterobacter faecium</i>	7	1.36
<i>Salmonella mineur</i>	6	1.17
<i>Proteus vulgaris</i>	4	0.78
<i>Salmonella enteritidis</i>	4	0.78
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	0.58
<i>Providencia stuartii</i>	2	0.39
<i>Salmonella spp</i>	2	0.39
<i>Morganella morganii</i>	1	0.19
<i>Morganella sp</i>	1	0.19
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0.19
<i>Serratia Marcescens</i>	1	0.19
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0.19
<i>Proteus penneri</i>	1	0.19
Total	512	100

9-Répartition globale des bacilles à Gram négatif selon le sexe

La répartition globale des bacilles à Gram négatif montre qu'il ya une prédominance du sexe masculin par rapport au sexe féminin, excepté pour *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* où les femmes prédominent (**Tableau 12**).

Résultats

Tableau 12 : Répartition globale des germes selon le sexe n=512.

Germes	Hommes	Femmes
<i>Escherichia coli</i>	47	51
<i>Enterobacter cloacae</i>	10	20
<i>Enterobacter spp</i>	12	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	49	36
<i>Acinetobacter baumannii</i>	47	35
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41	24
<i>Acinetobacter spp</i>	16	14
<i>Brucelles</i>	21	3
Autres Gram négatif	55	28
TOTAL	298	214

10- Répartition des souches isolées selon le service

La figure ci-dessous montre la répartition des souches selon leur provenance et le service d'hospitalisation. Parmi **512** souches isolées au niveaux de **19** services, on constate que le service du **centre des brûlés** enregistre le taux le plus important des souches avec un nombre de **170**, suivi par le **centre de transfusion** avec **85** souches suivi, par l'**hématologie** et la **médecine interne** avec des taux respectifs de: **62** et **50** souches .

En revanche la plus basse distribution est enregistrée au service de **pédiatrie**, **endocrinologie**, **médecine légale** et **pneumologie 1** (Figure 11).

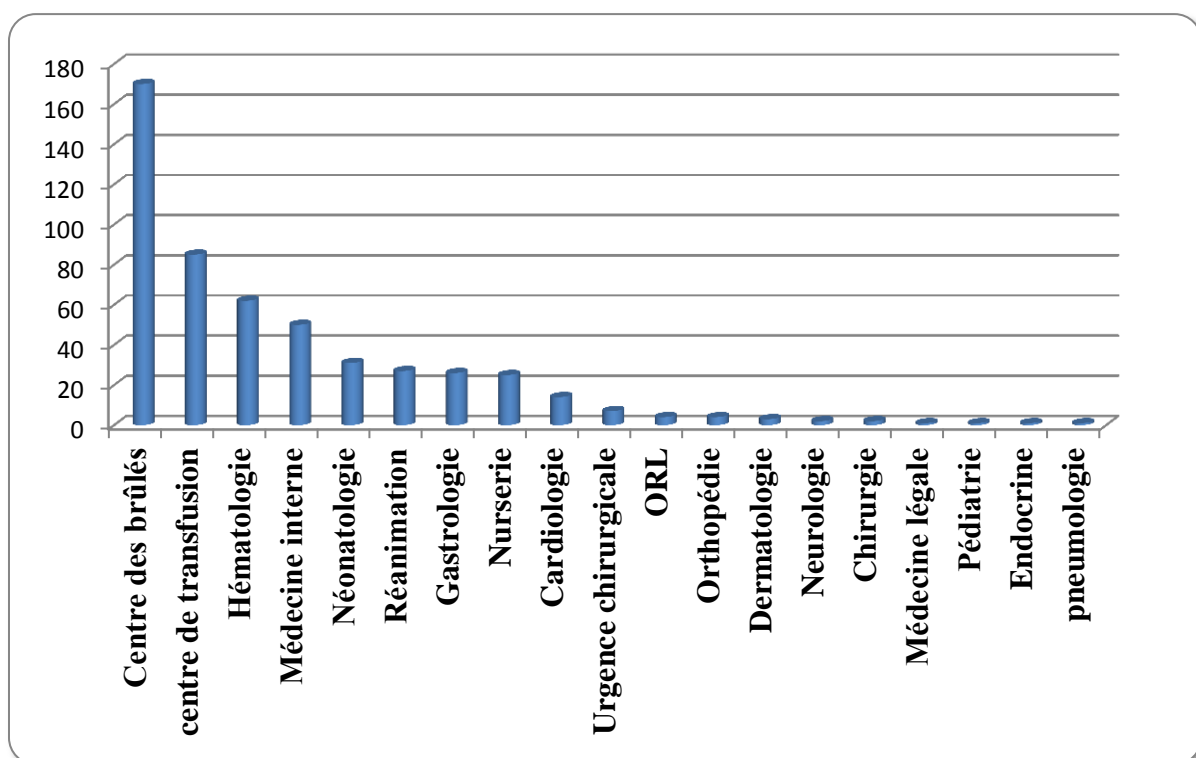


Figure 10 : Répartition des souches selon le service n=512.

11-Répartition des espèces bactériennes selon le service

Comme indiqué dans le tableau ci-dessous: Parmi les **98** souches d'*E.coli* isolées, on constate qu'il ya une légère domination au niveau du **CTX** avec un nombre de **36**. Parmi les **82** souches d'*Acinetobacter baumannii* le plus grand nombre (**55**) provenait du service du **centre des brûlés**, parmi les **85** souches de *Klebseilla pneumoniae* isolées le plus grand nombre est enregistré au niveau du **Centre des brûlés** également, les **65** souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont isolées au niveau du **centre des brûlés** et de l'**hématologie**; et les isolats restants sont répartis presque dans tous les services (**Tableau13**).

Résultats

Tableau 13 : Répartition des souches bactériennes selon le service n=512.

	Hémato	CB	RUC	Néo-nat	NRS	CTX	Gastro	Cardio	Ortho	RNM	Autres	Total
<i>Escherichia coli</i>	20	6		2	2	36		2			30	98
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11	20	1	2	12	11	11			3	14	85
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	55	3	7	3	5	1	1		5	0	82
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	31	1			2	3	8	2	5	0	65
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	11				2	2		2	2	9	30
<i>Acinetobacter spp</i>	3	9	2	6	3					6	1	30
<i>Klebsiella oxytoca</i>		1		4	1		3	1			0	10
<i>Enterobacter faecium</i>		4						1		1	1	7
<i>Enterobacter spp</i>		6		1			5			1	2	15
<i>Providencia spp</i>		7		5							2	14
<i>Proteus mirabilis</i>		5			1	3	1				1	11
<i>Brucelles</i>											2	24
Autres	11	15		3	3	4		1			4	41
Total	62	170	7	30	25	85	26	14	4	23	66	512

Hémato : Hématologie , **CB** : Centre des Brûlés , **RUC** : Urgence Chirurgicale , **Néo-Nat** :

Néonatalogie , **NRS** : Nurserie , **CTX** : Centre de Transfusion , **Gastro**: Gastrologie ,

Cardio : Cardiologie , **Ortho** : Orthopédie , **RNM** : Réanimation .

La case verte : **absence de germe**, la case rouge : **importante**.

12- Profil de résistance

Dans notre étude **640 antibiogrammes** ont été analysés à partir d'un travail de paille de deux mois et de la consultation des registres du **1^{er} Avril 2016 au 30 Avril 2017**.

12-1- Profil globale de résistance des bacilles à Gram négatif

La figure ci-dessous indique que les souches identifiées présentent une résistance de **55%** à l'Amoxicilline et à la Ticarcilline **57%**, plus de **56%** à la piperacilline, et de **55%** à l'ertapénème, **36%** à la Ciprofloxacine, et **51%** à l'association Sulfaméthazole+ triméthoprim.

Une excellente activité est enregistrée pour la colistine qui marque **3 %** de souches résistantes (**figure 12**).

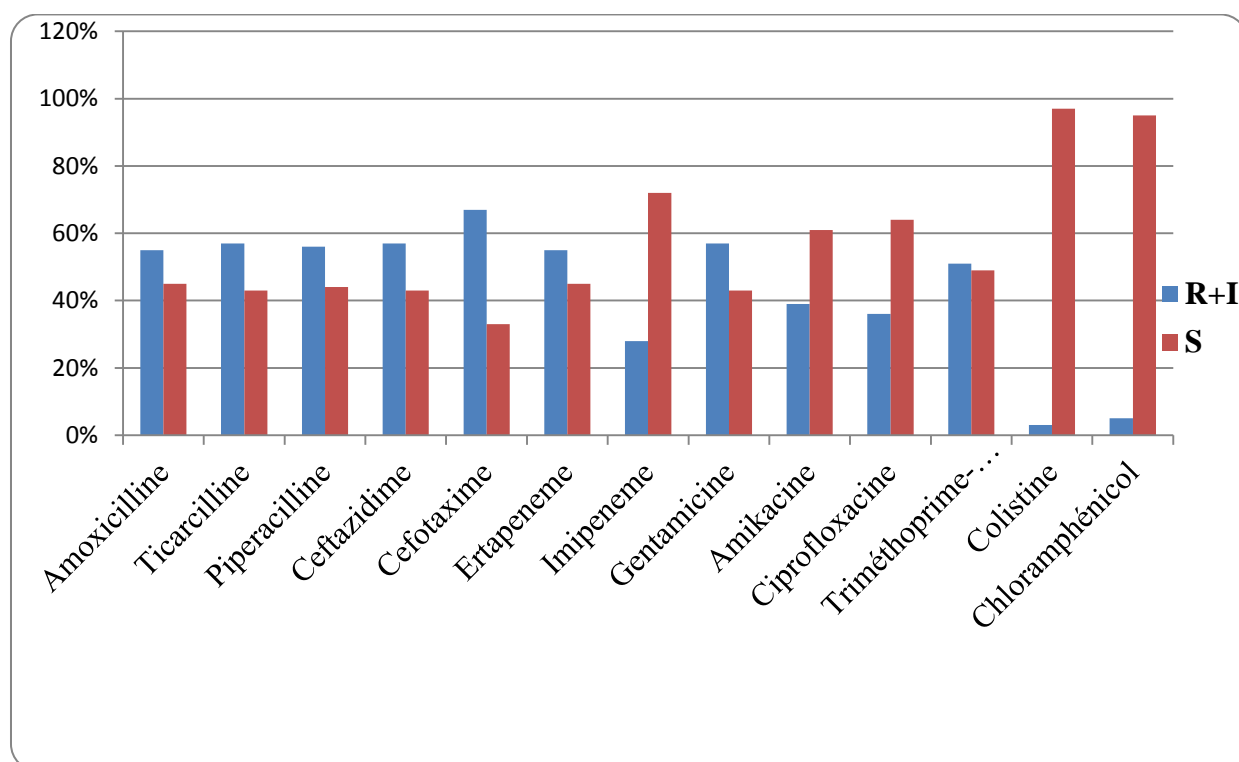


Figure 11 : profil globale de résistance des bacilles à Gram négatif n=488.

Résultats

12-2-Profil de résistance des entérobactéries

Le tableau ci-dessous montre que **58%** des souches présentent une résistance élevée à l'amoxicilline, **54%** à la ticarcilline, **50%** au céfotaxime (**marqueur de BLSE**), **57%** à l'ertapénème, **16%** à l'imipénème.

Pour les aminosides, **34%** de résistance à l'amikacine. Pour la ciprofloxacine **47%** et **49%** à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (**Tableau 14**).

Tableau14 : Profil de résistance des entérobactéries n=315.

Antibiotiques	Break point	R+I		S	
		Nombre	Pourcentage %	Nombre	Pourcentage %
Amoxicilline	14-16	184	58	131	42
Ticarcilline	15-19	170	54	145	46
Cefotaxime	15-22	158	50	157	50
Ertapenem	19-21	181	57	134	43
Imipenème	14-15	50	16	265	84
Amikacine	15-17	106	34	209	66
Ciprofloxacine	16-20	149	47	166	53
Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	11-15	155	49	160	51

Résultats

12-2-1-Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli*

La figure ci-dessous montre une résistance de **37%** à l'amoxicilline, et **32 %** à la ticarcilline, et **57%** au céfotaxime, **36 %** à l'ertapénème, **28 %** à la ciprofloxacine, **44%** au triméthoprime-sulfaméthoxazole.

Par contre une résistance nulle à l'imipénème. En revanche l'amikacine garde une excellente activité sur les souches d'*E.coli* avec un taux de résistance de **7%** (**figure 13**).

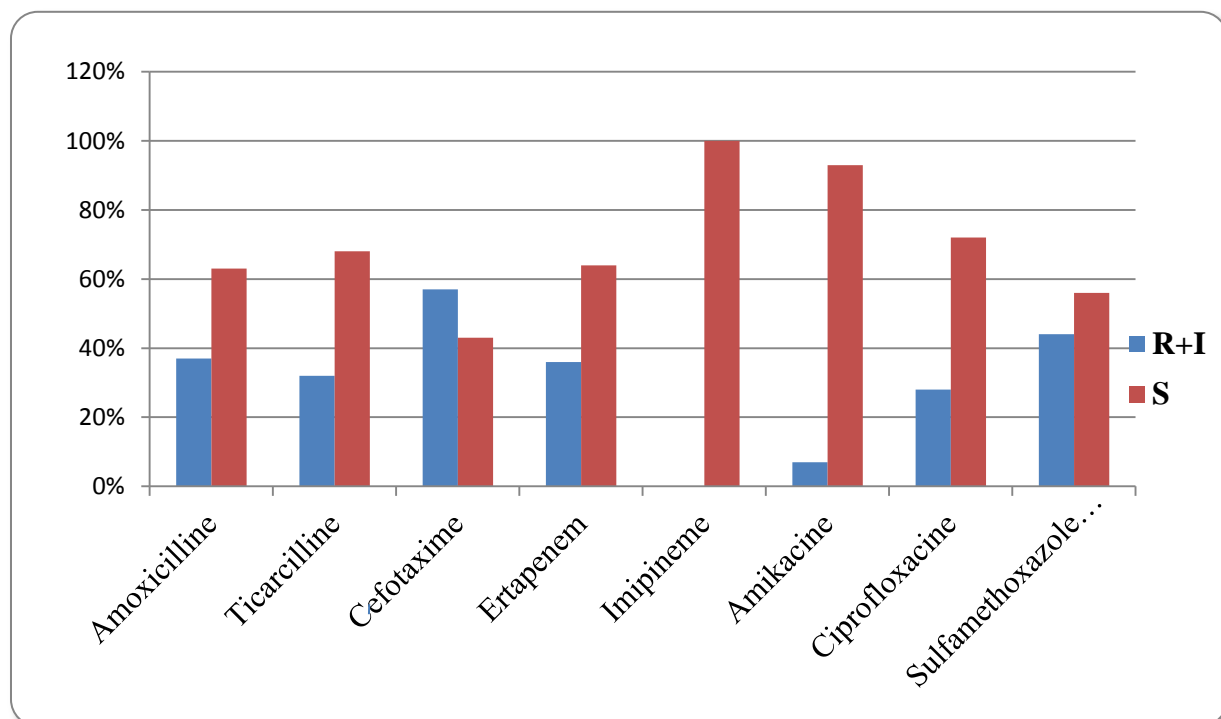


Figure 12 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* n=98.

