



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

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 épidémiologique des septicémies nosocomiales au CHUC et à l'HMC 2014-2016

Présenté et soutenu par : *DERABLI Bisma*

Le : 26/06/2016

TIAOUININE Mounia

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr KITOUNI M. (Professeur - UFM Constantine).

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

Examineurs : Melle BOUCHLOUKH W. (Maître Assistante « A » - UFM Constantine).

*Année universitaire
2015 - 2016*

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Dieu tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

En second lieu nous tenons à remercier particulièrement et chaleureusement avec notre grande gratitude notre encadreur M^{me} Sekhri-Arafa Nedjouda pour tout le soutien, l'aide, l'orientation ainsi que pour ses précieux conseils et ses encouragements et sa disponibilité lors de la réalisation de notre mémoire. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles.

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

A M^{elle} Bouchloukh Warda d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

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.

A M^{me} Ouchenane.Z du laboratoire de l'hôpital militaire de Constantine pour sa grande générosité, son inestimable disponibilité, et sa patience.

Nos remerciements s'adressent également au personnel des deux laboratoires à Toufik, Nour el houda, Meriem et Amel. 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

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

A mon père RACHID l'unique dans son genres et ma mère Meissa ma source de tendresse, grâce à vous que je suis là. Que dieu vous protège pour moi.

A ma sœur SOFIA, merci énormément pour ton soutien plus que précieux.

A mon frère SAMI, mon ange gardien dans les moments les plus délicats dans ma vie.

A mes neveux et nièces Amejed, Acherf, Yara, Sara, Lina.

A mes amies Radja, Nedjma, Safia.



Besma

Dédicace

Au nom d'ALLAH le plus grand merci lui revient de m'avoir guidé vers le bon chemin, de m'avoir aidée tout au long de mes années d'études. Je dédie ce modeste travail à mes chers parents pour leur amour inestimable, leur confiance, leur soutien et leurs sacrifices, je les remercie de m'avoir accompagné tout au long de mon parcours.

A mes chers frères : Fateh et Fares pour leur encouragement continu.

A mes chères copines : Asma, Rania et Souheila.

A mes amis : Chaima, Mimi et Tyad.



Mounia

Liste des abréviations

API 20 E : Analytical profile index 20E (E= Entérobacéries)

ARA: Arabinose

BBT: Bleu de Bromothymol

BLSE: β -lactamase à Spectre Elargi

C.H.U : Centre Hospitalo Universitaire de Constantine

CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CO₂ : Dioxyde de carbone

GLU: Glucose

H.M.C : Hôpital Militaire de Constantine

LCD: Lysine decarboxylase

MAN: Mannitol

ODC: Ornithine decarboxylase

ONPG: Orthonitrophényl- β -galactoside

PLP : Protéine de liaison aux pénicillines

RHA: Rhamnose

RM: Rouge de Méthyle

SAC: Saccharose

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SOR: Sorbitol

Spp: Species

URE: Urée

VP: Voges-Proskauer

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes portes d'entrée.....	6
Tableau 2 : Répartition des principales espèces bactériennes isolées d'hémocultures d'après diverses études.....	17
Tableau 3 : Caractères biochimiques des Entérobactéries.....	26
Tableau 4 : Test de catalase.....	28
Tableau 5 : Test de coagulase.....	29
Tableau 6 : Test de l'oxydase.....	30
Tableau 7 : Aspect macroscopique des flacons.....	35
Tableau 8 : Identification biochimique des Entérobactéries.....	37
Tableau 9 : Répartition globale des souches isolées selon le Gram Gram	41
Tableau 10 : Répartition globale des souches isolées selon les groupes bactériens.....	42
Tableau 11 : Répartition globale des hémocultures selon le sexe.....	43
Tableau 12 : Répartition globale des germes selon le sexe au niveau du CHUC etl' HMC.....	43
Tableau 13 : Répartition des hémocultures selon le service.....	44
Tableau 14 : Répartition globale des principaux germes selon les services au niveau du CHUC et HMC.....	46
Tableau 15 : Profil de résistance aux antibiotiques des Bacilles non fermentants.....	49

Tableau 16 : Profil de résistance des Entérobactéries.....	51
Tableau 17 : Profil de résistance des Streptocoques.....	54
Tableau 18 : Profil de résistance des Staphylocoques.....	55
Tableau 19 : Profil de résistance des bactéries multi-résistantes.....	57

Liste des figures

Figure 1 : Composition de sang	3
Figure 2 : Image de synergie entre AMC et CTX chez <i>Escherichia coli</i>	32
Figure 3 : Test espagnol chez <i>Escherichia coli</i>	34
Figure 4 : Galerie API20E identifiant une souche <i>Escherichia coli</i>	37
Figure 5 : Galerie API20E identifiant une souche <i>Klebsiella pneumoniae</i>	38
Figure 6 : Galerie API20E identifiant une souche <i>Acinetobacter baumannii</i> ...	38
Figure 7 : Répartition globale des hémocultures selon la culture.....	39
Figure 8 : Répartition des hémocultures selon l'agent causal.....	40
Figure 9 : Répartition globale des hémocultures selon le type microbien.....	40
Figure 10 : Comparaison globale entre les 2 centres d'étude en fonction du Gram.....	41
Figure 11 : Répartition comparative en fonction des souches bactériennes.....	42
Figure 12 : Répartition des hémocultures selon les services au niveau du CHUC et H.M.C	45
Figure 13 : Profil global de résistance des souches isolées.....	48
Figure 14 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches <i>Acinetobacter</i> <i>spp</i>	50
Figure 15 : Profil de résistance aux antibiotiques des <i>Entrobacter spp</i>	52
Figure 16 : Profil de résistance aux antibiotiques des <i>Klebsiella pneumoniae</i> ..	52
Figure 17 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches <i>Escherichia</i> <i>coli</i>	53

Figure 18 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Figure 19 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches Staphylocoques à coagulase négative.....	56
Figure 20 : Profil de résistance des SARM.....	58
Figure 21 : Profil de résistance des souches <i>E.coli</i> BLSE.....	58
Figure 22 : Profil de résistance des souches de <i>Kebsiella pneumoniae</i> BLSE	59

Table des matières

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
1. Définitions.....	2
1.1. Infection	2
1.2. Sang.....	2
1.3. Septicémie.....	3
2. Distinction entre bactériémie et septicémie.....	3
3. Différentes variétés de septicémie.....	4
3.1. Septicémies à point de départ thrombo-phlébitique.....	4
3.2. Septicémies à point de départ lymphatique.....	4
3.4. Septicémies à point de départ endocardique.....	4
4. Stades de la septicémie et symptômes associés.....	4
4.1. Sepsis.....	4
4.2. Sepsis sévère.....	5
4.3. Choc septique.....	5
5. Les différentes portes d'entrée.....	6
6. Facteurs de risque.....	6
7. Hémoculture.....	7
8. Etiologie.....	7
8.1. Coccis à Gram positif.....	7
8.1.1. Staphylocoques	8
8.1.2. Streptocoques.....	9
8.2. Bacilles à Gram négatif.....	10
8.2.1. Bacilles non fermentants	11
8.2.2. Entérobactéries.....	12
8.2.3. Brucella.....	14
8.3. les anaérobies.....	15
8.4. Levures.....	16
9. Epidémiologie.....	16
10. Conduite à tenir devant une septicémie.....	17
10.1. Recherche de la porte d'entrée.....	17

10.2. Hémoculture.....	17
10.3. Recherche de la localisation secondaire.....	18
10.4. Traitement.....	18
10.4.1. Antibiothérapie probabiliste.....	18
10.4.2. Traitement adjuvant.....	18
10.4.3. Antibiothérapie selon les germes.....	19
10.5. Surveillance.....	19

Matériel et Méthodes

Matériel

1. Centre de l'étude.....	20
2. Taille d'échantillon.....	20
3. Duré de l'étude.....	20

Méthodes

1. Prélèvement	21
1.1. Moment du prélèvement.....	21
1.2. Éviter 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. Utiliser deux milieux de cultures.....	22
1.6. Transport des prélèvements.....	23
2. Identification bactérienne	23
2.1. Détection manuelle	23
2.1.1. Examen macroscopique.....	23
2.2. Détection automatisée par Bact Alert.....	24
2.3. Repiquage et isolement.....	24
2.4. Examen microscopique.....	25
2.5. Identification par galerie biochimique classique.....	25
2.6. Identification par galerie API20E.....	27
2.6.1. Principe.....	27
2.6.2. Technique.....	27
2.7. Test de catalase.....	28
2.8. Test de coagulase.....	29
2.9. Test de l'oxydase.....	30
3. L'antibiogramme.....	30

3.1. Méthode de diffusion en gélose	30
3.1.1. Le milieu.....	30
3.1.2. L'inoculum.....	31
3.1.3. L'ensemencement.....	31
3.1.4. Lecture et interprétation	31
4. Recherche de β -lactamase à spectre élargi (BLSE).....	32
4.1. Test synergie	32
4.2. Test du double disque (Test espagnol).....	33
4.2.1. Technique.....	33
4.2.2. Lecture et interprétation.....	33

Résultats

1. Identification macroscopique.....	35
1.1. Aspect macroscopique des flacons.....	35
1.2. Aspect macroscopique des colonies.....	35
2. Identification microscopique.....	36
3. Identification biochimique.....	36
4. Répartition globale des hémocultures selon la culture.....	39
5. Répartition globale des hémocultures selon l'agent causal.....	39
6. Répartition globale selon le type microbien.....	40
7. Répartition globale des souches isolées selon le Gram.....	41
7.1. Comparaison entre les 2 centres d'étude en fonction du Gram.....	41
8. Répartition globale des souches isolées selon les groupes bactériens.....	41
8.1. Répartition comparative entre les deux centres en fonction des souches bactériennes	42
9. Répartition globale des hémocultures selon le sexe.....	43
10. Répartition globale des germes selon le sexe au niveau du C.H.U.C et l'H.M.C.....	43
11. Répartition globale des hémocultures selon le service.....	44
11.1. Répartition des hémocultures selon les services au niveau du C.H.U.C et l'H.M.C	44
12. Répartition globale des principaux germes selon les services du C.H.U.C et l'H.M.C	45
13. Profil de résistance.....	47
13.1. Profil global de résistance des souches isolées.....	47
13.2. Profil de résistance des bacilles non fermentants.....	49
13.2.1. Profil de résistance des souches <i>Acinetobacter spp</i>	49