12-2-2-Profil de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae présente une résistance naturelle (**chromosomique**) à l'amoxicilline et à la ticarcilline, et peut acquérir des résistances multiples.

Une résistance élevée de **81 %** au céfotaxime (**marqueur de BLSE**), un taux de résistance de **70%** à l'ertapénème, **60%** à la ciprofloxacine et une résistance de **53%** vis-à-vis du triméthoprime-sulfaméthoxazole, et une faible résistance de **27%** à l'amikacine et une résistance nulle à l'imipénème (**figure 14**).

Résultats

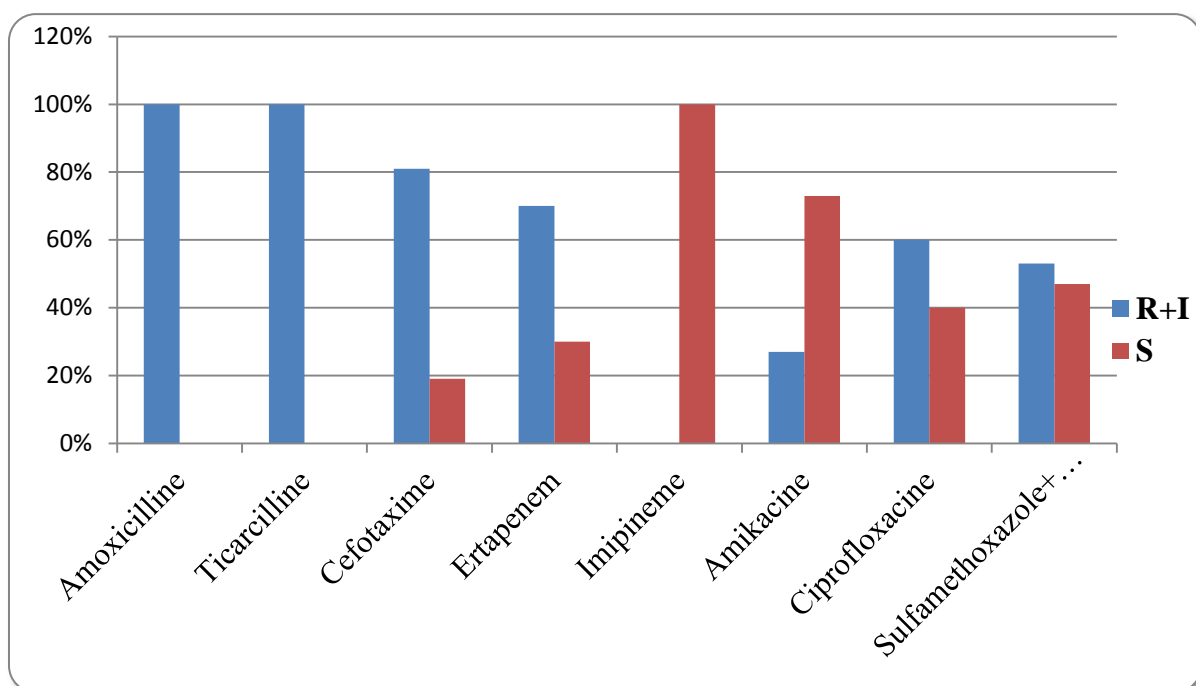


Figure 13 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* n=85.

12-2-3- Profil de résistance aux antibiotiques d'*enterobacter spp*

On assiste à des taux de résistance totale concernant *enterobacter spp* à l'ertapénème et au céfotaxime, et une résistance élevée à l'amoxicilline, à l'amikacine 91%, 73 % à la ticarcilline, et 69 % à la ciprofloxacine, et l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole avec un taux de 58%, en revanche l'imipénème reste très actifs avec une sensibilité totale (figure 15).

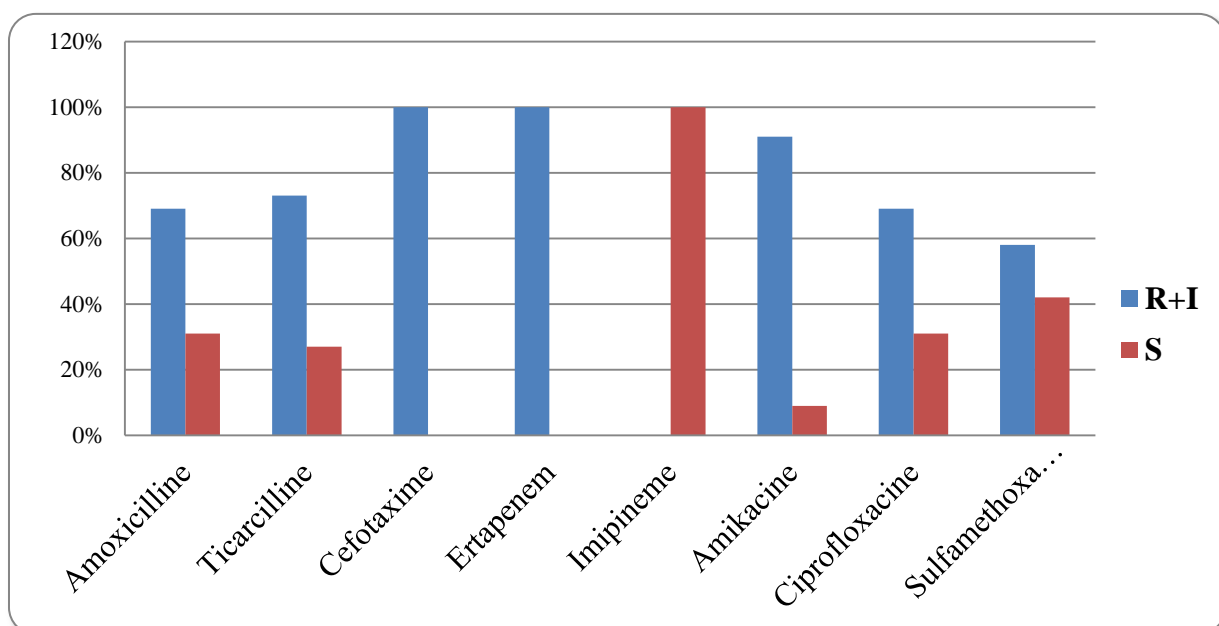


Figure 14 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Enterobacter spp* n=15.

12-2-4- Profil de résistance aux antibiotiques d'*Enterobacter cloacae*

La figure ci-dessous montre que les *Enterobacter cloacae* présentent une résistance de **63%** à l'amoxicilline, **50%** à la ticarcilline et des taux de résistance très élevés de **94%** au céfotaxime et à l'ertapénème, et une faible résistance de **12%** à l'imipénème.

Une résistance de **53%** à la ciprofloxacine, **25%** à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (**figure 16**).

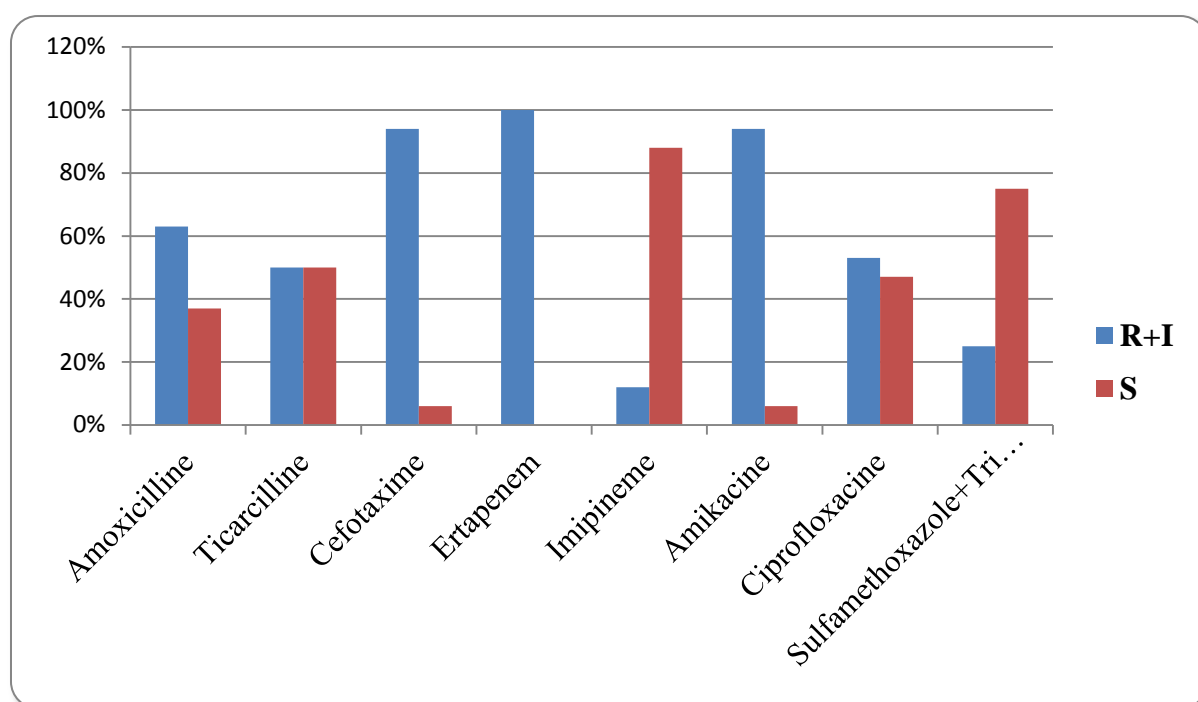


Figure 15: Profil de résistance aux antibiotiques d'*Enterobacter cloacae* n=30.

12-2-5- Profil de résistance aux antibiotiques de *Salmonella heidelberg*

La figure ci-dessous montre une résistance totale de *Salmonella heidelberg* à la ticarcilline, céfotaxime, ertapénème, imipénème, ciprofloxacine. Une résistance importante à l'amoxicilline **46 %**, à l'amikacine de **50%**.

Une résistance élevée à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole de **83%** (**figure 17**).

Résultats

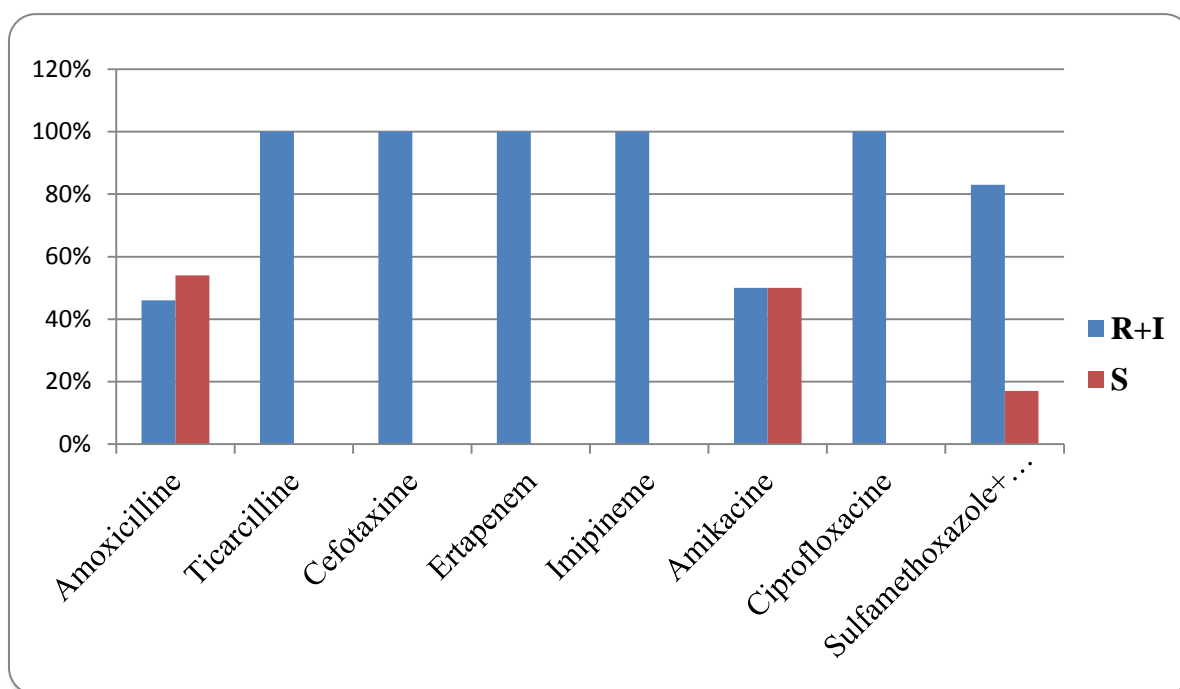


Figure 16 : Profil de résistance aux antibiotiques de *Salmonella heidelberg* n=7.

12-2-6- Profil de résistance aux antibiotiques de *Providencia spp*

La figure ci-dessous montre une résistance totale à l'amoxicilline et à l'ertapénème. Une résistance élevée de **86%** à la ticarcilline et **89%** au céfotaxime, et une résistance faible de **10%** à l'imipénème. Une résistance de **57%** à l'amikacine, **60%** au ciprofloxacine et au triméthopime-sulfaméthoxazole (**figure 18**).