13.2.2. Profil de résistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
13.2.3. Profil de résistance des souches de <i>Burkholderia spp</i>	50
13.3. Profil de résistance des Entérobactéries.....	50
13.3.1. Profil de résistance des <i>Enterobacter spp</i>	51
13.3.2. Profil de résistance des souches <i>Klebsiella pneumoniae</i>	52
13.3.3. Profil de résistance des souches <i>Escherichia coli</i>	53
13.3.4. Profil de résistance de <i>Proteus spp</i>	53
13.3.5. Profil de résistance de <i>Serratia spp</i>	53
13.4. Profil de résistance des Streptocoques.....	53
13.5. Profil de résistance des Staphylocoques.....	54
13.5.1. Profil de résistance des souches <i>Staphylococcus aureus</i>	55
13.5.2. Profil de résistance des souches Staphylococcus à coagulase négative.....	56
13.6. Profil de résistance des bactéries multi résistantes.....	57
13.6.1. Profil de résistance des SARM.....	57
13.6.2. Profil de résistance des souches <i>E.coli</i> BLSE.....	58
13.6.3. Profil de résistance des souches <i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE.....	58
Discussion	60
Conclusion	72
Perspectives	73
Références bibliographique	74
Annexes	
Résumé	

Introduction

Introduction

Les septicémies sont des affections graves, responsables d'une morbidité et d'une mortalité significatives à travers le monde. Le taux de mortalité observé varie de 30 à 50 % des cas. Leur importance clinique est souvent sous-estimée en Afrique subsaharienne. Ces affections constituent une urgence diagnostique et thérapeutique. Elles sont généralement évoquées sur des arguments cliniques, mais leur diagnostic repose sur l'isolement de germes par les hémocultures. L'outil utilisé pour la réalisation des hémocultures était la technique conventionnelle. Cette technique exige souvent un délai incompatible avec l'urgence de la situation. Elle est lourde et mobilise un technicien à plein temps (**Accrombessy et Doussoh, 2014**).

La préoccupation majeure actuelle mais aussi à venir est le développement des résistances des germes aux antibiotiques. De nombreuses études ont été faites à travers le monde et particulièrement dans les pays africains pour apprécier l'environnement microbien et surveiller l'évolution des résistances des germes aux antibiotiques fréquemment utilisés (**Lankoande, 2002**).

Les septicémies ont aussi un impact socio-économique. Elles justifient un surcoût, en raison de l'allongement de la durée moyenne de séjour et de la prise en charge médicale supplémentaire nécessaire (**Thomin, 2015**).

Dans cette optique, nous avons mené cette étude aux deux centres hospitaliers de Constantine, afin de mettre la lumière sur les septicémies nosocomiales au niveau du centre hospitalo universitaire de Constantine (CHUC) et de l'hôpital militaire de Constantine (HMC) en analysant les statistiques d'hémoculture concernant deux années (2014-2015) et le premier trimestre de 2016.

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 2 centres d'étude
- La détermination du profil de résistance aux antibiotiques des principaux germes isolés.

Synthèse

bibliographique

1. Définitions

1.1. Infection

L'infection est définie comme un phénomène correspond à la présence ou à l'invasion de tissus stériles par des microorganismes pathogènes ; bactériens, parasitaires, fongiques ou viraux. Elle peut être localisée ou généralisée et l'évolution peut être aiguë ou chronique.

Une infection localisée se présente sous forme de foyer suppurés plus ou moins volumineux et peuvent revêtir différentes formes anatomiques : abcès, empyème, infections des séreuses,...etc. **(Prescott, 2010)**.

Une infection généralisée se caractérise par des passages massifs de germes dans le sang à partir d'un foyer microbien en évolution. Ce foyer initial constitue la porte d'entrée du germe et à partir de cette lésion locale primitive un matériel septique constitué de fragments de caillots infectés encore appelés embolus microbiens, migre dans la circulation sanguine **(Diop, 2004)**.

Une infection est dite nosocomiale, si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si elle est absente à l'admission à l'hôpital. Ce critère est applicable à toute infection **(Benabella, 2013)**.

1.2. Sang

Le sang est un liquide homogène **(Schaffler et Menche, 2004)** et il est considéré comme un tissu conjonctif parce qu'il est composé de cellules appelées globules sanguins qui baignent dans une matrice liquide nommée plasma **(Marieb, 2008)**.

Les cellules sanguines peuvent être divisées en trois groupes : **(Figure 1)**

- Les érythrocytes (globules rouges) : transportent l'oxygène et le dioxyde de carbone (CO₂), et représentent avec 99%, la particule la plus importante en volume des cellules sanguines.
- Leucocytes (globules blancs) : qui servent à la défense contre les agents infectieux et les autres substances étrangères, et qui peuvent de nouveaux être divisés en 3 grands groupes : les granulocytes, les lymphocytes et les monocytes.
- Thrombocytes (plaquettes) : qui participent à la coagulation sanguine **(Schaffler et Menche, 2004)**.

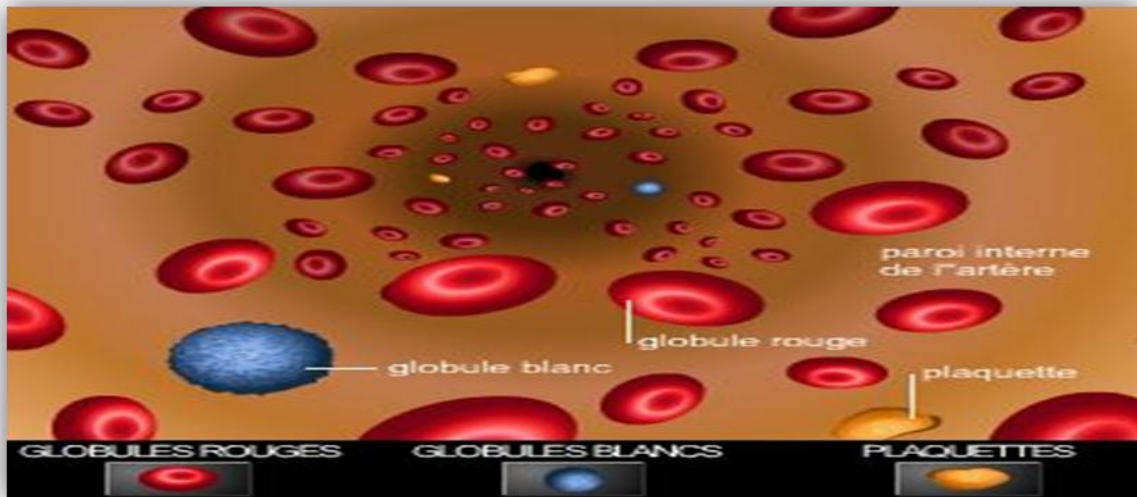


Figure 1 : composition de sang
(<http://www.larousse.fr>).

Le mouvement du sang dans les vaisseaux est provoqué par une pompe, le cœur. C'est l'ensemble formé par le cœur et les vaisseaux sanguins qui transportent le sang parcourant tout le corps, depuis le cœur jusqu'aux extrémités de chaque membre que l'on appelle le système circulatoire (ou système cardiovasculaire) (Ciyen, 2008).

Le sang transporte avec lui les nutriments, les déchets, les gaz respiratoires et un grand nombre d'autres substances (Marieb, 2008).

1.3. Septicémie

La septicémie est une infection généralisée, qui regroupe les manifestations cliniques et biologiques dues à des décharges massives et répétées des microorganismes viables dans le sang à partir d'un foyer septique initial appelé porte d'entrée (Pebret, 2003 ; Diop, 2004).

2. 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 ». Elles peuvent être primitives (sans porte d'entrée retrouvée) ou secondaires (avec porte

d'entrée) (Trivalle, 2009) ; ce qui aura largement ajouté à la confusion et aux difficultés issus de la comparaison d'études multiples.

3. Différentes variétés de septicémie

3.1. Septicémies à point de départ thrombo-phlébitique

Dues à des germes pyogènes (Staphylocoques, Streptocoques, ...) qui évoluent sur un mode aigüe. La thrombose veineuse est située au niveau de la porte d'entrée (cutanée ou muqueuse) et le germe présent au niveau du caillot passe périodiquement dans le sang (Diop, 2004).

3.2. Septicémies à point de départ lymphatique

La porte d'entrée est digestive, les ganglions mésentériques envahis par le germe, puis il y'a essaimage de ces germes dans la circulation sanguine par l'intermédiaire des vaisseaux lymphatiques (Dembele, 2008).

3.3. Septicémies à point de départ endocardique

Le foyer de départ est d'emblée dans le système circulatoire, il est situé le plus souvent sur l'endocarde (végétation des endocardites) les germes partant progressivement dans la circulation en se détachant de ce foyer septique (Dembele, 2008).