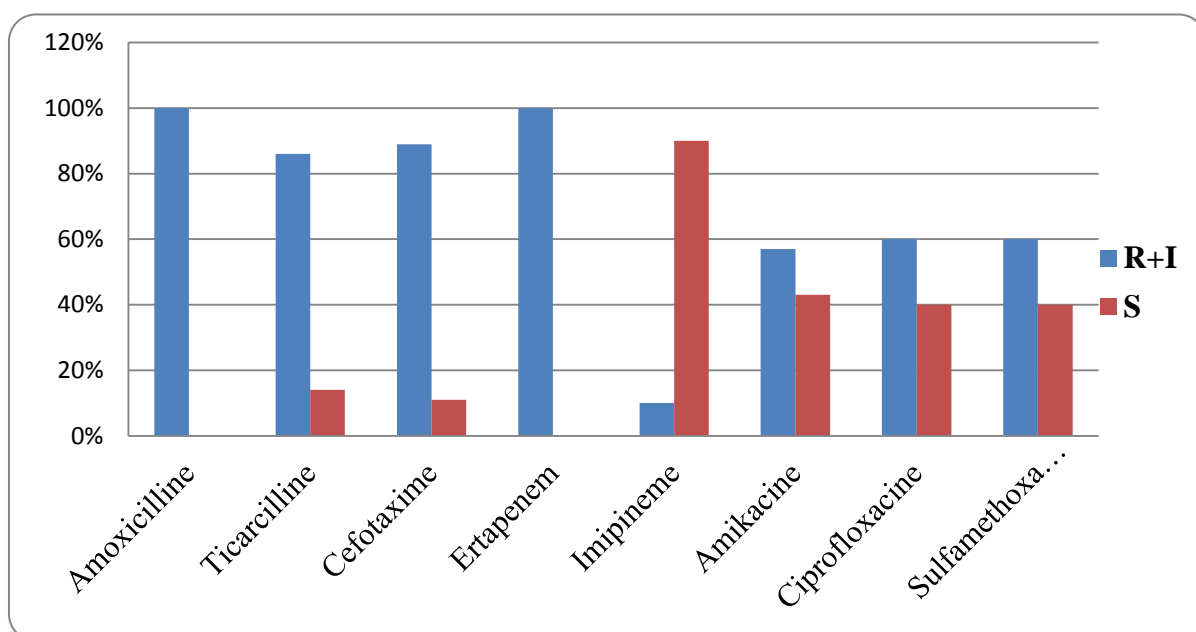


Figure 17 : Profil de résistance aux antibiotiques de *Providencia spp* n=14.

12-2-7- Profil de résistance aux antibiotiques de *Proteus mirabilis*

La figure ci-dessous montre que les *Proteus mirabilis* présentent une résistance très élevée de **94%** à l'amoxicilline, **77%** à la ticarcilline, **82%** au céfotaxime, et des taux de résistance importants de **63%** à l'ertapénème, et une faible résistance de **9%** à l'imipénème .

Une résistance de **46%** à l'amikacine, **40%** à la ciprofloxacine, **67%** à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (**figure 19**).

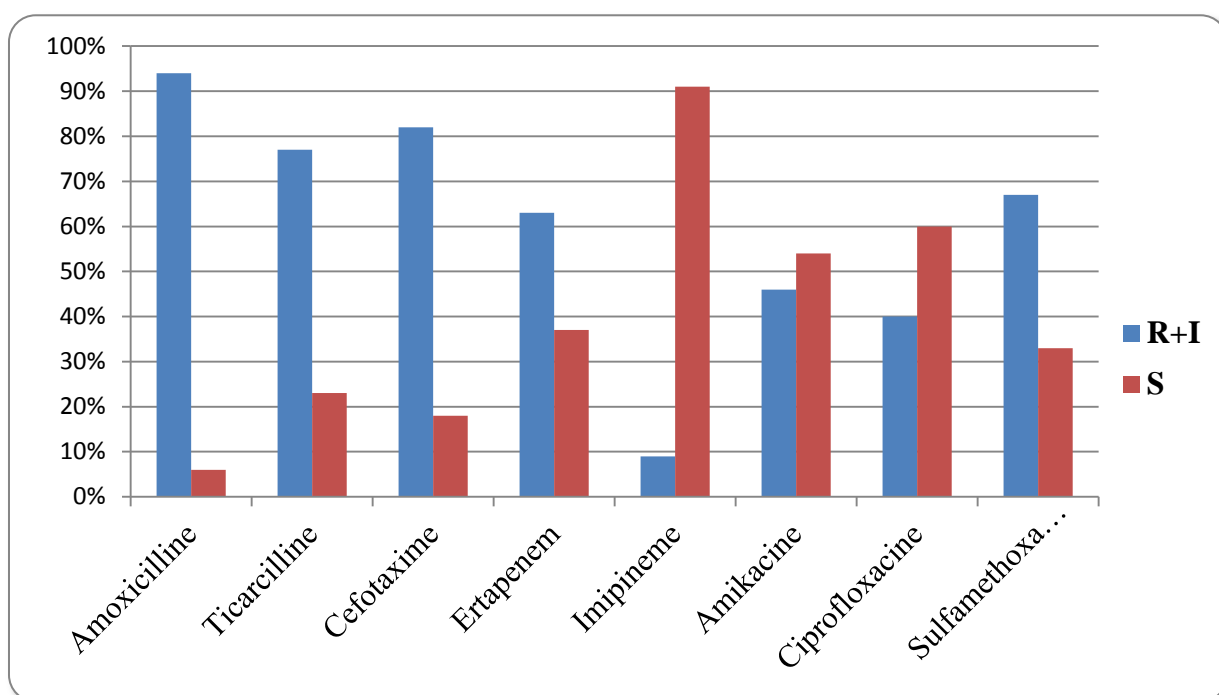


Figure 18 : Profil de résistance aux antibiotiques de *Proteus mirabilis* n=11.

12-2-8- Profil de résistance aux antibiotiques de *Citrobacter freundii*

La seule souche isolée est sensible à tous les antibiotiques sauf à la ciprofloxacine et à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole.

12-2-9 Comparaison des taux de résistance des différentes espèces d'Entérobactéries

La comparaison des taux de résistance au niveau des différentes espèces d'entérobactéries nous permet d'émettre les remarques suivantes:

La figure ci-dessous indique que les fréquences de résistance les plus élevées sont observées chez les différentes espèces d'entérobactérie vis-à-vis de la ticarcilline, du céfotaxime et de l'ertapénème (**figure 20**).

Le profil de résistance des salmonelles montre une résistance totale à la ticarcilline, céfotaxime, l'ertapénème, ciprofloxacine par contre les souches d'*Escherichia coli* présentent une résistance moyenne pour ces antibiotiques.

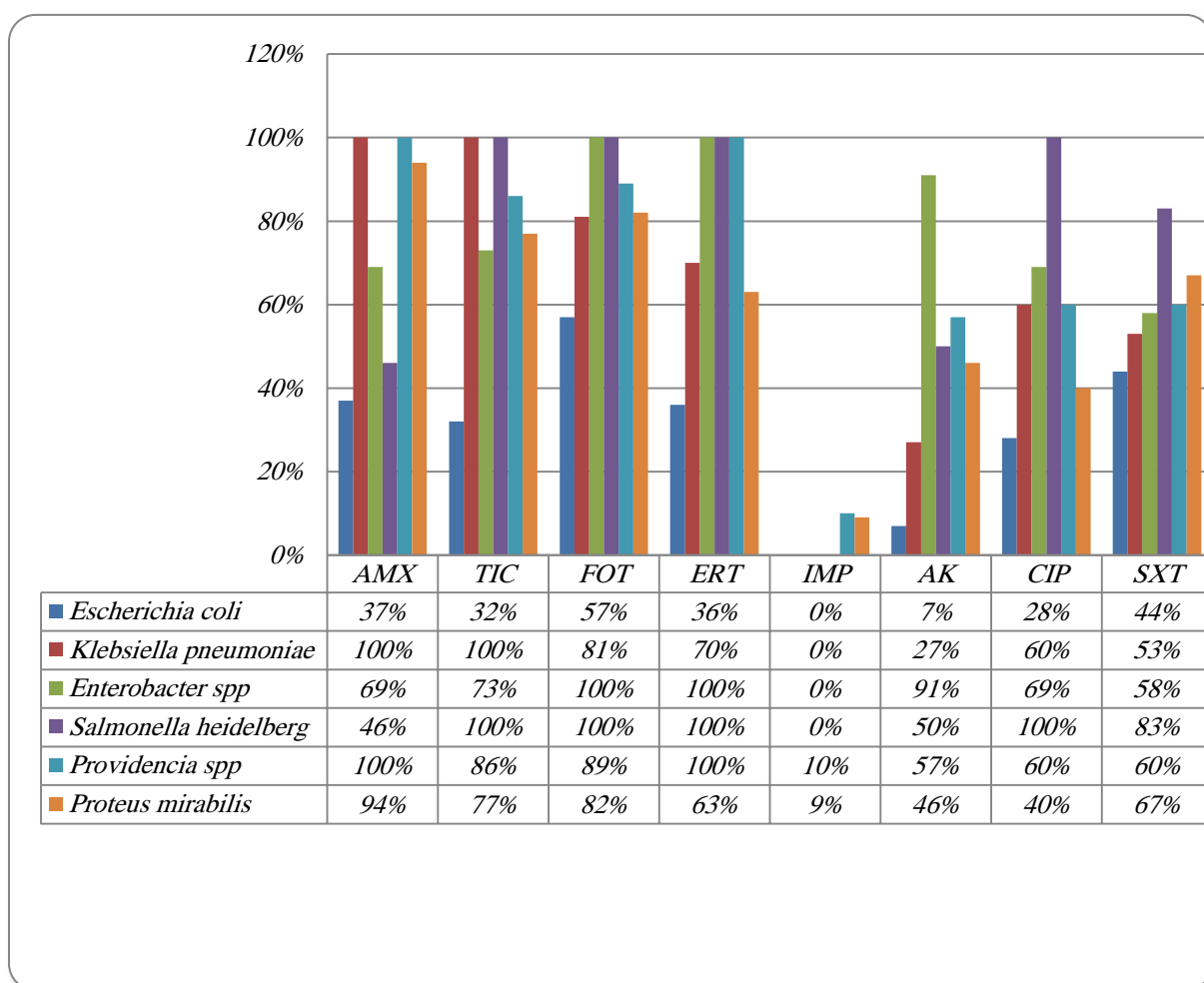


Figure 19 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces d'entérobactéries n=315.

Résultats

12-3- Profil de résistance des Bacilles non fermentant

D'une façon générale pour les Bacilles non fermentant on assiste à des taux de résistance très élevés aussi bien pour les bêta-lactamines (**62%, 67% 71%**) que pour les aminosides (**69%, 54%**) et également pour les fluoroquinolones (**66%**).

En revanche les souches restent sensibles à la colistine avec un taux de **9%** de résistance (**Tableau 15**).

Tableau 15 : Profil de résistance aux antibiotiques des Bacilles non fermentant n=173.

Antibiotiques	Break point	R+I		S	
		Nombre	Pourcentage %	Nombre	Pourcentage %
Ticarcilline	15-19	108	62	65	38
Piperacilline	18-20	116	67	57	33
Ceftazidime	15-17	122	71	51	29
Imipenème	14-15	38	22	135	78
Gentamicine	13-14	120	69	53	31
Amikacine	15-17	93	54	80	46
Ciprofloxacine	16-20	115	66	58	34
trimethoprime-Sulfamethaxazole	11-15	92	53	81	47
Colistine	13-14	15	9	158	91
chloramphénicol	13-17	90	52	83	48

Résultats

12-3-1- Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Acinetobacter baumannii*

La figure ci-dessous indique une résistance très élevée d'*Acinetobacter baumannii* à la ticarcilline et la piperacilline de **97%**, la céftazidime et la ciprofloxacine avec **94%**, le chloramphénicol de **93%**, la gentamicine de **92%**, et **91%** à l'amikacine et aussi à l'association triméthoprime-sulfaméthazole de **83%**.

En revanche l'imipénème représente un taux de sensibilité élevée de **80%**.

On note que la colistine est l'antibiotique le plus actif avec une sensibilité élevée du germe de **95%** (figure 21).

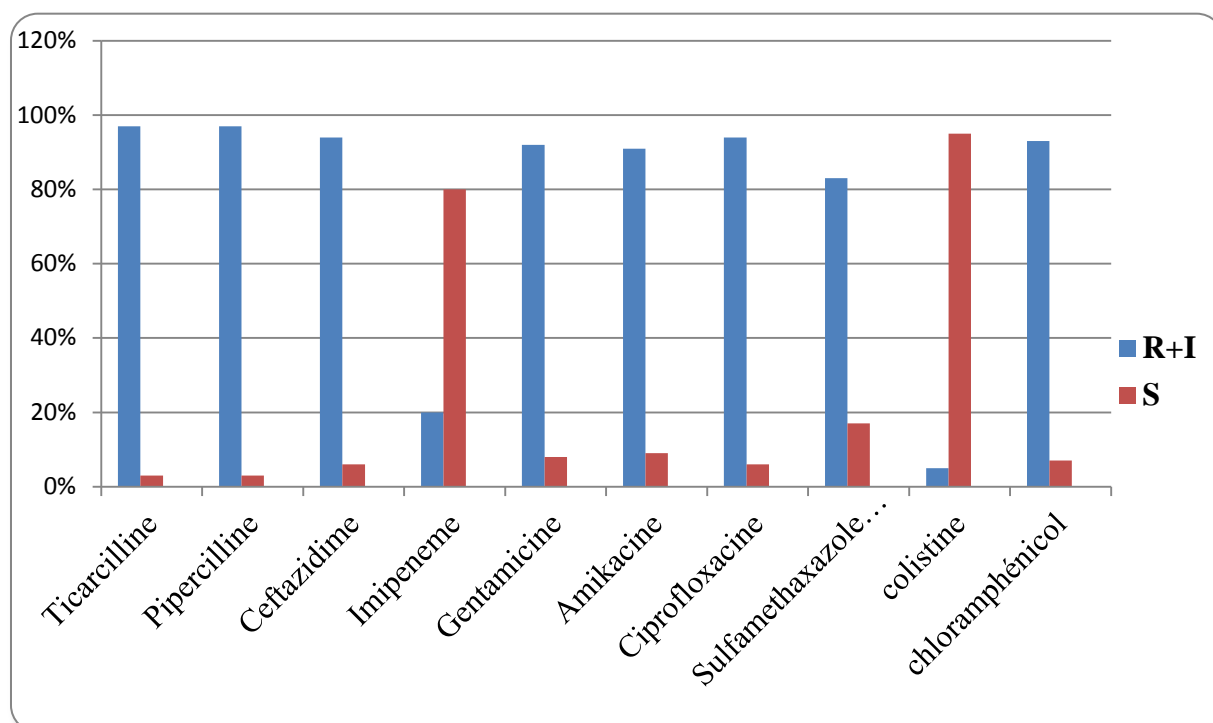


Figure 20 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Acinetobacter baumannii* n= 82.

12-3-2- Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

La figure ci-dessous montre que la plupart des souches manifestent presque le même taux de résistance: **59%** pour la ticarcilline, et la céftazidime avec un taux de **48%**, la gentamicine est de **50%**, et pour la ciprofloxacine, la piperacilline et l'imipénème représentent des taux respectifs: **53%**, **57%** et **20%**, alors que l'amikacine représente le taux le plus élevé de résistance à **63%**.

Résultats

En revanche les souches représentent une sensibilité importante à la colistine avec un taux de **78%**, et aussi à l'imipénème de **80%** (**figure 22**).

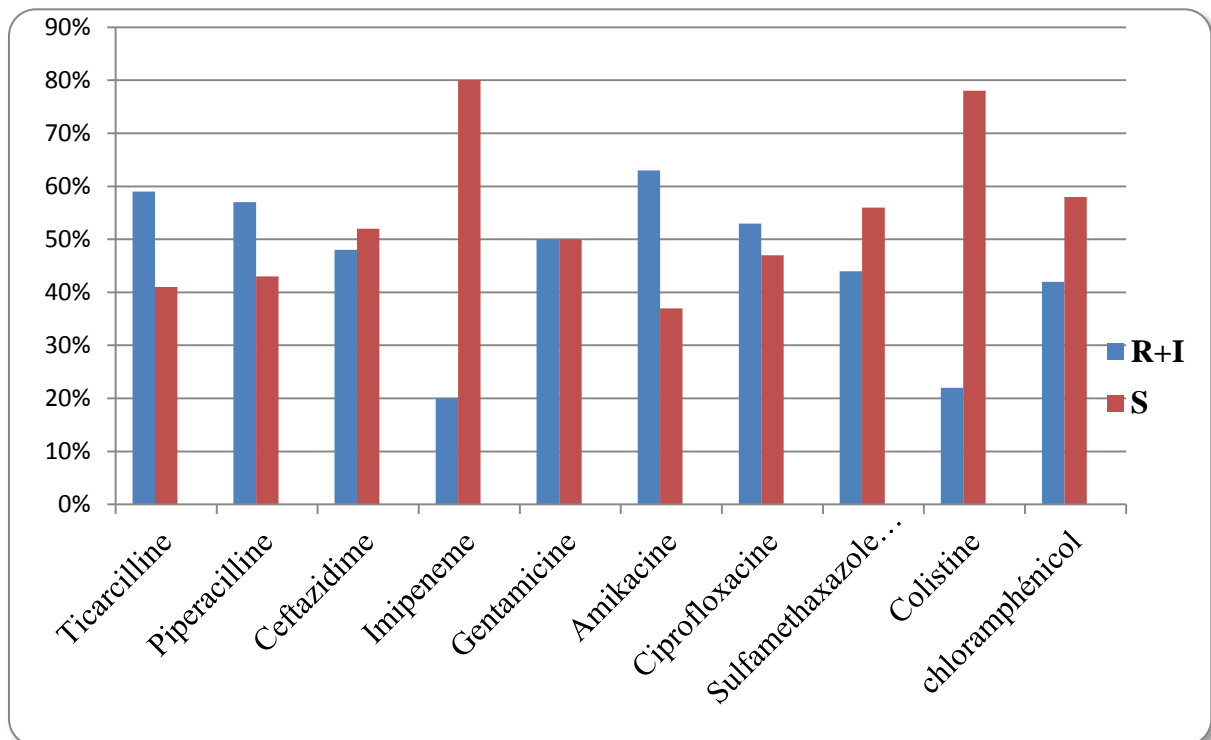


Figure 21 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Pseudomonas aeruginosa* n= 65.

12-3-3-Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Acinetobacter spp*

Les souches identifiées présentent une résistance élevée à la céftazidime de **95%**, et à l'amikacine avec un taux de **94%** et pour la ciprofloxacine de **93%**. Et une résistance totale à la piperacilline. Une résistance de **89%** à la ticarcilline, et l'association triméthoprime–sulfamethaxazole avec **88%** et aussi **30%** au chloramphénicol.

Mais la colistine reste l'antibiotique de choix avec une sensibilité totale (**figure 23**).

Résultats

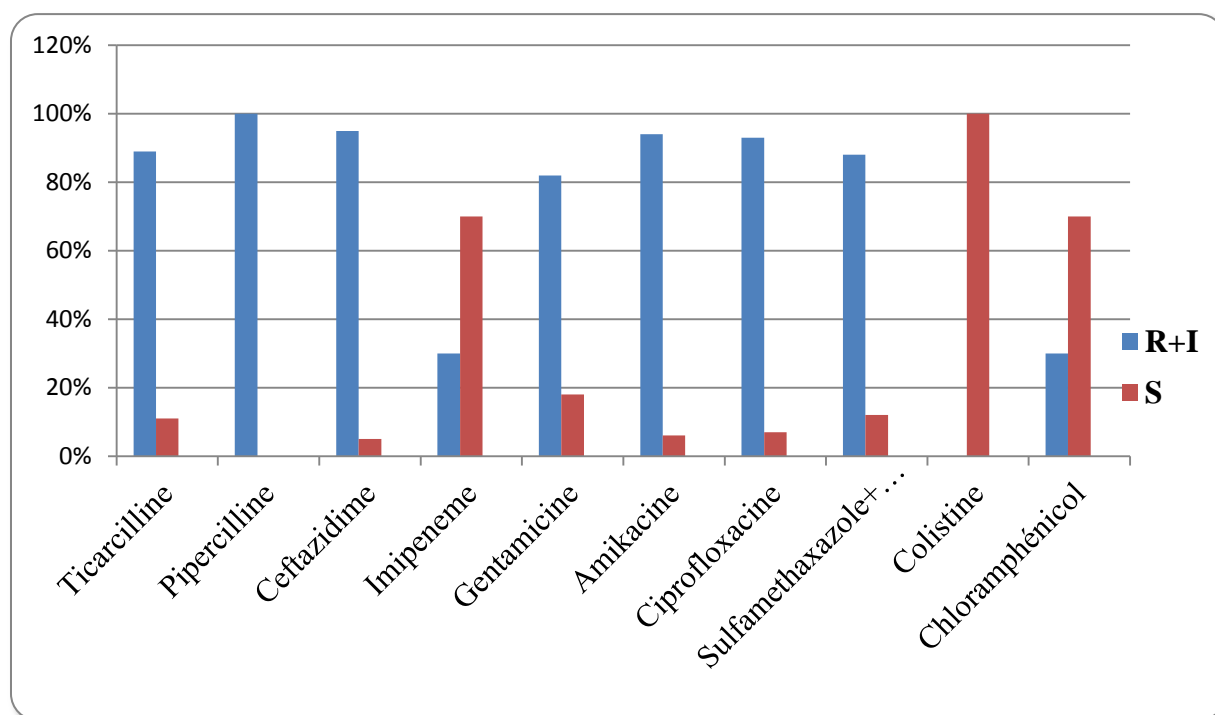


Figure 22 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Acinetobacter spp* n= 30.

12-3-4- Comparaison des taux de résistance des différentes espèces des bacilles non fermentant

La comparaison des taux de résistance au niveau des différentes espèces des bacilles non fermentant (**BNF**) nous permet d'émettre les remarques suivantes :

La figure ci-dessous indique que les fréquences de résistance les plus élevées sont observées chez les différentes espèces de **BNF** vis-à-vis de la piperacilline, l'amikacine et la ticarcilline.

Les BNF isolés enregistrent des taux de résistance plus importants pour la gentamicine, en revanche une résistance intermédiaire pour l'amikacine et la ciprofloxacine.

On peut dire d'une façon générale les *Acinetobacter baumannii* et *Acinetobacter spp* sont les germes les plus résistants aux différents antibiotiques, par contre *Pseudomonas aeruginosa* présente une résistance moyenne (**figure 24**).

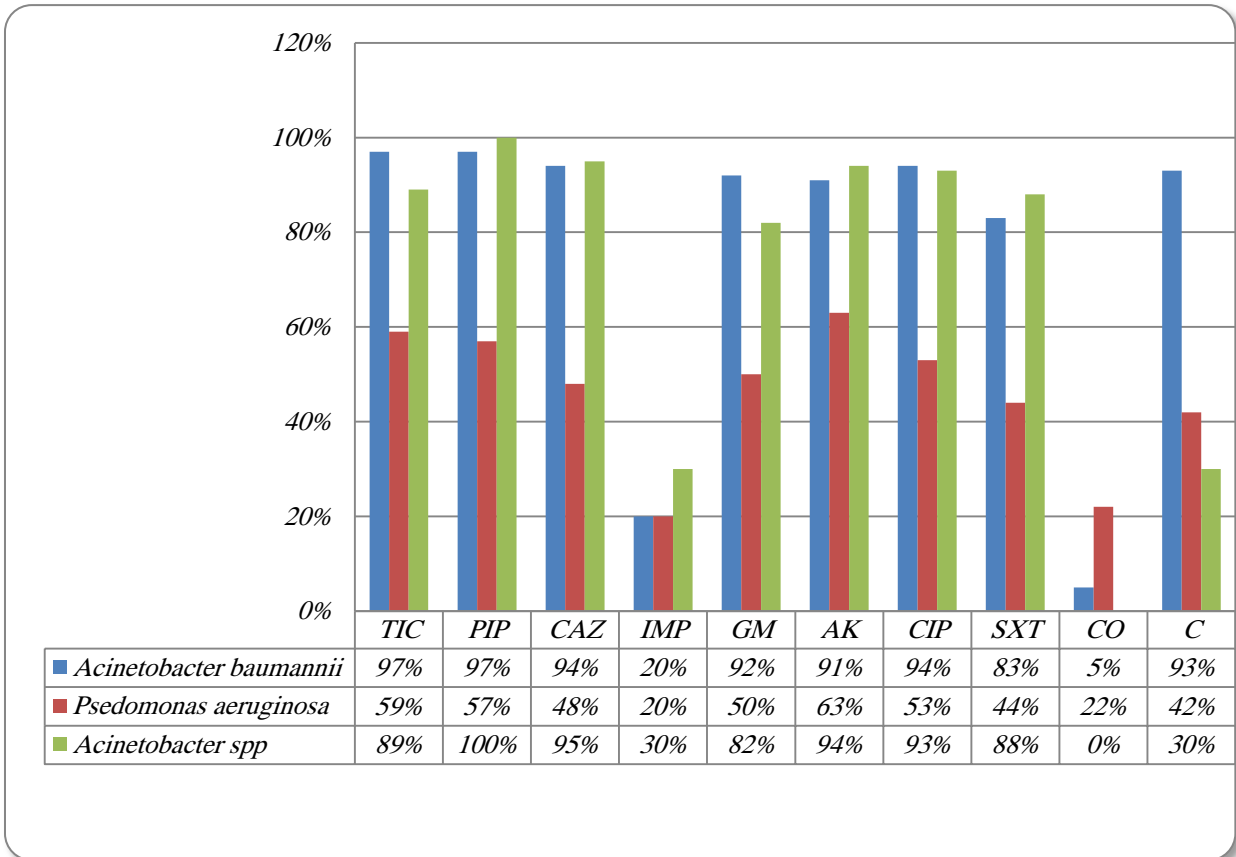


Figure 23 : Comparaison des taux de résistance des différentes espèces des Bacilles non fermentant n=173.

13- La répartition globale des BLSE selon les espèces

Le tableau ci-dessous montre la répartition des BLSE selon les espèces, qui sont par ordre décroissant: *klebsiella pneumoniae* (43%), *Escherichia coli* (35%), et *Enterobacter spp* (9%), *Proteus mirabilis* (5%) et *Acinetobacter baumannii* (1%) (**Tableau 16**).

Résultats

Tableau16: La répartition globale des BLSE selon les espèces n=158.

Espèces	Nombres des BLSE	BLSE (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	68	43
<i>Escherichia coli</i>	55	35
<i>Enterobacter spp</i>	15	9
<i>Proteus mirabilis</i>	9	5
<i>Salmonella heidelberg</i>	7	4
<i>Salmonella spp</i>	1	1
<i>Providencia stuartii</i>	1	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1
<i>Proteus vulgaris</i>	1	1
Total	158	100

13-1- Profil de résistance des souches de BLSE

La figure ci-dessous montre le taux de résistance totale des BLSE à la ticarcilline et un taux de **87%** à l'amoxicilline, le taux de résistance au Céfotaxime est de **97%**, et des résistances associées à la ciprofloxacine avec un taux de **62%**, l'association triméthoprim-sulfaméthazole de **58%** et à l'ertapénème avec un taux de résistance élevée de **95%** (figure 25).

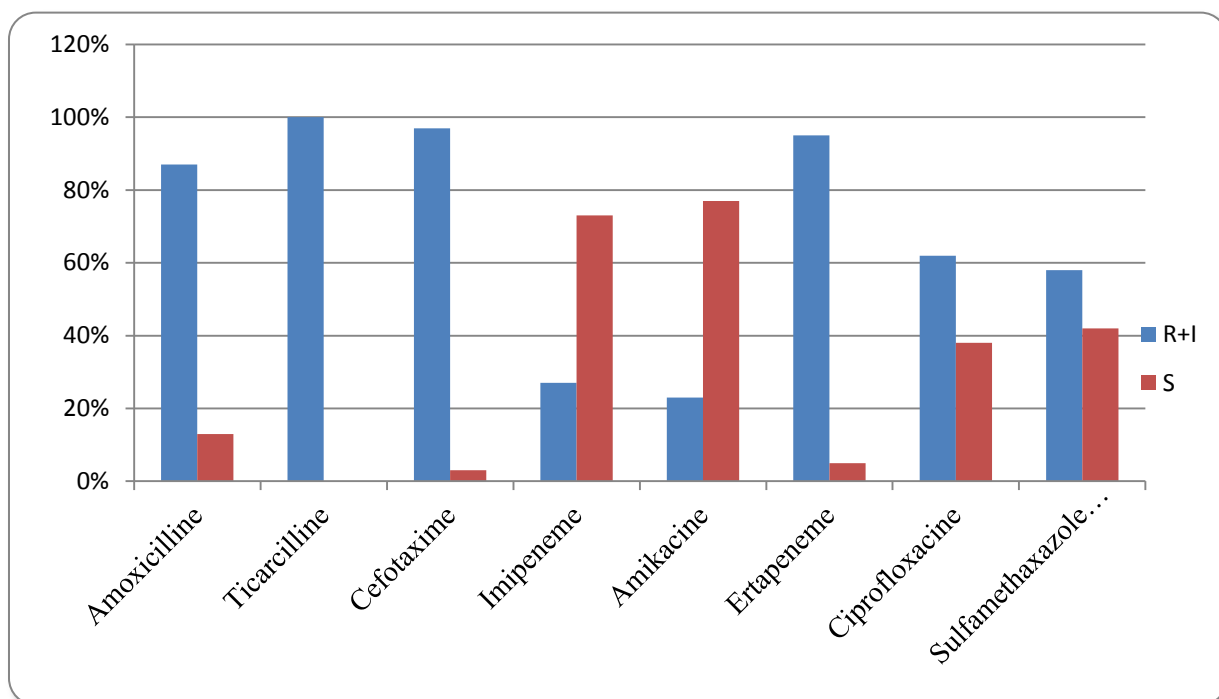


Figure 24 : Profil de résistance des souches BLSE n=158.