4. Stades de la septicémie et symptômes associés

4.1. Sepsis

C'est désormais le terme définissant un état inflammatoire d'origine infectieuse (on ne le sait pas toujours d'emblée) comportant 2 ou plus des signes suivants d'apparition récente sans cause médicamenteuse :

- Fièvre supérieur ($>$) à 38 degré Celsius ($^{\circ}\text{C}$) ou hypothermie inférieur ($<$) à 36 $^{\circ}\text{C}$.
- Tachycardie $>$ à 90/ minute (mn).
- Tachypnée $>$ 20/mn ou (la pression partielle en dioxyde de carbone dans le sang artériel $\text{Paco}_2 <$ 32 millimètre de mercure (mm Hg).
- Leucocytes $>$ 1200/millimètre cube (mm^3) ou 4000/ mm^3 ou leucocytes comportant plus de 10% de formes immatures (Trivalle, 2009).

4.2. Sepsis grave

Comporte en outre des signes de dysfonction d'organe par hypo perfusion ou hypotension :

- Troubles de conscience.
- Oligurie.
- pression systolique < 90 (mmHg) ou 40 mmHg sous le chiffre habituel (cause cardiaque ou hémorragique exclue).
- Une acidose lactique.
- Une hypoxémie (**Pebret, 2003**).

4.3. Choc septique

Une fois que la septicémie figure, plusieurs systèmes d'organes commencent à mal fonctionner, c'est l'état de choc.

Fondamentalement, le choc est la perte de la capacité du corps à maintenir la circulation ou il est dû à la libération de substances toxiques dans la circulation générale.

Les signes de choc septique peuvent survenir à n'importe quel moment de l'évolution ou d'une infection bactérienne ou à *Candida* et nécessite des soins d'urgence ainsi qu'un transport en unité de soins intensifs.

Le cœur peut travailler très dur, et peut battre plus vite (plus de 90 battements par minute).

Les reins n'ont peut être pas une circulation suffisante pour maintenir le débit urinaire. La peau peut être pale, froide et humide, la respiration peut être en surface, mais rapide (plus de 20 respiration par minute). La température corporelle peut varier ; soit supérieure à 38°C ou moins de 36°C.

Tous ces symptômes semblent être le résultat d'un excès de réponse du système immunitaire (**Lortholary et Duvivier, 2013 ; Rosales, 2016**).

5. Les différentes portes d'entrée

La majorité des agents pathogènes peuvent s'introduire dans le corps humain et celui d'autres hôtes par plusieurs voies appelées portes d'entrée. (**Martin et al., 2012**). (**Tableau1**)

Bibliographie

Tableau 1 : Les différentes portes d'entrée (Pebret, 2003 ; Makki, 2007; Lehot et Ricaud, 2012).

Portes d'entrée (Pebret, 2003)	Facteurs favorisants (Makki, 2007)	Germes (Makki, 2007)	Pourcentage (%) (Lehot et Ricaud, 2012)
Cutanée	furoncles, brûlure, panaris, plaies infectées,...etc.	<i>Streptocoques, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus.</i>	25
Muqueuse	infection ORL, dentaire,...etc.	coccis à Gram positif	
Vasculaire	cathéter, perfusion, endocardite, toxicomanie,...etc.	<i>Staphylocoques</i>	20
Digestive	péritonite, sigmoïdite, angiocholite, chirurgie abdominale, cholécystite,...etc.	les anaérobies, <i>Clostridium,</i> Enteroques, Entérobacteries	15
Uro-génitale	avortement, accouchement infecté, sonde urinaire,...etc.	<i>Klebsiella, Escherichia coli</i>	20
Respiratoire	pneumopathie, trachéotomie, intubation,...etc.	Entérobactérie, <i>Klebsiella pneumoniae.</i>	15

6. Facteurs de risque

Les études de Vallés et al en 2008 et Angus et al en 2001 montrent que certains facteurs prédisposent au développement d'une septicémie. Parmi eux :

Des facteurs de comorbidité :

- Le diabète, les pathologies cancéreuses, les patients présentant une déficience d'organe majeure, les granulocytopénies et les pathologies chroniques liées à une défaillance d'un ou de plusieurs organes en général (Thomin, 2015).

Des facteurs associés au traitement ou à la prise en charge du patient :

- L'utilisation croissante de dispositifs médicaux implantables (prothèse, pace-maker) ou encore l'emploi des cathéters et sondes urinaires ou

encore, la radiothérapie et les chimiothérapies anticancéreuses agressives, et l'utilisation massive de corticostéroïdes et les immunosuppresseurs notamment utilisés dans la prévention du rejet de greffe ou dans la prise en charge de certaines pathologies inflammatoires **(Latour, 2004)**.

D'autres facteurs tels que :

- L'âge des patients : les sujets âgés sont à risque par rapport au sepsis en raison de leur capacité restreinte à résister à l'infection et de leur propension plus grande à avoir une pathologie sous-jacente. De même, les nouveau-nés sont plus disposés à développer un sepsis (notamment en raison du risque de contamination par le Streptocoque du groupe B lors de l'accouchement).

Un facteur probablement prédominant, encore mal connu, le terrain génétique sous-jacent **(Latour, 2004)**.

7. Hémoculture

L'hémoculture est une technique de laboratoire dont le but est de mettre en évidence la présence ou l'absence de microorganisme (bactéries, levures) dans le sang et d'étudier leur sensibilité aux différents antibiotiques selon le cas. Mais ce n'est qu'à la fin du XIX^{ème} siècle que la pratique d'hémocultures s'est développée **(Berrezzouk, 2008 ; Sékou koné, 2009)**.

8. Etiologie

8.1. 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. De très nombreuses espèces existent.

Elles sont anaérobies et aérobies strictes ou aéro-anaérobies facultatives. **(Lankonade, 2002)**.

8.1.1. Staphylocoques

Le terme Staphylocoque est dérivé du grec "Staphyle", qui signifie grappe. Découverts dans un pus par Pasteur en 1880. Se présentent sous forme de cocci en petits amas (grappe de raisin), en diplocoques ou en très courtes chaînettes, mesurant 0,8 à 1 micromètre (μm). (Eveillard, 2007 ; Dicko, 2013).

Les espèces appartenant aux Staphylocoques possèdent une catalase et se développent en aérobie (Allassane, 2001 ; El Haddad, 2010).

- *Staphylococcus aureus*

Est une bactérie pyogène qui produit un pigment jaune doré citrin non diffusible

Elle est immobile, non sporulée et ne possède pas de capsule visible au microscope optique sauf des souches très rares (Eveillard, 2007 ; Dicko, 2013).

- *Staphylocoque à coagulase négatif (SCN)*

Les Staphylocoques autres que *Staphylococcus aureus* sont souvent identifiés aux espèces non productrices de coagulase et sont connus comme "*Staphylocoques à coagulase négative*". Leur identification se faisant par opposition à *Staphylococcus aureus* (Morot, 2006).

- **Virulence**

Les Staphylocoques colonisent la peau et les muqueuses par l'intermédiaire de protéine de surface ou adhésines permettent de fixer des molécules plasmatiques (fibrogènes, fibronectine) ou tissulaire (collagène), et jouent un rôle primordial dans la colonisation des tissus la diffusion hématogène à partir de foyer primaire se fait probablement par le biais thrombophlébites locales où la coagulase joue un rôle majeur et se lie à prothrombine et forme un complexe appelé Staphylothrombine.

D'autres enzymes hyaluronidase, désoxyribonucléase, lipase, estérase jouent également un rôle lors de la diffusion tissulaire des Staphylocoques.

Les Staphylocoques sécrètent plusieurs protéines pour se protéger contre le système immunitaire tel que la protéine A et la catalase qui protège les bactéries des effets létaux des peroxydes d'hydrogène H_2O_2 produits par les phagocytes (Dickou, 2013).

- Résistance

En bactériologie médicale, la définition de la résistance bactérienne à un antibiotique prend également en considération la pharmacocinétique de l'antibiotique : une souche est considérée résistante à un antibiotique quand la concentration minimale inhibitrice (CMI) de celui-ci est supérieure à la concentration sanguine maximale d'antibiotique obtenue lors d'un traitement (**Nafti, 2008**).

Les Staphylocoques sont naturellement résistants à la colistine et à l'acide nalidixique (**Leclercq, 2002**).

Dès l'introduction de la pénicilline G en thérapeutique, on a trouvé des Staphylocoques capables de détruire l'antibiotique par production de pénicillinase ; en effet, plus de 90 % de souches de *S. aureus* sont résistantes à la pénicilline G et à l'ampicilline (**Dicko, 2013**).

En 1961, sont apparues les premières souches résistantes à la méticilline, cette résistance est la conséquence de modification des protéines enzymatiques intervenants dans la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne (**Courvalin et al., 2006**).

Chez *S. aureus*, la résistance à la méticilline est généralement due au gène *mecA*. (**Singleton, 2005**).

1.1.2. Streptocoques

Les Streptocoques regroupent de nombreuses espèces, certaines sont des parasites de l'espèce humaine (Streptocoques de groupe A, C et G de LANCEFIELD), d'autres des commensaux de la muqueuse buccale (Streptocoques du groupe B et Streptocoques non groupable et non hémolytiques) ou de la muqueuse génitale (groupe B) ou de l'intestin (ancien Streptocoque du groupe D ou Entérocoques considérés maintenant comme faisant partie d'un genre à part, le genre *Enterococcus*) (**Delarras, 2014**).

- *Streptococcus*

Sont des germes exigeants de taille et de forme irrégulière, groupés en chaînettes plus ou moins longues et flexueuses, immobiles, non capsulés, asporulés. Sont microaerophiles. Ils n'ont pas de catalase, à l'inverse des Staphylocoques (**Naucill et Vildé, 2007 ; Séko koné, 2009**).

- ***Entrococoques***

Sont des bactéries anaérobies facultatives, ubiquitaires et commensales de la flore digestive humaine et animale. Ils colonisent également la peau, l'appareil génito-urinaire et peuvent être retrouvés dans l'environnement.

Le genre *Enterococcus* regroupe une trentaine d'espèces, dont les deux principales *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, sont respectivement responsable de 80 à 90% et 5 à 15% des infections humaines d'origine urinaire et intra-abdominale, de septicémie et d'endocardite (**Benabella, 2013**).

- **Virulence**

Les facteurs impliqués dans la dissémination des Streptocoques sont :

- Facteurs favorisent la colonisation et l'invasion des tissus dans l'hôte (capsule, fimbriae) qui permettent d'échapper le système immunitaire.
- Facteurs responsable d'effet délétères pour l'hôte tel que les toxines (Endotoxines B pyogène) et les enzymes (hémolysines, désoxyribonucléases, streptokinase, ...) (**Brissou et al., 2004 ; Prescott et al., 2010**).

- **Résistance**

Les bactéries du genre *Streptococcus* sont naturellement résistantes aux aminosides, acide nalidixique, fluoroquinolones sauf la lévofloxacine, la moxifloxacine et la colistine (**Diop, 2002 ; Malhotra et al., 2014**).

La résistance des Streptocoques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des Bêta-lactamines peut survenir par diminution d'affinité des Protéines Liées aux Pénicillines (PLP) (**Malhotra et al., 2014**).

Chez les Entérocoques et les Streptocoques dont plus de 99% des cas, les souches sont résistantes à la tétracycline et à la minocycline en raison de la présence de déterminant tetM (**Courvalin et al., 2006**).

8.2. Bacilles à Gram négatif

Bacilles à Gram négatif (2 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large), mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles, poussant sur milieux de culture ordinaires, aérobies-anaérobies facultatifs, réduisant les nitrates en nitrites, oxydase négatif ou positif

(Walidbgt, 2010). Sont ubiquitaires, ils sont isolés de l'environnement et sont également retrouvés au niveau du tractus digestif des animaux (Martin, 2011).

8.2.1. Bacilles non fermentants (BNF)

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).

Les espèces de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* représentent jusqu'à 75% des isolements. Ces germes sont pour la plus part des pathogènes opportunistes (Ramoul, 2014).

- *Pseudomonas aeruginosa*

Un bacille pyocyanique, fin, de 1,5 à 3 µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large, il est très mobile, à ciliature polaire, aérobie stricte, parfois entouré d'un pseudo capsule appelée "Slime".

Les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* sont pigmentées en vert du fait de la production de deux pigments :

La pyocyanine : pigment bleu hydrosoluble.

La pyoverdine : pigment jaune-vert fluoresçant insoluble dans le chloroforme, soluble dans l'eau (Monteil, 2000).

- *Acinetobacter baumannii*

Est une bactérie peu pathogène (Yadi, 2012), le plus fréquemment isolée et se voit impliquée dans de nombreuses infections, essentiellement nosocomiales. Elle est immobile, de morphologie principalement en coccobacille ou diplocoque, catalase positif et oxydase négatif (Benabella, 2013).

- Virulence

De nombreux facteurs de virulence sont synthétisés et impliqués dans les différentes étapes de l'infection.

Bibliographie

Les facteurs de la mobilité sont les flagelles et les pili type IV. Ces derniers qui sont impliqués dans un mécanisme de déplacement particulier indépendant du flagelle, appelé « Switching motility », les elastases et les exotoxines sont responsables des nécroses tissulaires.

Enfin les phospholipases C qui sont des protéines permettent à *Pseudomonas aeruginosa* d'obtenir le Fer des transferrines, des ferritines, de l'hémoglobine et d'autres protéines de l'hôte contenant le Fer (**Bricha et al., 2009**).

- Résistance

Les bacilles à Gram négatif non fermentants sont résistants à de nombreux antibiotiques et peuvent acquérir de nombreux mécanismes de résistance comme pour les β -lactamines, les aminosides et les fluoroquinolones (**Berthelot et al., 2005**). Ils sont capables de résister à de nombreux antibiotiques grâce à une membrane externe peu perméable et grâce au développement de nombreux mécanismes de résistance (β -lactamases, céphalosporinases,... etc.) (**Boukhatem, 2013**).

Pseudomonas est naturellement résistante aux : amoxicilline, acide clavulanique et aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération (**Poirel et Nordmann., 2006**) et certains céphalosporines de 3^{ème} génération (**Liazi, 2012**). Et elle a une résistance acquise aux : carbapénèmes (Imipenème), aminosides et les fluoroquinolones (**Liazi, 2012**).

Acinetobacter est naturellement résistante à plusieurs β -lactamines (**Ramoul, 2014**). Et elle a une résistance acquise aux : aminosides, tétracycline, chloramphénicol, triméthoprine et aux fluoroquinolones (**Boukhatem, 2013**).

8.2.2. Entérobactéries

Les Entérobactéries sont définies par un ensemble de caractères généraux communs. Ce sont des bacilles à Gram négatif, dont les dimensions varient de 6 μm de long et de 0,3 – 1 μm de large. Certaines espèces peuvent être très polymorphes, notamment le genre *Proteus* (**Habi, 2009 ; Delarras, 2014**).

Elles sont non sporulées, le plus souvent mobiles, mais immobiles dans le cas des bactéries du genre *Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia* (**Medboua, 2011**).

Elles sont aéro-anaérobies facultatives, fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites (**Naucill et Vildé, 2007**).

Les germes de ce groupe sont en majorité pathogènes du tube digestif humain et d'autres sont des colonisateurs normaux de ce tube digestif (*Escherichia coli*,

Bibliographie

Enterobacter spp., *Klebsiella spp.*), bien qu'ils soient également présents dans l'environnement. Ce groupe est composé d'environ 30 genres et de plus de 100 espèces (Lagha, 2015).

- ***Escherichia coli (E.coli)***

E.coli, isolée par Escherich Théodore en 1885, est l'espèce type du genre *Escherichia*.

Les principaux caractères distincts d'*E.coli* vis-à-vis les autres Entérobactéries sont : la fermentation du lactose, la production de β -galactosidase, la production d'indole à partir du tryptophane, l'absence d'uréase et l'absence d'utilisation de citrate de Simmons comme source d'énergie et de carbone (Lagha, 2015).

- ***Klebsiella pneumoniae (Kp)***

Klebsiella pneumoniae est un pathogène à fort potentiel épidémique fréquemment impliquée dans les infections sévères. Elle est généralement entourée d'une capsule polysaccharidique. Elle est uréase positive, réaction de Voges-Proskauer positive (VP+) et qui fermente le glucose avec production de gaz (Yadi, 2012 ; Lagha, 2015).

- ***Enterobacter***

Sont des bactéries qui se déplacent grâce à un flagelle péritriche et sont dotées de pilus de classe une. Elles donnent une réaction négative à l'épreuve au rouge de méthyle (RM) et une réaction positive au test de Voges-Proskauer (Lagha, 2015).

- ***Proteus***

Ce sont des bactéries très mobiles, qui se distinguent facilement des autres entérobactéries par leurs caractères biochimiques, uréase positive, tryptophane désaminase positif (Lazoul et Rabhi, 2014).

- **Virulence**

- Capsule : elle est de nature polysaccharidique, rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action du complément.

- Adhésines : elles peuvent induire une adhésion aux globules rouges ou à des cellules épithéliales. La plus part des adhésines se présentent sous forme de fimbriaes.

Bibliographie

- Toxines : certaines souches peuvent produire une hémolysine : une protéine thermolabile et thermostable (Yadi, 2012).

- Résistance

Les Entérobactéries sont naturellement résistantes aux β -lactamines par la production de divers β -lactamases (Courvalin et al., 2006)

Les Entérobactéries présentent une résistance acquise aux antibiotiques à large spectre. La détermination de la sensibilité par l'antibiogramme et donc indispensable.

Les Entérobactéries multirésistantes sont définies par une résistance à plusieurs antibiotiques, dont les céphalosporines de 3^{ème} génération (Yadi, 2012).

8.2.3. *Brucella*

Sont des bactéries intracellulaires facultatives. Ce sont des coccobacilles à Gram négatif de petite taille 0,5 à 1,5 μm de long et 0,5 à 0,7 μm de diamètre, aérobies strictes, catalase positive, oxydase habituellement positif, non capsulés. La plus part des souches isolées en pathologie humaines produisant une uréase d'action rapide et intense (Denis, 2007). Elles poussent pauvrement et lentement sur les milieux habituels tels milieu pour hémoculture ou gélose chocolat, plus de 2 jours à 37°C, certaines espèces et biotypes sont exigeants en gaz carbonique (CO₂) (Khetab et al. 2010).

- Virulence

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 (septicémie). Ces germes sont phagocytés plus au moins rapidement par les macrophages puis détruits avec libération d'antigène et d'endotoxine (Khetab et al., 2010).

- Résistance

Les souches sont très majoritairement sensibles aux antibiotiques. La résistance acquise aux antibiotiques est utile et rare en clinique (Courvalin et al., 2006 ; Denis, 2007).

8.3. Les anaérobies

Les bactéries anaérobies sont des bactéries incapables de se développer au contact de l'oxygène présent à la pression atmosphérique car il est toxique pour elles. Ces bactéries, qualifiées d'anoxybiontiques, produisent leur énergie (respiration, fermentation) et effectuent leurs biosynthèses sans avoir recours à l'oxygène moléculaire. La tolérance vis-à-vis de l'oxygène est cependant variable selon les espèces. **(Matuszewski, 2009)**.

Parmi les bactéries anaérobies, le *Clostridium difficile* qui est un bacille à Gram négatif, anaérobie stricte et sporulé **(Janoir, 2015)**.

- Virulence

Dans des conditions normales, les muqueuses et la peau hébergent un grand nombre de bactéries anaérobies. Mais tout déplacement de ces bactéries vers les tissus voisins peut entraîner une infection locale. À partir de ce foyer primitif, les bactéries anaérobies vont se développer et diffuser dans les tissus du voisinage grâce à plusieurs facteurs d'attachement tels que la capsule, LPS, Fimbriae,...etc. Les espèces les plus pathogènes sécrètent des enzymes et des toxines tel que : la collagénase, hyaluronidase, fibrinolyse, neuraminidase, héparinase, protéase, ...etc.