13-1-1- Profil de résistance des souches *E.coli* BLSE

La figure ci-dessous montre la résistance totale des *E.coli* BLSE à l'amoxicilline et au Céfotaxime et un taux de résistance de **80%** à la Ticarcilline.

Et des résistances associées à l'ertapénème (**95%**) et à la Ciprofloxacine avec un taux de **33%**, l'association triméthoprim-sulfaméthazole présente un taux de résistance de **78%**, et à l'imipénème (**21%**) (Figure 26).

Résultats

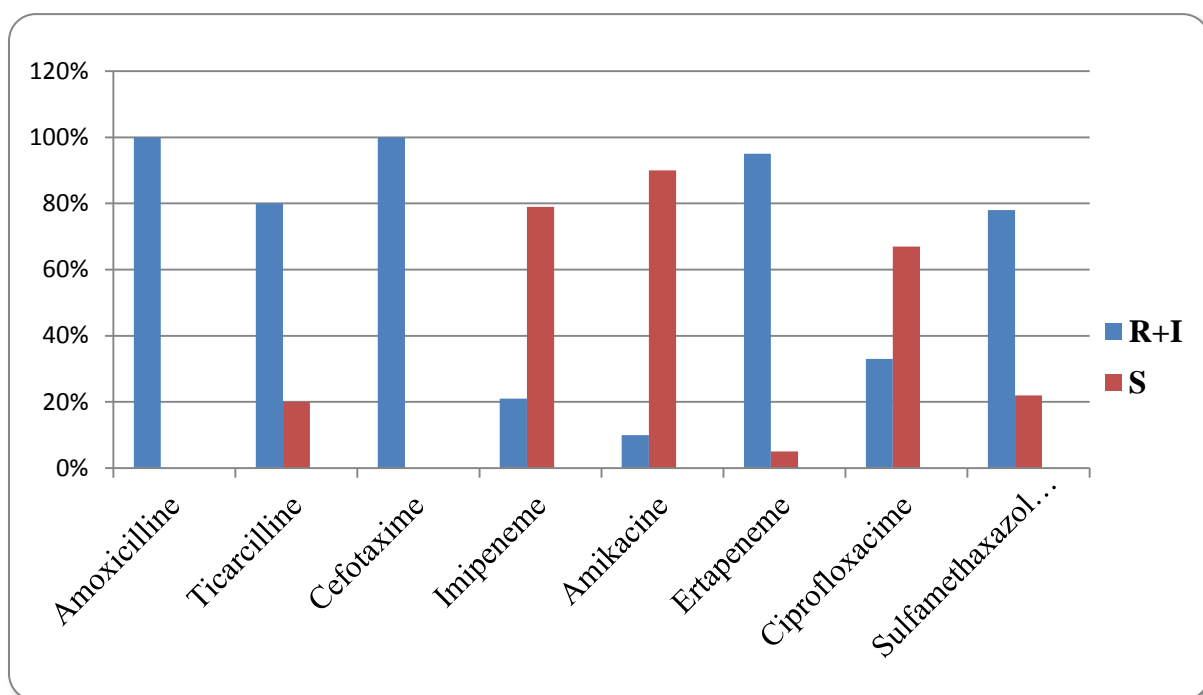


Figure 25 : Profil de résistance des souches *E. coli* BLSE n=55.

13-1-2- Profil de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* BLSE

La figure ci-dessous montre une résistance totale à l'amoxicilline et à la ticarcilline et une résistance vis-à-vis du céfotaxime avec **97%**, et des résistances associées à l'ertapénème avec **94%**, et une résistance de **76%** à la ciprofloxacine et de **45%** à l'association triméthoprime- Sulfamethaxazole.

En revanche une résistance moins importante est notée pour l'imipénème avec **21%** et l'amikacine avec **27%** (**figure 27**).

Résultats

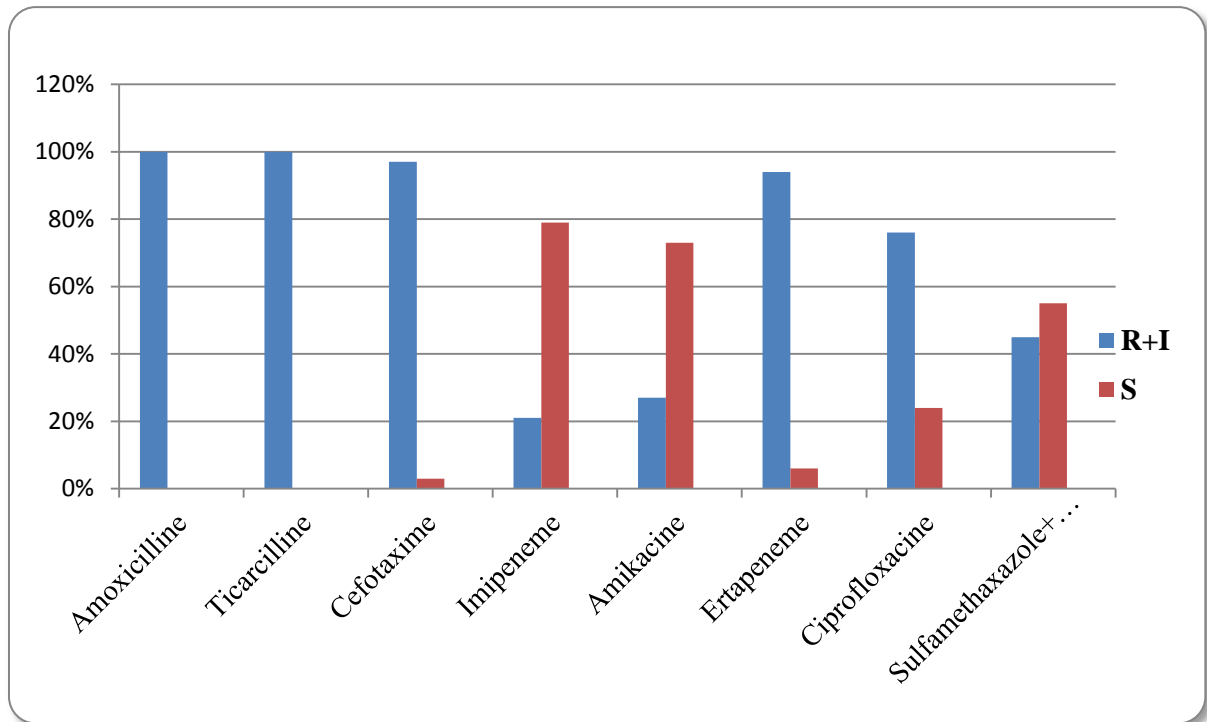


Figure 26: Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* BLSE n=68.

Discussion

Discussion

Les bactériémies sont des affections graves, responsables d'une morbidité et d'une mortalité significatives à travers le monde. Il s'agit d'une urgence diagnostique et thérapeutique et le meilleur moyen de diagnostic repose sur la réalisation des hémocultures (**Karlowky *et al.*, 2004**).

Dans notre étude rétrospective qui a été réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie du centre hospitalier universitaire C.H.U BENBADIS de Constantine, sur une période d'une année (**avril 2016 – avril 2017**) en plus de notre travail de paillasse de deux mois (**1 mars – 30 avril 2017**), sur un total correspondant à **3408** hémocultures, le taux de positivité enregistré est de 1073 ce qui correspond à 31%. Ce taux est élevé par rapport à ceux de l'étude qui a été faite à l'Hôpital Général de Douala (**l'HGD**) au Cameroun sur une période de six ans (2006 –2011) par Okalla Ebongue ; sur 2334 cas le taux de positivité des hémocultures à l'**HGD** était de **12,8 %** seulement (**Okalla Ebongue *et al.*, 2004**).

Ce nombre reste élevé par rapport à une autre étude qui a été faite entre janvier 2008 et juin 2009 au niveau du laboratoire de Microbiologie du CHU Mohammed VI de Marrakech au Maroc, 740 hémocultures ont été analysées, le taux de positivité était de 19,7% seulement (**Soraa *et al.*, 2011**). De même, Un taux de positivité également inférieur avait été retrouvé par Séko koné au Mali et qui enregistre sur un total de 21923 cas un taux de 19% d'hémocultures positive (**Séko kone, 2009**).

Lorsque les indications des hémocultures sont bien posées, et les prélèvements effectués lors des pics fébriles chez des malades n'ayant pas encore pris des antibiotiques, le taux de positivité augmente ; Ces variations peuvent être liées à l'hétérogénéité des différents services de l'hôpital et des indications posées pour le prélèvement d'une hémoculture.

Dans notre étude le taux des hémocultures négatives enregistré est de **69 %**, ce taux est à peu près similaire à celui de **Moudjongue Omock** qui en **2014** en Mali au laboratoire Rodolphe Mérioux de Bamako a obtenu un taux de **71%** d'hémocultures négatives (**Moudjongue Omock, 2014**).

Discussion

Nos résultats sont proches de ceux d'**El bouderkou** au Maroc et qui enregistre 64% d'hémocultures négatives (**El bouderkou**, 2015). Cependant, notre taux est inférieur à celui de 86 % rapporté au **C.H.N.S.S.** de **Bobo-Dioulasso** en **Burkina-Faso** durant l'année **2002** par **Lankoande** (**Lankoande**, 2002).

Dans notre étude la bactériémie est due principalement aux bactéries (97%) et rarement aux levures (3%). Cette observation est confirmée par plusieurs études, comme celle de **Salou et al** en (2014) et de **Baudat et al** en 2005, de **Séko Koné** en 2009 rapportant des taux proches: **1%, 6%, 0.1%** concernant les levures.

Nos résultats sont proches de ceux de **Benzriouil** au Maroc et qui a montré les mêmes observations et noter que les levures ne présentent que 2.6% et de légère différence observé dans une autre étude (2 %) en Suisse entre **1980** et **1989** (**Benzriouil**, 2010)

Nos résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par **Eloy et al** en 2004 rapportant une fréquence de **2.3%**, ils sont similaires à celles trouvées dans d'autres pays d'Europe comme la Grèce : **3 %**, l'Espagne **4 %**, mais restent bas en Allemagne où ils se situent à **9%** (**Eloy et al.**, 2006).

Le profil bactériologique dans notre étude était marqué par une légère prédominance des cocci à Gram positif qui représentaient (**51 %**) par rapport aux bactéries à Gram négatif (**49%**), avec notamment les bacilles à Gram négatif non fermentaires (**33.78 %**), et en première place les entérobactéries (**61.52 %**) ; en dernier les autres bacilles à Gram négatif comme les *Brucelles* avec un pourcentage de **4,68%** de l'ensemble des isolats.

Ce résultat est proche de celui de l'étude conduite par **Archibald**, qui avait rapporté une prédominance des bactéries à Gram positif (64 %) (**Archibald et al.**, 2006)

En outre aux Etats unis les cocci à Gram positif sont également les germes les plus retrouvés avec 64% contre 27% pour les Gram négatif (**Bourneton et al.**, 2010).

Selon **Parakash et al** d'Oman et **Elmaatoui et al** au Maroc, la prédominance est enregistrée pour les Gram positif avec des taux qui sont respectivement : 57,8%, 60,34% et des taux de Gram négatif de 42,2%, 24,14% (**Elmaatouoi**, 2009 ; **Parakash**, 2014).

Discussion

Alors qu'au Maroc durant une période d'étude d'une année 2009-2010 réalisée dans l'Hôpital Ibn Sina le profil bactériologique était marquée par une nette prédominance des bactéries à Gram négatif (59.63%) par rapport aux bactéries à Gram positif (39.13 %) **(El mouali, 2012)**.

Une autre étude rétrospective de six années au Burkina-Faso réalisée par Lankoade indique que les bactériémies à Gram négatif sont de 84.7% contre 15.3% pour les Gram positif **(lankonade 2002)**.

Nos résultats diffèrent de ceux de Okalla Ebongue au Cameroun qui avait rapporté une prédominance des bactéries à Gram négatif (76%) contre les cocci à Gram positif 24% **(Okalla Ebongue et al., 2004)**.

Les bactéries à Gram positif ont été plus souvent isolées que les bactéries à Gram négatif, ce changement d'épidémiologie est expliqué par l'utilisation de plus en plus fréquente de biomatériaux et par l'amélioration des régimes antibiotiques dirigés vers les Gram négatif, notamment chez les patients oncologiques et de soins intensifs, ainsi que par l'augmentation du nombre global d'hémocultures effectuées (on augmente ainsi le nombre d'hémocultures contaminées) **(Baudat et al., 2005)**.

En effet les entérobactéries sont dominées dans notre étude par *Escherichia coli* avec une fréquence de 19.1 %, suivie par *Klebsiella pneumoniae* (16.6 %), *Enterobacter cloacae* (5.8 %), ce ci diffère de ceux de l'étude de Berrezzouk au Maroc (23.03% pour *E.coli* et 10.91% pour *K. pneumonie*) **(Berrezzouk, 2008)** ; Dans le rapport de surveillance des bactériémies 2008 de C.CLIN Ouest , *Klebsiella pneumoniae* vient au second rang (2,9 %) après *Escherichia coli* (30,3 %), suivie par Enterobacter (1,9 %).

Par ailleurs dans nos résultats *Acinetobacter baumannii* (16.01%) et *Pseudomonas aeruginosa* (12.69%) sont représentés avec des taux supérieurs à ceux retrouvés dans une étude française où *A.baumannii* et *P.aeruginosa* ne représentaient respectivement que 1,7 et 12,1 % **(El mouali, 2012)**.

D'autre part, notre étude révèle une prédominance des bactériémies chez les patients de sexe masculin, tous services confondus, avec un ratio à **1.28**. Nos résultats sont proches de

Discussion

ceux de l'étude conduite par El mouali, qui rapporte une sex-ratio de 1,25 homme pour une femme (**El mouali, 2012**).

Ce résultat est conforme à ceux de la majorité des auteurs comme : des études au **Burkina-Faso**, en **Europe**, au **Maroc**, qui enregistrent des taux proches et qui sont respectivement de: **1,16%**, **1,17%** et **1,22%** (**Lankoande, 2002 ; Michich, 2002 ; Diop, 2004 ; Jarno et Travenard, 2010**).