Certaines bactéries anaérobies produisent de grandes quantités de gaz (acides gras volatils), clivant et comprimant les tissus, à l'origine du phénomène de crépitation et favorisant la diffusion de l'infection. En outre possèdent un système efficace de captation de Fer à partir de l'hémine (provenant notamment de l'hémoglobine), rendu accessible à la suite de l'activité d'une hémolysine **(Ferrant, 2013 ; Janoir, 2015)**.

- Résistance

Les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides, triméthoprim, aztréonam, fosfomycine (sauf *fusobacterium*), acide nalidixique et quinolones classiques **(Dubreuil et Neut, 2011)** à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies **(Lozniewski et Rabaud, 2010)**.

8.4. Levures

Une levure est un champignon unicellulaire possédant un seul noyau et se reproduisant soit de la façon asexuée par bourgeonnement et division transversal, soit de façon sexuée avec formation des spores.

Chaque bourgeon, qui se sépare, donne une nouvelle levure et certaines restent groupées pour former des colonies. Généralement, les cellules de levures sont plus grandes que les bactéries, leurs tailles varient considérablement. Elles sont généralement sphériques ou ovoïdes.

Elles n'ont pas de flagelle, mais possèdent la plus part des organites des autres cellules eucaryotes (**Prescott et al., 2010**).

9. Epidémiologie

Les septicémies demeurent une cause importante de morbidité et de mortalité dans le monde, notamment lorsqu'elles sont à l'origine de sepsis sévère et choc septique (**Thomin, 2015**).

Une évolution de l'épidémiologie des septicémies dans le temps a été observée.

Martin et *al* ont montré ainsi une forte augmentation des sepsis aux USA, de 164000 à 660000 cas par an, entre 1979 et 2000. Une étude européenne norvégienne de Haug et *al* a confirmé cette observation, soulignant un doublement de l'incidence des septicémies entre les périodes 1974-1979 et 1988-1989. L'écologie des septicémies se trouve également modifiée au cours du temps. Martin et *al* ont constaté une augmentation des septicémies liées à des bactéries à Gram positif à partir de la fin des années 1980, pour finalement dépasser le nombre de celle à bactéries à Gram négatif en 2000. Haug et *al*. ont aussi noté l'émergence des bactéries à Gram positif, notamment des Staphylocoques, dont l'incidence s'est accru des dispositifs intravasculaires et l'apparition de nouveaux antibiotiques actifs contre les bactéries à Gram négatif (**Thomin, 2015**).

Une autre étude française de Thomin entre 2009-2013 arrive pour confirmer ces observations.

Classiquement, les deux pathogènes les plus fréquemment isolés *S. aureus* et *E.coli*. *S.aureus* apparait comme la bactérie majoritairement isolée dans les études américaines, alors que les études européennes montrent une prédominance d'*E. coli* (**Thomin, 2015**). (**Tableau 2**).

Bibliographie

Tableau 2 : Répartition des principales espèces bactériennes isolées d'hémocultures d'après diverses études (**Martin, 2011**).

Mico-organisme	1990(%)	1997(%)	1997-1998(%)	2002(%)	2005(%)	2010(%)
Gram positifs	44,8	40,4	52,9		61	67
<i>SCN</i>	9,2	5,1	17,8		16,2	42
<i>Staphylococcus aureus</i>	18,9	14,7	15,1	54,3	8,6	9,7
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3,6	5,1	5,9		2,3	2,2
<i>Entrococcus sp.</i>	6,9	7,7	4,6		4,8	4,1
Autres Gram positif	6,2	7,7	9,5		29	9
Gram négatifs	42,5	43,5	41,2		32,1	26,6
<i>E. coli</i>	15	23,1	14,5		13,5	13,4
<i>K.P</i>	6,9	4,5	5,3	38,8	2,2	2,4
Autres entérobactéries	11	3,2	3,9		6,3	6,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,6	5,1	5,3		3,9	2,9
Autres Gram négatif	4	7,6	12,2		6,2	1,3
Anaérobies	3,9	1,3	1,3	1,2	4,2	3,7
Autres	8,8	14,8	4,6	5,7	2,7	2,7
Total des septicémies	944	156	304	1165	1536	2022

10. Conduite à tenir devant une septicémie

Lorsqu'un état septicémique est soupçonné, il impose une quintuple démarche :

10.1. Recherche de la porte d'entrée

La recherche et l'élimination du foyer est une étape essentielle dans la prise en charge des états septicémiques (**Sékou koné, 2009**).

10.2. Hémoculture

L'hémoculture est un prélèvement veineux pour étude bactériologique. L'examen s'effectue dès qu'il y a suspicion de septicémie, de préférence au moment des pics hyperthermie (supérieur à 38,5°C) ou d'hypothermique (inférieure à 36°C) ou d'apparition des signes de décharges bactériennes (frisson), pour chercher et identifier un éventuel agent infectieux dans le sang (**Houidi, 2009**).

Le diagnostic est aisé quand plusieurs hémocultures sont positives avec le même micro-organisme ou quand la bactérie isolée est un pathogène connu. Il est plus difficile lorsque seule une hémoculture est positive, en particulier lorsque le micro-organisme isolé est connu comme pouvant être un germe de contamination (**Lankoande, 2002**).

Une hémoculture positive poly microbienne (associée à certaines espèces) oriente plutôt vers une contamination du prélèvement, le plus souvent par des bactéries de la flore cutanéomuqueuse (SCN, les Entérocoques,...) ou par des Bacillus. Peut cependant, dans un certain nombre de cas, être responsable de septicémies vraies (**Sékou koné, 2009**).

Une hémoculture négative correspond à l'absence de bactérie dans la circulation sanguine. Toutefois, l'hémoculture peut être faussement négative par suite de conditions défectueuses dans sa réalisation. C'est pour ça il est recommandé de répéter les hémocultures chez le malade et surtout en tenant compte de la clinique (immunodéprimé, pathologie digestives) (**Lankoande, 2002 ; Desmard et Montravers, 2010**).

10.3. Recherche de la localisation secondaire

Ces localisations septiques métastatiques doivent être dépistées par des examens appropriés (radiographie, échographie, scanographie,...etc). Les tissus très vascularisés sont les plus touchés (foie, poumons, rein). Mais l'os et la peau peuvent être également contaminés (**Pebret, 2003**).

10.4. Traitement

Dans un premier temps, une antibiothérapie probabiliste est généralement prescrite, après l'obtention des résultats microbiologiques. Cette antibiothérapie est suivie par un traitement adjuvant et une antibiothérapie selon le germe en cause.

10.4.1. Antibiothérapie probabiliste

Elle est prescrite devant la survenue d'une fièvre inexplicite mal tolérée. Celle-ci correspond à une prescription d'antibiotique réalisé avant que ne soit connu la nature et/ou la sensibilité du ou des microorganismes (**Thomin, 2015**).

10.4.2. Traitement adjuvant

Il s'agit du traitement de la porte d'entrée, de certaines localisations secondaires et d'un choc septique débutant (**Lortholary et Duvivier, 2013**).

10.4.3. Antibiothérapie selon les germes

Après identification des germes en cause une antibiothérapie par antibiotiques spécifiques pour chaque germe est effectuée (**Lortholary et Duvivier, 2013**).

10.5. Surveillance

La surveillance d'un malade en état septicémique en cours de traitement est clinique et paraclinique. Il s'agit de dépister précocement un éventuel choc infectieux (choc septique), de s'assurer de la disparition totale et définitive de la fièvre.

La persistance ou la réapparition d'une fièvre doit faire rechercher :

- ✓ Une porte d'entrée persistante.
- ✓ Une localisation secondaire méconnue.
- ✓ Une résistance du germe aux antibiotiques.
- ✓ Une intolérance aux antibiotiques.
- ✓ Une complication (**Pebret, 2003**).

*Matériel et
méthodes*

❖ **Matériel**

1. Centre de l'étude

Notre étude a été réalisée au niveau de deux laboratoires :

Le laboratoire de Microbiologie du C.H.U BENBADIS de Constantine et le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital militaire régional universitaire H.M.C de Constantine Abdelali BENBAATOUCHE.

2. Taille de l'échantillon

Durant la période de notre étude un total de 1840 souches est isolé.

Ces souches proviennent de patients hospitalisés au niveau des différents services des 2 hôpitaux : service infectieux, centre des brûlés, chirurgie ...etc. à partir des prélèvements sanguins.

3. Duré de l'étude

Il s'agit d'une analyse rétrospective des résultats des hémocultures des patients hospitalisés à l'hôpital universitaire BENBADIS de Constantine et à l'hôpital militaire régional universitaire Abdelali BENBAATOUCHE. La collecte des données s'est faite dans un premier temps à partir des registres archivés d'hémoculture pour les deux années (2014-2015) et puis le travail de paillasse de 3 mois (1^{er} janvier -31 mars 2016).

Méthode d'étude

Afin de déterminer le microorganisme en cause lors d'une septicémie, l'hémoculture est la technique microbiologique utilisée et qui consiste en un ensemencement d'un milieu de culture avec une petite quantité de sang prélevée sur un sujet.

1. Prélèvements

Le prélèvement d'un produit bactériologique est un acte clé de la phase pré analytique, il doit être réalisé par une personne habilitée.

Le prélèvement de sang pour hémoculture doit satisfaire à plusieurs critères ou exigences :

1.1. Moment du prélèvement

Le prélèvement de sang se fait au lit du malade devant tout pic fébrile ou hypothermie ; avant la prescription d'antibiotique (**Makki, 2007 ; Bentchouala, 2009**).