Nous pensons que le sexe masculin est plus exposé aux infections du fait de la plus grande mobilité des individus qui en sont porteurs.

Ces fréquences peuvent être expliquées comme suit :

- En immunologie expérimentale, il faut une moindre quantité d'antigènes chez la femelle pour susciter la synthèse d'anticorps et la demi-vie plasmatique de ceux-ci est plus longue que chez le mâle.
- Les taux sériques d'anticorps naturels et immuns sont plus élevés chez la femme que chez l'homme, en particulier le taux sérique d'**Ig M** ; or c'est le premier anticorps synthétisé en réponse à une stimulation antigénique.
- En outre, le nombre de granulocytes circulants est plus élevé chez la femme que chez l'homme à l'âge adulte.
- Ces différences de l'immunité humorale existent dès la naissance et sont renforcées après la puberté par les œstrogènes. <http://microcsb.net/IMG/pdf/DISCUSSION-2.pdf>

Notre étude a montré que les services qui ont le plus fort pourcentage de positivité des hémocultures sont ceux du **centre des brûlés** avec un pourcentage de **33.2%**, suivi par le centre de transfusion avec **16.6%** suivi par l'**hématologie** et la **médecine interne** par des taux respectifs de : **12.1%** et **9.7%** souches. Le taux le plus faible est enregistré au service de **pédiatrie** et aussi à la **pneumologie (0.19%)**.

Par rapport à l'étude réalisée par **Lankoande** est indiqué un taux élevé de **23%** dans la **pédiatrie** et de **6,3 %** à la **pneumologie** (**Lankoande, 2002**). Par contre **Berrezzouk** a observé un taux proche du notre de **2%** (**Berrezzouk, 2008**). **El mouali** a cité des taux différents de nos résultats de **20%** dans le service de **pédiatrie** (**El mouali, 2012**).

Une autre étude a été faite entre (**2006-2011**) à l'Hôpital Général de Douala sur un total de **2334** hémocultures prélevées chez les malades hospitalisés. Parmi ces prélèvements: **49,7%** provenaient du service de pédiatrie, et **22,4 %** du service de médecine interne. Ces résultats sont supérieurs aux notre (**Okalla Ebongue et al., 2014**).

Tous ces résultats sont disparates d'une étude à l'autre. Ces Différences peuvent être expliquées par la différence de recrutement dans les structures, les retards à l'acheminement des prélèvements mais aussi et surtout par l'utilisation abusive des antibiotiques en automédication (**Lankoande, 2002**).

Dans notre étude les germes les plus isolés dans les différents services sont : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et aussi *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cette observation confirmée par **Lankoande** qui trouve aussi que le germe le plus fréquemment isolé est l'*Escherichia coli*.

la répartition des souches dans les services montre une domination des germes observés au niveau des services: **centre de transfusion**, et du **centre des brûlés**, son taux élevé justifié par Petit pierre *et al* dans leur livre : « **une septicémie se développe chez 90% des brûlures infectées, si l'étendue est supérieure à 20%** » (**Petit pierre et al., 2002**).

Dans notre étude les germes isolés au niveau du **centre des brûlés** sont : *Acinetobacter bumanii* qui occupe le premier rang avec un effectif de **55** suivis par *pseudomonas aeruginosa* par un nombre de **33** ensuite *Klebsiella pneumoniae* par **20** isolats. On note aussi un nombre élevé de **37** d'*E.coli* au niveau du service de **centre de transfusion**.

Discussion

Deux études au Québec présentent des résultats similaires, une étude de **2013** révèle que *E.coli* sont les plus dominants et d'autres études démontrent que la famille des entérobactéries est la plus dominante (**Fortin, 2013**).

Une autre étude a tiré des conclusions concernant la fréquence remarquable d'*Acinetobacter baumannii* au niveau du **centre des brûlés** et qui revient à sa capacité d'acquérir et d'accumuler les facteurs de résistance et de son caractère opportuniste (**Élouennass et al., 2004**).

Concernant le profil de résistance, l'évolution de la sensibilité bactérienne se caractérise par l'apparition plus ou moins rapide de nouveaux facteurs de résistance. Plusieurs études nationales américaines (SCOPE, ICAPE, NNIS) et européennes se sont intéressées à ce sujet. Nous avons entrepris ce travail pour définir le profil bactériologique des bactériémies et déterminer le niveau et l'évolution de la résistance aux antibiotiques des principaux germes en cause.

Pour la résistance des Bacilles à Gram négatif, les souches isolées dans notre étude présentent un taux de **55%** à l'amoxicilline et à la ticarcilline, **56%** à la piperacilline et **55%** à l'ertapénème, **36%** à la ciprofloxacine et une résistance faible à l'imipénème de **26%**. Nous remarquons aussi que la colistine reste l'antibiotique de choix avec un taux de **3%**.

Et pour la résistance des entérobactéries, notre étude a montré des taux de résistance important pour l'amoxicilline, la ticarcilline avec des taux respectifs de 58% et 54%. Ces résultats sont différents de ceux de Berrezzouk au Maroc, en 2008 a montré que les entérobactéries présentent de forts taux de résistance à l'amoxicilline (94,5%), cette résistance est liée à la production de pénicillinases acquises ou de β -lactamases chromosomiques naturelles (**Berrezzouk, 2008**).

Les entérobactéries présentaient un taux de résistance aux céphalosporines de troisième génération (**50 %**), résultat supérieur à ceux (42,6 %) observés au Maroc (**Elouennass, 2008**). Dans une étude faite au Tunisie, Saïdani *et al* retrouvent la présence des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération dans l'ensemble des services (29%), associée à la résistance aux aminosides et aux fluoroquinolones (**Saïdani et al., 2006**). Aussi notre étude révèle néanmoins que l'imipénème reste actif.

Discussion

Pour *Escherichia coli*, les taux de résistance, de notre étude à l'amoxicilline est de 37 % et à la ticarcilline est de 32 %, et qui sont inférieurs à ceux des données de la littérature respectivement (50 %, 41 %) (**Moumille et al., 2004**).

Pour la ciprofloxacine, le taux de résistance est de 28 % dans notre étude, ce taux est élevé par rapport à ce qui a été observé dans les autres études (9 %, 2,7 %, 11,8 %, respectivement) (**Velasco et al., 2003; Moumille et al., 2004; Mallat et al., 2004**).

Nous remarquons que les souches d'*Escherichia coli* identifiées dans notre étude sont apparues très sensibles à l'amikacine (93%), l'imipénème (100%) et à l'ertapénème 64%, et moyennement sensible au triméthoprime-sulfaméthoxazole 56%, et 43% au céfotaxime.

Ces résultats sont superposables à ceux de Ben Hamed *et al* qui ont trouvé à Sfax en Tunisie près de 90% de sensibilité à l'amikacine. En outre, selon des résultats basés sur les pourcentages de résistance des bactéries aux antibiotiques au laboratoire de microbiologie du CHU en 2014 ont également noté une sensibilité élevée à la ciprofloxacine (73%), l'imipénème avec un pourcentage de 99% et la genatmicine de 82%.

Sow *et al* ont également noté au C.H.U de Fan à Dakar une sensibilité élevée aux fluoroquinolones avec 90% d'inhibition des souches.

Dans notre étude, nous avons noté un profil de résistance naturelle des souches isolées de *Klebsiella pneumoniae* à l'amoxicilline et à la ticarcilline 100% résistants, Une résistance élevée de 81 % au céfotaxime (marqueur de BLSE), Ces résultats sont proches de ceux retrouvés au laboratoire du CHU en 2014 qui ont montré une résistance naturelle à l'amoxicilline et à la ticarcilline et un taux de résistance de 50% au la céfotaxime.

Notre résultat a montré, environ 73% de sensibilité observée pour l'amikacine et 100% pour l'imipénème, alors que l'ertapénème, la ciprofloxacine et l'association Thrimétoprime + Sulfaméthoxazole sont inactifs avec respectivement un taux de résistance de 70%, 60% et 53%.

Ces résultats sont différents de ceux de Lankonade en 2002 qui rapportent plus de 90% de sensibilité pour la ciprofloxacine et l'amikacine (**Lankonade, 2002**).

Selon Ben Hamed *et al* à Sfax en Tunisie ont trouvés une sensibilité près de 95% pour l'amikacine a été notée.

Discussion

Pour la résistance des Bacilles non fermentant, les souches isolées dans notre étude présentent un taux de **62%** à la ticarcilline, **70%** à la céftazidime et une résistance faible à l'imipénème de **23%**. Nous remarquons aussi que les souches isolées dans notre étude sont apparues résistantes avec un taux de **69%** pour la gentamicine et l'amikacine avec un pourcentage de **54%**. Ce taux est élevé par rapport aux données de la littérature surtout celles d'Elouennass *et al* en 2004 avec un pourcentage de résistance à l'amikacine de 22,10% et à la gentamicine de 36,5%. Par contre ces Bacilles restent sensibles vis-à-vis l'amikacine dans d'autres études (**Berrezzouk, 2008; Ben haj khalifa et Khedher, 2010**).

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées se sont révélées résistantes aux principaux antibiotiques utilisés comme la ticarcilline avec un taux de **59%**, par ailleurs la céftazidime et l'imipénème représentent des taux respectifs de **48%**, et **20%**. Alors que des résultats basés sur les pourcentages de résistance des bactéries aux antibiotiques au laboratoire de microbiologie du CHU Constantine en 2014 présentent un taux de résistance de 25.7% à la céftazidime. Par ailleurs Diop rapporte une sensibilité totale à la céftazidime (**Diop, 2001**).

Comparativement à ce qui a été décrit dans la littérature, l'incidence de résistance de souches de *P. aeruginosa* à l'imipénème se situe parmi les plus faibles à un taux de 9,09%. La résistance de *P. aeruginosa* aux bêta-lactamines est variable d'un pays à l'autre. Cette variabilité peut être expliquée par le fait que les bactériémies à *P. aeruginosa* sont le plus souvent d'origine endogène (**Berrezzouk, 2008**).

L'activité des fluoroquinolones sur *P. aeruginosa* est très variable selon les études ; dans notre étude le taux de résistance à la ciprofloxacine est de **53%**. Ce taux est très élevé par rapport aux résultats des autres études comme: Diop (20%) et Berrezzouk (27%) et aussi El mouali (22%) (**Diop, 2001; Berrezzouk, 2008; El mouali, 2012**).

Dans notre étude le taux de sensibilité des germes de *Pseudomonas aeruginosa* à la colistine est élevé (**78%**). Ces résultats sont proches de ceux de Diop (60%) et Berrezzouk (81,82%) qui arrivent à la même conclusion pour cet antibiotique (**Diop, 2001; Berrezzouk, 2008**).

Dans les bactériémies à *Pseudomonas* où le pronostic vital est en danger, il est préférable d'utiliser la colistine car aucune résistance n'est détectée (**El mouali, 2012**).

Discussion

Dans notre étude, l'amikacine enregistre un taux de sensibilité de 37%, par contre Dia déclare dans son étude que les souches sensibles ont un taux de 93%, alors que Berrezzouk en 2008 a retrouvé un taux de sensibilité totale à cette molécule sur le germe.

La gentamicine présente un taux de résistance de 50% sur *Pseudomonas aeruginosa* dans notre étude, ce taux de résistance est proche de celui observé par Philippon *et al*, qui rapportent un résultat de l'ordre de 30 à 40%. En outre, des résultats basés sur les pourcentages de résistance des bactéries aux antibiotiques au laboratoire de microbiologie du CHU en 2014 restent supérieurs à nos résultats avec un taux de 73%.

Concernant le profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii*, on a noté que les germes sont résistants à la gentamicine avec un taux très élevé de 92%, en revanche la colistine garde une bonne efficacité comparativement à d'autres antibiotiques. Dans une étude faite au Maroc, Berrezzouk a retrouvé des résultats proches des notre: une résistance totale à la gentamicine et une résistance de 83% à la colistine.

On note que l'imipénème représente un taux de sensibilité de 80%. Alors que dans une autre étude au Maroc, l'imipénème n'a pas gardé une bonne efficacité, comparativement avec d'autres régions dont le taux de résistance ne dépasse pas les 10%, ceci a été due à l'utilisation massive de cette molécule. La résistance des bacilles à Gram négatif non fermentant aux bêta lactamines, notamment d'*A.baumannii*, pose un problème épidémique au niveau des centres hospitaliers universitaires au Maroc (**El mouali, 2012**).

La capacité de ces espèces à persister et à résister au niveau de l'environnement hospitalier et leur capacité à cumuler des facteurs de résistance aboutissant rapidement à une impasse thérapeutique expliquent les taux de résistance constatés (**Tam *et al.*, 2010**).

Pour la ciprofloxacine, le taux de la résistance a été de 94% avec une sensibilité faible de 6%, cette molécule est devenue presque inactive contre *Acinetobacter baumannii* ces dernières années. Des taux similaires étaient rapportés dans d'autres pays en voie de développement, notamment en Amérique latine en revanche dans les pays développés, ce taux ne dépasse pas **25 % (Fluit *et al.*, 2000)**.

Discussion

Les EBLSE sont diversement distribuées selon les continents et à l'intérieur d'un même continent, selon les zones géographiques (**Shah et al., 2004**). Elles sont de plus en plus impliquées dans les infections tant communautaires que nosocomiales et constituent un réel problème de santé publique.

La production des BLSE chez nos souches est de 32%. Selon le réseau national de surveillance des bactéries résistantes en Algérie, en 2009, la production de BLSE était de 22,02% dans 16 laboratoires (**Benslimani, 2009**).

Les BLSE étaient essentiellement *Klebsiella pneumoniae* (43%), *E coli* (55%), puis *Enterobacter spp* (9%), *proteus mirabilis* avec un pourcentage de (6%), *Salmonella heidelberg* (4%). Ces résultats sont proches de celle de Medboua a été retrouvée un pourcentage de 39% pour *Klebsiella pneumoniae* et *proteus mirabilis* avec 4% (**Medboua, 2011**). Selon une étude menée dans un hôpital universitaire Tunisien *K pneumoniae* représentait 94,9% de l'ensemble des Klebsielles (**Ben HajKhalifa et Khedher, 2010**).

Dans nos résultats les BLSE présentent un taux de résistance totale à la ticarcilline et un taux de 87% à l'amoxicilline, le taux de résistance au céfotaxime est de 97%.

Pour les autres résistances associées aux β -lactamines, on retrouve la ciprofloxacine qui montre un taux de 62%. Touati *et al* en 2006 ont rapportés un taux de 0%. Cependant plusieurs auteurs ont rapporté des taux de résistance variables à cette molécule : 55% de souches BLSE sont résistantes à la ciprofloxacine dans l'étude rapportée par Eisner *et al.* (**Eisner et al., 2006**), et 80% rapportés par Goossens et Grabein (**Goossens et Grabein, 2005**).

La résistance aux aminosides observée dans notre étude est faible. Pour l'amikacine, on note 25% de résistance. Des taux de 76% de résistance aux aminosides sont rapportés par Touati *et al* 2006. L'association de la résistance de ces molécules a été signalée par de nombreux auteurs (**Lemort et al., 2006**).

Et pour l'association triméthoprime-sulfamethaxazole, on trouve un taux de résistance de 58%. Selon Qachaou en 2011 a enregistré un taux de 81% pour l'association triméthoprime-sulfamethaxazole (**Qachaou, 2011**).

Discussion

Pour prévenir la dissémination des entérobactéries productrices de BLSE, il faut:

- Lutter contre la transmission des bactéries résistantes à des sujets qui ne les hébergeaient pas (prévention par le respect des mesures d'hygiène).
- Lutter contre la diffusion amplifiée par l'usage des antibiotiques : «pression de sélection », action sur les flores endogènes (tube digestif...) et expositions individuelle et collective (**Salam, 2014**)

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques se traduit dans la pratique hospitalière par une augmentation de la morbidité et parfois de la mortalité (**Harbarth, 2001; Cosgrove et al., 2003**) ainsi que des coûts élevés d'hospitalisation (**Cosgrove et al., 2002; Cosgrove et Carmeli, 2003**).

Pour le clinicien, la connaissance des espèces bactériennes les plus fréquemment rencontrées dans une pathologie et de leur sensibilité aux principaux antibiotiques est essentielle pour initier un traitement efficace, cela est particulièrement vrai pour les infections graves et en particulier les bactériémies. Dans ce cas, l'antibiothérapie probabiliste doit être d'emblée adaptée car elle conditionne le pronostic de la maladie (**Berrezzouk, 2008**).

Conclusion

Conclusion

Les bactériémies sont des affections fréquentes en milieu hospitalier et leur évolution est généralement défavorable en l'absence d'un traitement antibiotique efficace.

Leur diagnostic doit être rapide et précis, l'hémoculture est l'outil puissant qui permet de poser ce diagnostic, mais comme pour la plupart des examens microbiologiques, son interprétation est parfois difficile. Le clinicien doit intégrer de nombreux paramètres dans son analyse pour appréhender correctement la signification, le pronostic et la meilleure approche thérapeutique d'une hémoculture positive.

Une bonne connaissance de ces paramètres, et plus particulièrement de la microbiologie et de l'épidémiologie des bactériémies, lui sera également utile pour faire un choix d'antibiothérapie empirique lorsque le diagnostic d'infection bactérienne systémique sera soupçonné

La connaissance de l'écologie bactérienne et la surveillance de la résistance aux antibiotiques sont nécessaires pour guider le choix judicieux des antibiotiques dans notre environnement. La justesse de la prescription, le respect des conditions de prélèvement des hémocultures et un renforcement des mesures d'hygiène en milieu hospitalier sont à promouvoir pour une meilleure pratique des hémocultures.

Au terme de notre étude, les observations suivantes peuvent être faites :

- Sur le plan épidémiologique le taux de positivité des hémocultures est relativement supérieur aux données de la littérature.
- Le diagnostic étiologique de cette infection nous a permis d'identifier les principaux germes en cause : les Gram négatif dont les Entérobactéries sont majoritaires, suivis par les bacilles à Gram négatif non fermentaires, et dans une moindre mesure les *brucelles*.

Les Gram négatif sont représentés principalement par les Entérobactéries dont les plus isolées sont *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter spp*. Et les bacilles à Gram négatif non fermentaires sont représentés par *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp*.

- sur le plan de la sensibilité des germes aux antibiotiques : les Entérobactéries isolées présentent une résistance élevée à l'amoxiciline et une sensibilité assez élevée vis-à-vis

Conclusion

l'imipenème et l'amikacine; en ce qui concerne les bacilles à Gram négatif non fermentaires, la colistine est l'antibiotique de 1^{er} choix dans le traitement.

Par ailleurs le taux des BLSE est assez élevée, les souches les plus concernée sont : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* suivis par *Enterobacter spp* et *proteus mirabilis*.

L'écologie bactérienne au C.H.U de Constantine présente une diversité bactérienne, avec des taux élevés de résistance aux principales familles d'antibiotiques. Ce travail devrait permettre d'adapter l'antibiothérapie probabiliste des bactériémies, et de mettre en place une stratégie de contrôle du développement et de la diffusion des bactéries multi résistantes. Un renforcement des mesures d'hygiène en milieu hospitalier pourrait permettre de réduire les bactériémies à germes multi résistants.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

- Achkour Z.** (2012). Emergence de la résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V- Soussi, Rabat, p. 7. Infectieuses,8-006-N-IO,1996,p8.
- Accrombessy S, Doussouh V.** (2014). Apport du BacT/ALERT 3D dans les hémocultures au Centre National Hospitalier Universitaire -Hubert Koutoukou Maga de Cotonou. Mémoire de licence professionnelle. Université d'abomey-calavi, Benin, p.2.
- Agnihotri N, Kaistha N, Gupta V.** (2004). Antimicrobial susceptibility from neonatal septicemia. *Jpn J Infect Dis*, 57: p.273-5.
- Allag H.** cours des bacilles à Gram négatif, 2013.
- Allan R.** Tunkel, MD, PhD, Brown University. Bactériémie-maladies infectieuses-édition professionnelle du Manuel Merck [en ligne]. (Page consulté le 17/03/2017).
- Al-Rawazq H.S, Mohammed A.K, Al-Zubaidy R.H.** (2012). Bacterial isolates in blood culture of children with septicemia. *J Fac Med Baghdad*, 54(1): p. 96-99.
- Archibald L.K, Pallangyo K, Kazembe P, Reller L.B.** (2006). Blood culture contamination in Tanzania, Malawi, and the United States: a Microbiological Tale of Three Cities. *J Clin Microbiol*, 44: p.44-25-9.
- Avril J. M., Dabernat H. et Monteil D. H.** (2000). Bactériologie clinique. 3ème Ed. Ed Elsevier. Paris. P 602.
- Baerwolf S, Geffers C, Behnke M.** 2002. Correlation between transmissions and the nosocomial infection rate in five different intensive care units in a German university hospital. SHEA216.
- Bakhom I.** Contrôle de qualité et validation de différentes micro méthodes d'identification bactérienne. Thèse Pharmacie, 2004.
- Baudat V, Chuard C, Regamey C.** (2005). Revue des hémocultures positives sur deux ans à l'hôpital cantonal de Fribourg. *Med Suisse*, 36.
- 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.
- Berrezzouk M.** (2008). Hémoculture: profil bactériologique de sensibilité aux antibiotiques à propos de 539 prélèvements collectés au laboratoire de l'hôpital Cheikh Zaïed à Rabat. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Mohamed V, Maroc, p.1-8-9-16-56-62-72-80.

Ben Hamed S, Koun F, Khcharem M, Rekik N, Ellouze F.(1988). Etude de la sensibilité des bacilles à Gram négatif à l'hôpital de SFAX. *Méd. Mal. Infect*, 2 bis : p.115-117.

Benhanna M, Benkabouya N, Mechri I. (2006). Contribution à la connaissance du lait camelin_ étude de l'effet du composant 3 des protéase-peptones. (PP3). Contre la flore endogène et la flore exogène du lait camelin. Mémoire de fin d'étude en biologie. Université Kasdi merbah Ouargla, Algérie.

Ben Haj Khalifa A, Khedher M. (2010). Fréquence et profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des hémocultures au CHU de Mahdia. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 4 (3) : p. 92 – 95.

Bergogne Bérézin E. (1992). La pratique de l'hémoculture en France : résultats d'une étude multicentrique, *Rev. Fr. Lab.* 244 (1992) 2127.

Biomerieux SA. (2004). Api 20 NE Réf. 20 050. Système d'identification des bacilles à Gram négatif. p : 1-4.

Bourneton O, Mutel T, Heranney D, Hernandez C, Lavigne T, Waller J. (2010). Incidence des bactériémies et fongémies aux hôpitaux universitaires de Strasbourg de 2005 à 2007, *Pathologie Biologie*, 58;p. 29–34.

Chablou M. (2011). Les infections nosocomiales au service de réanimation polyvalent de Fés. Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, p.34.

Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. (2003). Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*; 36(1):53–9.

Cosgrove SE, Kaye KS, Eliopoulos GM, Carmeli Y. (2002). Health and economic outcomes of the emergence of third-generation cephalosporin resistance in *Enterobacter* species. *Arch Intern Med*; 162(2):185–90.

Cosgrove SE, Carmeli Y. The impact of antimicrobial resistance on health and economic outcomes. *Clin Infect Dis* 2003;36(11):1433–7.

Denis F, Cécile M. (2007). Ploy Bactériologie médicale: techniques usuelles : 111,112,113,115.

Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen E, Quentin R. (2007). Bactériologie médicale, techniques usuelles. 2^{ème} édition. Edition Masson. Paris. P.372-376.

Dia N. (1998). Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes Isolées d'hémocultures au CHU Le Dantec. Thèse Pharm., Dakar, ~n055.

- Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Winokur PL, Gales AC, et al.** Survey of bloodstream infections due to Gramnegative bacilli: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, and Latin America for the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997. *Clinical Infectious Diseases* 1999; 29:595–607.
- Diop R.** (2001). Standardisation et optimisation d'une microméthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires. Thèse Pharmacie, Dakar. N° 75.
- Dong Y, Chellius M.k, Brisse S, Kozyrovska G, Triplet E.W.** (2003). Comparaisons between two klebsella : the plant endophyt *k.pneumoniae* 342 and clinical isolate *k.pneumoniae* MGH78578. *J symbiosis* ; 35: p.247-259.
- El bouderkou M.** (2015). Bactériémies en réanimation: Epidémiologie, traitement et évolution. Thèse de doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad, Marrakech, p. 28-27-58-59.
- 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, Rabat, p.9-38-39-42-48--57-58.
- Elouennass M, Shahnoun I, Zrara A, Bajjou T, Elhamzaoui.** (2008). Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002-2005). *Med Mal Infect*, 38: p.18-24.
- Élouennass M, Foissaud F. Trueba K, Doghmi J.V, Malfuson b T, Fagot b C, Mac Nab T, Samson B, Souleau T, de Revel G, Nedellec V, Hervé.** (2004). Étude sur sept ans des isolats d'hémocultures dans un service d'hématologie clinique. *Médecine et maladies infectieuses*, 34: p.18–24.
- Elmaataoui A, Elghazouani M, Akwa Eric, K N, Doghmi M , Mikdame, S, Elhamzaoui M, Elouennass.** (2009). Épidémiologie des isolats d'hémocultures: expérience d'un service d'hématologie clinique. *Ann Biol Clin*, 67 (3): p.7-293.
- Fauchère J. L. et Avril J. L.** (2002). Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. Paris. 368P.
- Foegle J.** (2010). Incidence des bactériémies et fongémies aux hôpitaux universitaires de Strasbourg de 2005 à 2007, *Pathologie Biologie*, 58:p. 29–34.
- Fortin F.** (2013). Surveillance des bactériémies nosocomiales panhospitalières 1er avril 2011-31 mars 2012. Institut national de santé publique du QUÉBEC.
- Fluit AC, Jones ME, Schmitz FJ, Acar J, Gupta R, Verhoef J.** (2000). Antimicrobial

susceptibility and frequency of occurrence of clinical blood isolates in Europe from the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997 and 1998. *Clin Infect Dis*; 30(3):454–60.

Giamarellou H., Antoniadou A. et Kanellakopoulou K. (2008). *Acinetobacter baumannii* : a universal threat to public health . International Journal of Antimicrobial Agents. 32:106-119

Grappin M., Chavanet P., Portier H. (2007). Bêtalactamines. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Traité de Médecine Akos, : 5-0020.

Harbarth S. (2001). Nosocomial transmission of antibiotic-resistant microorganisms. *Curr Opin Infect Dis*; 14(4):437– 42.

Jarno P, travenard A. (2010). Surveillance des bactériémies Clin Ouest.

Kuo SC, Fung CP, Lee YT, Chen CP, Chen TL. Bacteremia due to *Acinetobacter* genomic species. *J Clin Microbiol* 2009; 48: 586-90.

Karlowky J.A, Jones M.E, Draghi D.C, Thornsberry C, Sahm D.F, Volturo G.A.(2004). Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 3: p.1-8.

Kane Diop A. (2001). Bactériémies acquises en réanimation aspects épidémiologiques et thérapeutiques dans le service de réanimation polyvalente du CHU de Dakar. Thèse de doctorat en médecine. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, p.10-70.

Khatab S, Talleb M-S,Boudjema W. (2010). la brucellose. Mémoire de fin de cycle. Université Abou bakr belkaid Tlemcen, Algérie.

Kouadio Allou F, Kangah-N'gorant T, Okpoboyou SL, Kouamé-Elogne C, Kacou-N'douba A , Dosso M . (2013). Apport du Bact/ALERT 3D dans le diagnostic des septicémies et étude des bactéries isolées au centre hospitalière et universitaire (CHU) de Cocody de 2010 À 2011. *Revue Bio-Africa* - N° 11, pp. 13-19.

Labani Y. (2016). Profil bactériologique et fréquence de résistance aux antibiotiques de l'infection du pied diabétique. Thèse de doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad, Marrakech, p. 8.

Lachhab Z. (2014). Les bactériémies aux services de la réanimation de l'HMIMV de Rabat. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V-Souissi, Rabat, p.1-68.

Lagha N. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. thèse de doctorat en Sciences. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, Algérie, p.4-5.