1.2. Éviter les contaminants et travailler en sécurité

L'asepsie de la peau doit se faire successivement avec de l'alcool à 70% puis un produit iodé en respectant le temps de contact (1 à 2 minutes), ainsi que la désinfection du capuchon du flacon d'hémoculture par l'alcool à 70%.

La ponction veineuse est la seule méthode fiable pour prélever du sang en vue de la culture (**Ramoul, 2014**).

1.3. Prélever une quantité de sang suffisante

Il existe une relation directe entre le volume de sang inoculé dans les flacons d'hémoculture et le rendement de la technique.

Un volume de 20 millilitres (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 il suffit de prélever 3 à 5 ml et 1 à 2 ml chez le nouveau-né.

Ainsi l'augmentation du volume du sang inoculé dans les flacons augmente la sensibilité de la détection de la productivité par un automate (**Faye et al., 2005 ; Denis et al., 2007**).

1.4. Effectuer un nombre de prélèvement suffisant

Il est classique de faire trois hémocultures à quelques heures d'intervalle (1 à 3 heures) afin d'augmenter les possibilités d'isolement du ou des germes (**SékouKoné, 2009**).

1.5. Utiliser deux milieux de cultures

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, c'est le milieu utilisé dans notre étude.

Ces deux milieux Permettent la culture de la plupart des bactéries rencontrées en pathologie humaine et contiennent un anticoagulant comme Le poly anéthol sulfonâtes de sodium (SPS) qui est très généralement utilisé dans les bouillons pour hémoculture à une concentration de 0,025 à 0,05 %. Le SPS favorise la croissance de la plupart des bactéries car il inhibe l'activité bactéricide du sérum, il inhibe la phagocytose, il inactive le complément, neutralise le lysozyme et les antibiotiques de la famille des aminosides (Accrombessy et Doussoh, 2014).

* Flacon Castaneda

Un milieu bi phasique, constitué d'une phase liquide et une phase solide.

- Une association de peptone, de caséine et de gélatine permet un apport varié d'acide aminé.
- L'extrait de levure apporte des facteurs vitaminiques ainsi que les précurseurs des acides nucléiques (purines et pyrimidines).
- Le Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NAD) et l'hémine permettent le développement des *Haemophilus* et ont été décrits comme favorisant la croissance d'un certain nombre d'autres germes tels que les *Actinobacillus* et les *Cardiobacterium*.
- La vitamine B₆ intervient comme élément indispensable dans le développement des Streptocoques dits déficients rencontrés dans les endocardites et certains Staphylocoques.

- La phase gazeuse contient du CO₂ qui est un élément important pour la croissance des *Neisseria*, *Brucella*, *Haemophilus*, *Pneumocoque*.
- La phase gélosée renferme des polysaccharides d'hémisynthèse ce qui évite une surcharge en agar et donne une gélose plus transparente (Makki, 2007).

1.6. Transport des prélèvements

Les prélèvements doivent être acheminés rapidement au laboratoire où ils seront placés dans une étuve à 37°C afin de ne pas retarder la culture de la bactérie en cause (Lankoande, 2002).

Chaque prélèvement doit être accompagné d'une feuille de demande d'examen comprenant : Nom et Prénom du patient, l'examen demandé ou nature de prélèvement (hémoculture), la température du patient lors du prélèvement, le service et la date de réception de l'échantillon.

2. Identification bactérienne

Dès l'arrivée au laboratoire, les flacons doivent être incubés à 37°C et inspectés régulièrement.

2.1. Détection manuelle

2.1.1. Examen macroscopique

L'inspection macroscopique journalière des flacons par mirage, vise à déceler des signes d'une croissance microbienne. Une culture stérile montre en général un dépôt d'hématies recouvert d'un bouillon transparent jaune pâle.

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.

La durée d'observation varie de 10 jours à un mois pour donner la chance à des bactéries à culture lente (*Brucella*) à pousser (Sékou Koné, 2009).

2.2. Détection automatisée par Bact Alert

Le Bact Alert permet de détecter les hémocultures positives par la mise en évidence de produits métaboliques générés par la croissance bactérienne, il permet un rendu beaucoup plus précoce des résultats. Mais son seul inconvénient est le coût onéreux (Denis et al., 2007). Nous l'avons utilisé au niveau de laboratoire de microbiologie du CHUC. (Annexe 1)

2.3. Repiquage et isolement

Après désinfection du bouchon du flacon d'hémoculture et à l'aide d'une seringue stérile, quelques gouttes sont prélevées etensemencées par des stries serrées (4 cadrons) sur quatre milieux d'isolement. (Annexe 2)

- **Gélose au sang frais**

La gélose au sang frais est un milieu d'isolement enrichi sur lequel les Streptocoques se développent bien. Il permet la lecture du caractère hémolytique (Beddak, 2007).

- **Gélose au sang cuit (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. Ce milieu est pour l'isolement des bactéries exigeantes (Berezzouk, 2008).

Après ensemencement les deux milieux sont incubés dans une atmosphère enrichie de 5 à 10% de CO₂ à 37°C pendant 24h à 48h (Medboua, 2011).

- **Gélose Hecktoen**

C'est une gélose de base nutritive plus riche 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 fer³⁺.

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

- **Gélose Chapman**

Est un milieu sélectif permettant la croissance des germes halophiles. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *staphylococcus*.

Il contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75 g/l), mais il permet aussi d'étudier la fermentation du mannitol (**Beddak, 2007**).

Après ensemencement les deux milieux sont incubés à 37°C pendant 24h à 48h.

Des repiquages sont réalisés pour jour 1, jour 2 et jour 10 pour tous les flacons qui présentent des signes de positivité macroscopique (**Granier et Denis, 2007**).

2.4. Examen microscopique

L'examen microscopique se fait par la coloration de Gram selon la méthode conventionnelle. (**Annexe 3**)

2.5. Identification par galerie biochimique classique

Elle est réalisée par galerie classique des Entérobactéries, elle est composée de 6 milieux pour 6 tests biochimiques (**Tableau 3**).

Matériel et Méthodes

Tableau 3 : Caractères biochimiques des Entérobactéries. (Annexe 4)

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 : Vogts Proskauer

RM : Rouge de Méthyle

2.6. Identification la galerie API 20 E

2.6.1. Principe

La galerie API 20E bio-Mérieux est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries à Gram négatif.

La galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, ces microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs (**Boukhatem, 2013**).

2.6.2. Technique

➤ Préparation de la galerie

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

➤ Préparation de l'inoculum

Une suspension bactérienne est préparée dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie bien isolée prélevée sur un milieu gélosé.

➤ Inoculation de la galerie

Les galeries doivent être ensemencées en suivant les instructions de Bio-Mérieux

La suspension bactérienne préparée a été introduite dans chaque microtube à l'aide d'une micropipette ou la pointe de l'embout est appuyée sur le côté intérieur pour éviter la formation de bulles d'air. Les microtubes des tests CIT, VP, GEL ont été remplis par l'inoculum jusqu'à la cupule alors que les microtubes correspond aux tests : ADH, LDC,

Matériel et Méthodes

ODC, H₂S, URE ont été remplis par la suspension bactérienne et recouverts par une couche d'huile de vaseline pour assurer les conditions d'anaérobiose.

Les réactions produites après une incubation de 48h à 37°C se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.


➤ Lecture

Les résultats des réactions obtenus sont notés sur une fiche des résultats standards (**Annexe 5**). La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture préconisé par le fournisseur. (**Bougattoucha et Boudelaa, 2010**) (**Annexe 6**).

2.7. Test de catalase

Ce test est à la base de l'identification des bactéries à Gram positif (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Test de catalase.

Aspect du test positif	Technique	Caractère recherché	Résultats
	<ul style="list-style-type: none">-Mettre une quantité d'eau oxygénée dans un tube à hémolyse.- A l'aide d'une pipette pasteur, ajouter l'inoculum bactérien.-Observer immédiatement.	<ul style="list-style-type: none">- La catalase	<ul style="list-style-type: none">-Apparition des bulles, de dégagement gazeux de dioxygène : Catalase +-Pas de bulles : Catalase -

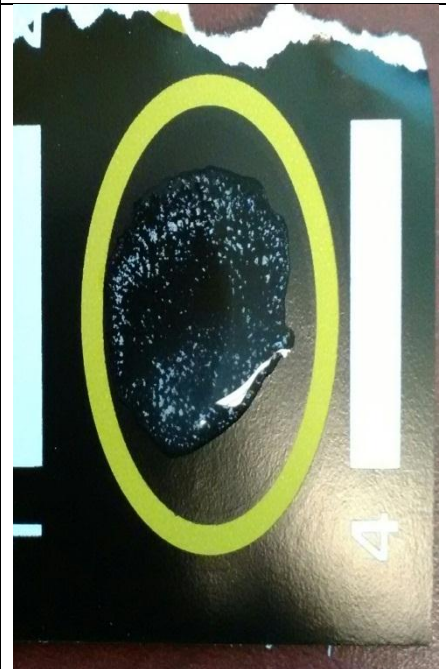
(-) : Négatif

(+) : Positif

2.8. Test de coagulase

Ce test est utilisé pour les Staphylocoques afin de déterminer le type de coagulase positif ou négatif, et aussi le groupage des Streptocoques A, B, C, D, F et G par des kits spécifiques à chaque genre (**Tableau 5**).


Tableau 5 : Test de coagulase.

Aspect du test positif	Technique	Caractère recherché	Résultat
	<ul style="list-style-type: none">-A l'aide d'une pipette pasteur mettre un inoculum bactérien sur des Kits spécifiques.-Rajouter une goutte de réactif latex.-Agiter doucement et laisser environ une minute.- Observation.	<ul style="list-style-type: none">-La coagulase	<ul style="list-style-type: none">- Apparition des petits grains : coagulase positif.

2.9. Test de l'oxydase

Ce test est à la base de l'identification des bactéries à Gram négatif (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Test de l'oxydase

Aspect du test positif	Technique	Caractère recherché	Résultat
	-Toucher la colonie à tester avec la bandelette de détection de l'oxydase et -Observer pendant 5 secondes.	-L'oxydase.	-Apparition d'une coloration bleue/violette intense.

3. L'antibiogramme

C'est l'étude de la sensibilité aux antibiotiques par la technique de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton qui consiste à tester les antibiotiques actifs selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (**Sedrati, 2014**).

Dans notre étude, 26 antibiotiques ont été testés : parmi les β -lactamines (pénicillines, oxacilline (OXA), amoxicilline(AMX), amoxicilline+ acide clavulanique (AMC), ticarcilline (TIC), céfazoline (CAZ), céfoxitine (FOX), céfotaxime (FOT), aztéonam, imipenème (IMP). Parmi les aminosides (amikacine (AK), gentamicine (GM), tobramycine (TOB). Concernant les quinolones (acide nalidixique (NA), ciprofloxacine (CIPRO) et autres (colistine (COL), vancomycine (V), ...ect).

3.1. Méthode de diffusion en gélose

3.1.1. Le milieu

La gélose Mueller-Hinton (MH) coulée en boîte de Pétri sur une épaisseur de 4 millimètre, elle peut être additionnée de 5 % de sang de cheval ou de mouton pour les bactéries plus exigeantes. Les géloses sont séchées avant l'utilisation.

3.1.2. L'inoculum

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 10 ml d'eau physiologique stérile, bien homogénéiser la suspension bactérienne, sa charge doit être équivalente à 0,5 Mac Farland (correspond à environ 10^8 bactéries/ml) (**Medboua, 2011**).

3.1.3. L'ensemencement

L'ensemencement est fait par la méthode d'écouvillonnage :

- Tremper l'écouvillon dans la suspension bactérienne.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Déposer les disques d'antibiotiques à tester.
- Incuber les boîtes pendant 24h à 37°C.
- Des souches de contrôle de qualité; *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sont testées en parallèle, afin de valider les résultats d'antibiogramme (**Sekhri-Arafa, 2011**).

3.1.4. Lecture et interprétation

Avant de lire l'antibiogramme, on valide la lecture par les souches témoins qui doivent donner des valeurs précises afin d'interpréter l'antibiogramme. On mesure les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques à l'aide d'un pied à coulisse métallique.

L'interprétation en sensible (S) intermédiaire (I) ou résistant (R) est effectuée selon les critères définis par les recommandations du CLSI 2008 (**Bentchouala, 2009**).

4. Recherche de β -lactamase à spectre élargi (BLSE)

Le terme BLSE a été proposé pour la première fois en 1988 pour distinguer les β -lactamases plasmidiques donnant la résistance aux céphalosporines à large spectre d'où le nom « β -lactamases à large spectre » (Medboua, 2011).

4.1. Test de synergie

La technique par diffusion est également utilisée dans le cadre de la recherche de β -lactamase à Spectre Etendu (BLSE). Pour cela on dispose sur la surface d'une gélose des disques de ceftazidime (et/ou de cefotaxime (CTX), et/ou de céfépime, et/ou de cefpodoxime, et/ou d'aztréonam) et d'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) à 3 centimètre (cm) l'un de l'autre. Les BLSE sont des β -lactamases et sont donc inhibées par l'acide clavulanique. On observe alors une synergie d'action entre les deux antibiotiques, appelée "bouchon de champagne". Cette technique permet de différencier une bactérie hyper productrice de céphalosporinase d'une bactérie produisant une BLSE dans la famille des Entérobactéries par exemple (Bonnet ; Courvalin, 2007) (Figure 2).

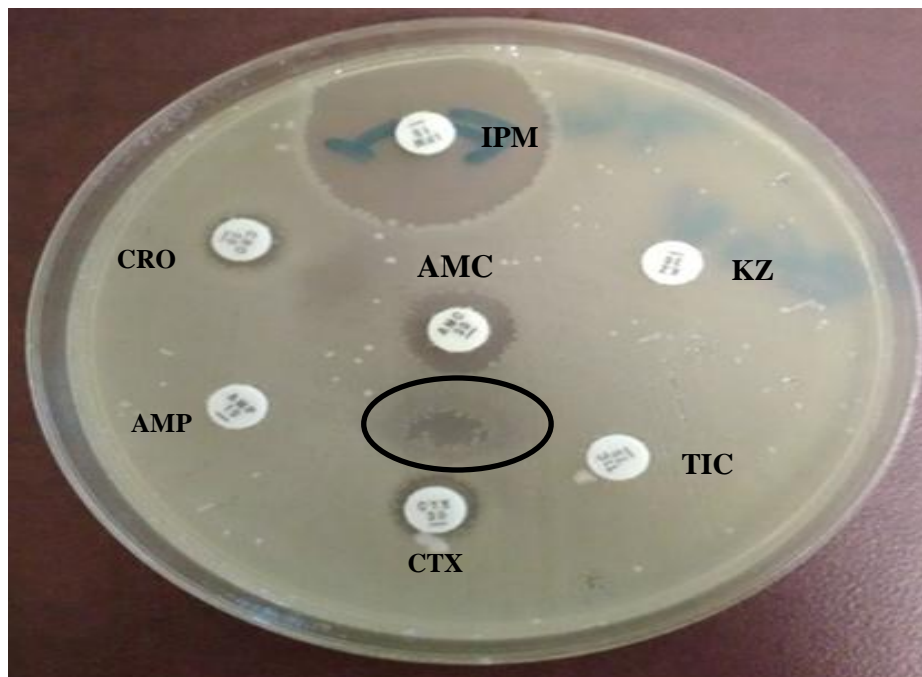


Figure 2 : Image de synergie entre AMC et CTX chez *Escherichia coli*

4.2. Test du double disque (Test espagnol)

Ce test est fait pour les souches qui ne présentent pas une image de synergie, avec diminution des diamètres des céphalosporines de 3^{ème} génération et pour déterminer s'il y a production d'une BLSE (Sekhri-Arafa, 2011) (Figure 3).

4.2.1. Technique

- Pour les Entérobactéries déposer un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (céfotaxime) à une distance de 30 mm (centre à centre).
- Pour *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp* déposer un disque de ticarcilline + acide calvulanique (TCC) avec un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (ceftazidime) ou monobactam (aztréonam) à une distance de 30 mm.
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse).

Après diffusion, on enlève le disque d'AMC (ou TCC) et le remplacer par un disque de céfotaxime, ceftazidime ou aztréonam selon la souche.

Incuber la boîte à 37°C pendant 24 h (Medboua, 2011).

4.2.2. Lecture et interprétation

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est supérieur ou égal à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération, ce qui indique une production d'une BLSE (Abid et al., 2007).

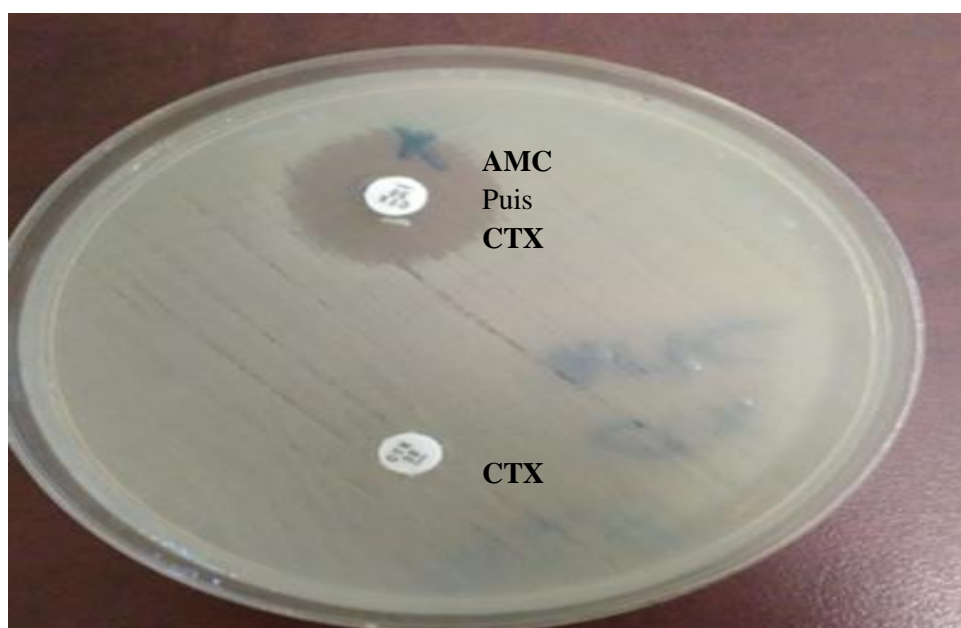


Figure 3 : Test espagnol chez *Escherichia coli*

Résultats

1. Identification macroscopique

1.1. Aspect macroscopique des flacons

Le tableau ci-dessous présente les différents signes macroscopiques observés dans les flacons d'hémocultures positives.

Tableau 7 : Aspect macroscopique des flacons.

Signe observé	Turbidité	Hémolyse	Production de gaz	Coagulum
Bactéries en cause	Bacille à Gram négatif aérobie, Staphylocoque	Streptocoque	Bacilles à Gram négatif aérobies anaérobies	<i>Staphylococcus aureus</i>
		Staphylocoque		
		<i>Listeria</i>		
		<i>Clostridium</i>		
		<i>Bacillus</i>		

1.2. Aspect macroscopique des colonies

Après l'incubation des boîtes à 37°C pendant 18 à 24 h, l'orientation du diagnostic se base sur l'aspect des colonies qui apparaissent sur le milieu de culture et qui peuvent être selon le germe : pigmentées, transparentes, muqueuses, rondes, aplaties, bombées,...