- Lambert T.** (2007). Acinetobacter. In : Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R. Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson. Paris. P : 344-346.
- Lankoande H.** (2002). Aspects épidémiologiques, Diagnostiques, Thérapeutiques et Pronostiques des septicémies au C.H.N.S.S de Bobo- Dioulasso à propos de 522 cas. Thèse de doctorat en médecine. Université d’Ouagadougou, Burkina Faso, p.1-20-9-41-95-96-97-99-103.
- Lavigne J-P, Gaillard J-B, Bourg G, et al.** (2008). Etude de souches de *Stenotrophomonas maltophilia* sécrétrices de BLES : détection de CTX-M et étude de la virulence. *Pathologie Biologie* : 65 : 447-453.
- Le réseau Microbiologie du CCLIN C. CLIN-Ouest.** Surveillance des Bactériémies aux établissements publics et privés de l’inter-région ouest 2008.
In: http://www.cclinouest.com/pages/surveil_bacteriemies.htm
- Le Rémic.** (1998). Référentiel en microbiologie médicale (bactériologie et mycologie), Société française de microbiologie.
- Liassine N.** (2000). Problème des pathogènes à Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweiz Med Wochenschr.*130: p. 1930- 1936.
- Makki A.** (2007). Septicémie et choc septique. Université Libanaise -Maitrise en sciences de Laboratoire. Liban. P : 25-28.
- Mallat H, Grohs P, Levy A, Mainardi J-L.** (2004). Étude rétrospective des bactériémies diagnostiquées aux urgences : fréquence, sensibilité des microorganismes et intérêt dans la prise en charge thérapeutique *Médecine et maladies infectieuses*, 34: p. 310-315.
- Martin C.** (2011). Bacilles à Gram négatif non fermentaires. In: Denis F, Poly M-C, Martin C, Bingen E, Quentin R. Microbiologie médicale. 2^{ème} édition. Elsevier Masson. P.107-115-146-368-370-413-417.
- Medboua C.** (2011). Caractérisation des phénotypes de résistance aux β -lactamines à large spectre des bacilles à Gram négatif isolés au niveau du laboratoire central mère et enfants du CHU Beni-Messous d’Alger. Mémoire de magister : Microbiologie Appliquée aux Substances Antimicrobiennes .Université Abderrahmane MIRA – Béjaïa, algérie, p.4 -32-38.
- Michich A.** (2002). Les infections nosocomiales à propos de 55 cas colligés au Maroc. Thèse de doctorat en pharmacie. Université cheikh anta diop de Dakar, Sénégal, p.9-31.
- Moudjongue Omock S.** (2014). Mise en place d’un système de surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques: Cas des hémocultures au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako. Thèse de doctorat en pharmacie. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali, p.3-27-28-61-62.

Moumle K, Carbonne A, Rouquet M-L, Gamard M-N, Bornard-Rousselot A, Jarlier V, Cambau E. (2004). Étude descriptive des bactériémies dans un hôpital gériatrique universitaire, 52 : p. 557-565.

Okalla Ebongue C, NdaMefo'o J.P, Ngouadjeu Dongho E, Eboumbou Moukoko E .C, Adiogo D, Beyiha G. (2014). Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des isolats d'hémoculture (2006 –2011) à Douala, Cameroun. *Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie*, 2 : p.27-31-39.

Pebret F. (2003). Maladies infectieuses, toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales. *Heure de France*. Paris. p. 48-49.

Peleg A.Y., Seifert H. et Paterson D.L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*.21(3): 538-582.

Petit pierre N, Allemann P, Mossaz L, Buchs N. (2002). Les Brûlés : une approche pluridisciplinaire.

http://www.medecine.unige.ch/enseignement/apprentissage/module4/immersion/archives/2001_2002/travaux/02_r_brules.pdf

Phillippon A, Thabout A, Nevot P. (1985). *Pseudomonas aeruginosa* et bêta lactamases In : l'antibiogramme MPC-Videom Paris: 103- 110.

Pilet C, Bourdon JL, Toma B, Marchal N, Balbastrec. (1979). Les entérobactéries. Bactériologie médicale : Systématique bactérienne. Doins, Paris, 2^{ème} éd: 109-87.

Prakash KP, Vinod A, Geethanjali. (2014). Blood stream Bacterial Pathogens and their Antibiotic Resistance Pattern in Dhahira Region. *Oman Medical Journal*, (26) 4: p.240-247.

Qachaou A. (2011). Entérobactérie productrice des beta-lactamase à spectre élargi : épidémiologie et profil de résistance aux antibiotiques. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V-Souissi, Rabat, p.35.

Ramoul A. (2014). Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar –Annaba, Algérie, p.47.

Roberts SA, Findlay R, Lang SDR. Investigation of an outbreak of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care burns unit. *J Hosp Infect* 2001; 40:228–32.

Saïdani M, Boutiba I, Ghazzi R, Kammoun A, Ben Redjeb S. (2006). Profil bactériologique des bactériémies à germes multi résistants à l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis. *Med Mal Infect*, 36: p.163-6.

Salou M, Dossim S, Ekouevi D.K, Al-moustapha Issiaka M , Nyasenu Y.T, Tigossou S.

D, Mireille P.D, Anoumou Yaotsè D. (2014). Aspects épidémiologiques et bactériologiques des hémocultures au CHU-Sylvanus Olympio de lome /Togo. *Journal de la Société de Biologie Clinique du Bénin*, 21: p.69-740.

Salam IH. (2014). Les entérobactéries productrices de bêtalactamase à spectre étendu : actualités en 2013. Thèse de doctorat en pharmacie. Université mohammed V-souissi, Rabat, p.8.

Schuster C. Pseudomonas et apparentés. *Syst. Microbiol* : 2001 : 1-6

Sekhri Arafa N. (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse de doctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine, Algérie, p.5-70.

Sékou Koné M. (2009). Bilan de sept (7) ans d'hémoculture en milieu hospitalier pédiatrique de Bamako. (2009). Thèse doctorat en médecine. Université de Bamako, Mali, p.2-19-20-21-23-26-62-74-75.

Soraa N, Zougaghi L, Zahlane K, Admou B, Haouach K, Kachach M, Chabaa L. (2011). Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un centre hospitalo universitaire marocain. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 5 (2) : p.78-81.

Sow A.I, Faye-Niang M.A, Mboup E.M, BoyeC.S, Cisse M.F, Ndour C.T, Soumare M,Gaye M. (1997). Profil de sensibilité des entérobactéries isolées au CHU de Fann, à Dakar. *Dakar Médical*, 42 (2) : p.123-126.

Soussy CJ. (1997). État actuel de la résistance aux antibiotiques. *Médecine thérapeutique*; 3: p.24-36.

Tam VH, Chang KT, Abdelraouf K et al. (2010). Prevalence, mechanism and susceptibility of multidrug resistant bloodstream isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; 54: p. 11-60-4.

Thirion M, Dhainaut J-F, cario A. Définition des états infectieux. *Encycl Méd chir* (Elsevier, Paris), Anesthésie réanimation. 2010; 10,36-983.

Trivalle C. (2009). La septicémie. In: Chassagne P, Frioucourt P, Gonthier R, Jeandel C, Nourhashémi F, Pfitzenmeyer P, Belmin J, Gériatrie. Gériatrie .2^{ème} édition. Masson. Paris. P.379.

Vaubaudolle M. (2007). Infectiologie 3^{ème} édition. Collection le moniteur.

Vallés J.E. (2008). Blood stream infections in adults: Importance of healthcare-associated infections. *British infection society*, 27-34.

Velasco M, Martinez AJ, Moreno-Martinez A, Horcajada PJ, Buiz J, Barranco M, et al. (2003). Blood cultures for women with uncomplicated acute pyelonephritis: are they necessary? *Clin Infect Dis*, 37: p.11-27-30.

Walder M, Karlsson E, Nilsson B. (1994). Sensitivity of 880 blood culture isolates to 24 antibiotics. *Scand J Infect Dis*; 26:67–75.

Yersin C et Viénet V. 2008. Laboratoire de Bactériologie du CHUV. [en ligne]. (page consultée le 19/04/2017) essante.ch/uploads/diplomes/TD-CY-JV-HEMO.pdf

Zanetti G, Calandra T, de Muralt B, Bille J, Glauser MP. (1989). Candida fungemia. *Schweiz Med Wochenschr*, 119(36): 1213-18.

Zouhdi M. (2009). Cours de bactériologie, 3^{ème} année Pharmacie.

Références électroniques

<http://www.cnerea.fr/UserFiles/File/national/desc-des/livre-masson-2015/infections/septicemie.pdf> consulté le 03/03/2017

<http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/23699-sang-definition> consulté le 15/04/2017

Annexes

Annexe 1 : Bact-Alert3D:

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.



Annexe 2: Milieux de cultures.

Gélose au sang cuit

Mélange spécial de peptones.....	23g
Amidon.....	1g
NaCl.....	5g
Agar.....	10g
Sang de mouton.....	50ml

pH = 7.3

Gélose Hecktoen

Peptone	12g
Extrait de levure	3g
NaCl.....	5g
Sels biliaries.....	9g
Thiosulfate de sodium.....	5g
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5g
Lactose.....	12g
Salicine.....	2g
Saccharose.....	12g
Bleu de bromothymol.....	0,002g
Fuchsine acide.....	0,1g
Agar.....	14g

pH = 7.5

Milieu Mueller Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	300g
Hydrolysate de caséine.....	17.5g
Amidon	1.5g
Gélose	10g

pH = 7.4

Milieu T.S.I :

Extrait de bœuf.....	3g
Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	20g
Chlorure de Sodium.....	5g
Lactose.....	10g
Saccharose.....	10g
Glucose.....	1g
Citrate ferrique.....	3g
Thiosulfate de Sodium.....	3g
Rouge de phénol.....	0.025g
Gélose.....	12g

pH = 7.4

Milieu Mannitol-Mobilitéé-Nitrate

Peptone trypsique de caséine.....	10g
Mannitol	7.5g
Rouge de phénol à 1%.....	4m
Nitrate de Potassium.....	1g
Agar	3.5g

pH = 7.6

Milieu au citrate de Simmons

Sulfate de Magnésium.....	0.2g
Phosphate monoammonique.....	1g
Phosphate bipotassique.....	1g
Citrate de Sodium.....	2g
Chlorure de Sodium.....	5g
Bleu de Bromothymol.....	0.08g
Gélose	15g

pH = 7

Urée-indole.

Tryptophane.....	3g
Phosphate diacide de potassium.....	1g
Phosphate monoacide de potassium.....	1g
Chlorure de sodium.....	5g
Urée.....	20g
Alcool à 95°	10ml
Rouge de phénol en solution à 1%.....	20.5ml
Eau distillée.....	1000ml

Milieu Clark et Lubs









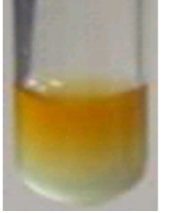

Peptone de white.....	5g
Glucose	5g
Phosphate de Potassium.....	5g

pH= 7.51

Annexes 3: Coloration de Gram

- Réaliser un frottis ou un étalement.
- Fixer la préparation à la flamme sans dépasser 50-60° (brièvement supportable à la main), ce qui la sécher puis laisser refroidir la lame.
- Immerger (ou inonder) la lame dans une solution de Cristal Violet pendant 1 mn.
- Laver à l'eau en transvasant la lame ou sous le robinet.
- Immerger les la lame dans du Lugol pendant 1mn.
- Laver à nouveau à l'eau.
- Décolorer jusqu'à disparition de la couleur violette dans l'alcool en faisant couler goutte à goutte sur la lame inclinée ou en immergant la lame pendant une dizaine secondes dans le décolorant.
- Laver à l'eau.
- Contre colorer avec la solution de Safranine diluée ou de fuchsine diluée pendant 20 à 30 secondes.
- Laver à l'eau et sécher à l'air ou en chauffant vers 50°. La lame doit être parfaitement sécher.
- Observer à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile à immersion.

Annexe 4: 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		
Clark et Lubs		

Annexe 5: Break-points des antibiotiques selon le CLSI

Antibiotiques	Break-point
Amx/Amp	14-16
Amx+ac.clav	15-20
Ticarcilline	15-19
Tic+ac-clav	15-19
Pipéracilline	18-20
Pip/tazobactam	18-20
Imipénème	14-15
Céfazoline	15-17
Céfoxitine	15-17
Céfotaxime	15-22
Ceftazidime	15-17
Céfotétan	15-17
Aztréonam	16-21
Cefépime	15-17
Tobramycine	13-14
Amikacine	15-17
Gentamicine	13-14
Kanamicyne	14-17
Isépamycine	15-17
Triméthoprim- Sulfaméthaxazole	11-15
Ac-nalidixique	14-18
Pefloxacine	13-15
Ciprofloxacine	16-20

Profil bactériologique des bactériémies à bacille Gram négatif

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes.

Les bactériémies sont des affections graves, responsables d'une morbidité et d'une mortalité significatives à travers le monde. Ces affections constituent une urgence diagnostique et thérapeutique.

Les objectifs de cette étude sont l'isolement et l'identification des germes en cause et la détermination de leurs profils de résistance.

Il s'agit d'une étude rétrospective d'une année (2016-2017) et le travail de paillasse de deux mois (Mars-Avril 2017) au niveau du centre hospitalier CHUC. La collecte des données s'est faite à partir des registres archivés d'hémoculture, en plus d'un stage pratique de deux mois.

Sur un total de 3408 hémocultures réalisées, 31% ont été considérées positives témoignant d'un état bactériémique, et 69 % étaient négatives. Le sexe masculin est le plus exposé à la septicémie. Les hémocultures isolées proviennent des différents services où le centre des brûlés est le grand provoyeur suivis par le centre de transfusion.

Mille quarante cinq (1045) souches bactériennes ont été identifiées, avec une prévalence des bacilles à Gram négatif de 49 %. Parmi les bacilles à Gram négatif isolés deux groupes prédominants, qui sont par ordre décroissant: les Entérobactéries, les Bacilles à Gram négatif non fermentants avec les proportions respectives de 61%, 34%, en plus les brucelles avec une moindre mesure (5%).

Les cent cinquante-huit souches productrices de BLSE les plus isolées sont *Klebsiella pneumoniae* par 68 isolats, *E.coli* par 55 isolats.

La connaissance de l'écologie bactérienne et la surveillance de la résistance aux antibiotiques sont nécessaires pour guider l'antibiothérapie dans notre environnement. Face au taux élevé de résistance aux antibiotiques, l'instauration d'un programme de surveillance est devenue importante pour définir les caractéristiques des bactériémies dans notre structure, et fournir ainsi la base pour un traitement empirique approprié.

Mots clés : La bactériémie, l'hémoculture, la résistance aux antibiotiques, les entérobactéries, les Bacilles à Gram négatif non fermentant.

Laboratoire de recherche : Le laboratoire de Microbiologie du C.H.U BENBADIS de Constantine.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr HAMIDECHI A. (Professeur-UFM Constantine),

Rapporteur : Mme SEKHRI-ARAFI N. (Maître de conférences-UFM Constantine),

Examinatrice : Mme OULMI L. (Maître de conférences-UFM Constantine).

Date de soutenance : 22/06/2017