Certaines colonies peuvent avoir des couleurs et des aspects caractéristiques selon le milieu utilisé :

- *Staphylococcus aureus* : colonies rondes, lisses, bombées, opaques de couleur jaune sur milieu Chapman.
- Staphylococcus à coagulase négative (SCN) : colonies de diamètre variable, blanches ou jaune claire.
- *Streptocoque non groupable* : colonies de taille variable allant de 0,1 à 0,5 millimètres (mm).
- *Enterocoque* : colonies de diamètre 0,5 à 1 mm, opaques et souvent blanchâtres.
- *Escherichia coli (E.coli)*: colonies de diamètre de 2 à 3 mm, non pigmentées, rondes, lisses, à bord régulier généralement lactose positif.

Résultats

- *Klebsiella pneumoniae* (*Kp*) : colonies de diamètre de 3 à 4 mm, rondes, bombées et muqueuses d'une couleur orange (lactose positif).
- *Proteus* : colonies de diamètre de 0,5 à 1 mm bleues, translucides.
- *Enterobacter* : colonies jaunes.
- *Brucella* : petites colonies de 0,5 mm de diamètre, lisses, translucides, à bord régulier, parfois d'une couleur miel.
- *Acinetobacter baumannii* : colonies de 1 à 2 mm, lisses, souvent muqueuses de couleur blanc-jaunâtre.
- *Pseudomonas aeruginosa* : colonies de 2 mm de diamètre, vertes (lactose négatif), mates.

2. Identification microscopique

- Staphylocoques : des cocci à Gram positif disposés en amas, en diplocoques ou en courtes chainettes voire en grappes typiques.
- Streptocoques : des cocci à Gram positif, sphériques ou ovoïdes, disposés en paire pour former des diplocoques et pouvant représenter sous forme de chainettes.
- *E.coli* : bacille droit à Gram négatif.
- *Enterobacter* : bacille à Gram négatif.
- *Proteus* : bacille à Gram négatif polymorphe pouvant apparaître en formes très courtes.
- *Brucella* : sont de petits coccobacilles à Gram négatif.
- *Pseudomonas aeruginosa* : bacille à Gram négatif, fin, droit, il apparaît la plupart du temps isolé ou en diplobacilles.
- *Acinetobacter baumannii* : bacille à Gram négatif, souvent associé en paire ou en courtes chaînes, formes filamenteuses dans les cultures âgées.

Résultats

3. Identification biochimique

➤ Test de coagulase, oxydase, catalase :

- ✓ Coagulase positive : *S. aureus*.
- ✓ Coagulase négative : SCN.
- ✓ Oxydase positive : *Pseudomonas*.
- ✓ Oxydase négative : *Acinetobacter*.
- ✓ Catalase positive: Staphylocoques.
- ✓ Catalase négative : Streptocoques.

➤ Galerie biochimique classique :

Tableau 8 : Identification biochimique des Entérobactéries.

Milieux	TSI					Mannitol-Mobilité		Citrates de Simmons	Urée-Indole		Clark et Lubs	
	Glu	Lac	Sac	CO ₂	H ₂ S	Mannitol	Mobilité		Uréase	Indole	RM	VP
<i>E.coli</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	+	-	-	+	+	-	+	d	+	+	+	-

(+) : Positif.

(-) : Négatif.

(d) : Différent.

Résultats

➤ Galerie biochimique API20E :

Les résultats obtenus sont les suivants :

Souche 1 : ONPG+ ,LDC+ ,ODC+, CIT-, H2S-, IND+, MAN+, SOR+, RHA+, SAC+, MEL+, ARA+ , GLU+ ; correspond à *Escherichia coli* selon le catalogue des résultats API20E.



Figure 4 : Galerie API20E identifiant une souche *Escherichia coli*

- ✓ Souche 2 : ONPG+ LDC- ODC+ IND- GLU- MAN+ SOR+ RHA+ SAC+ MEL+ ARA+ ; correspond à *Klebsiella pneumoniae*.



Figure 5 : Galerie API20E identifiant une souche *Klebsiella pneumoniae*.

- ✓ Souche 3 :ONPG-, ADH+, LDC -, ODC-, CIT+, GLu+, GEL- correspond à *Acinetobacter baumannii*.



Figure 6 : Galerie API20E identifiant une souche *Acinetobacter baumannii*.

Résultats

Ces résultats sont obtenus à partir de notre consultation des registres d'hémoculture du 1^{ère} Janvier 2014 au 31 Mars 2016, aux niveaux des 2 centres hospitaliers (CHU, HMC) y compris les résultats de notre stage pratique, des 3 mois (1^{ère} Janvier 2016- 31 Mars 2016).

4. Répartition globale des hémocultures selon la culture

Sur un total de 7477 hémocultures pratiquées. Les hémocultures positives enregistrées sont estimées à 24% (n=1799), tandis que les hémocultures négatives sont largement supérieures avec 73% (n=5461), viennent enfin les hémocultures contaminées avec seulement 3% (n=217) (**Figure7**).

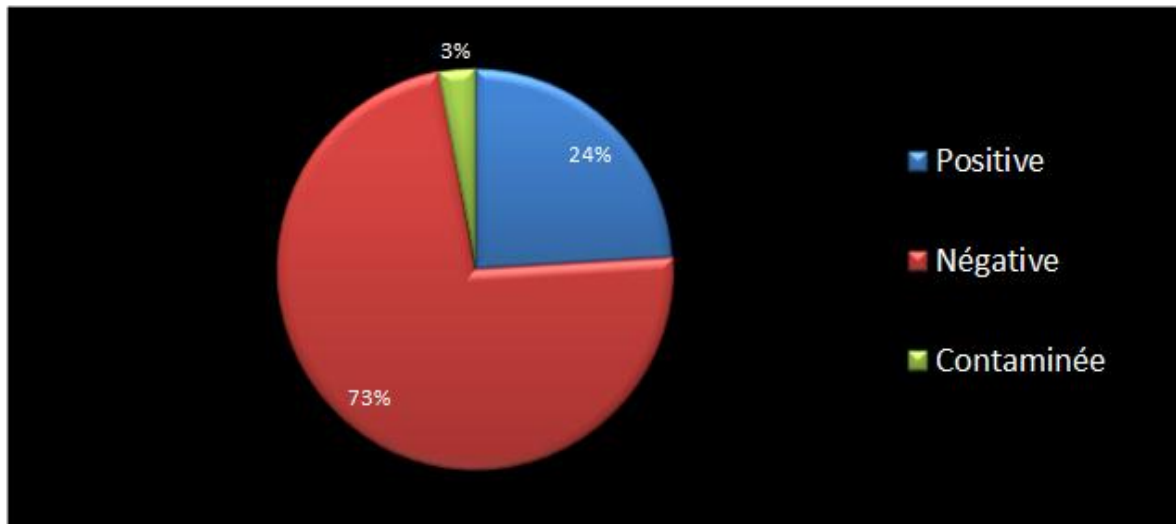


Figure 7 : Répartition globale des hémocultures selon la culture n=1799.

5. Répartition globale des hémocultures selon l'agent causal

Dans notre étude, la septicémie liée à des bactéries est représentée dans 98% (n=1803) cas, et à des levures dans 2% des cas (n= 37) (**Figure 8**).

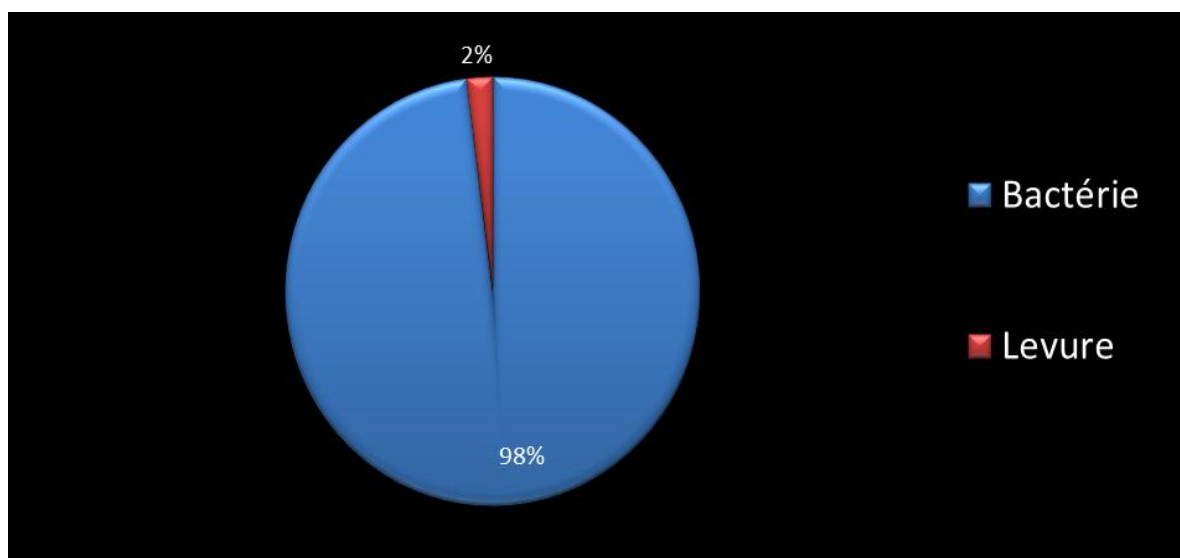


Figure 8 : Répartition des hémocultures selon l'agent causal n=1840.

6. Répartition globale des hémocultures selon le type microbien

La figure ci-dessous montre que les hémocultures sont d'origine monomicrobienne dans 98% (n=1764) des cas et d'origine polymicrobienne dans 2% (n=35) des cas (**Figure 9**).

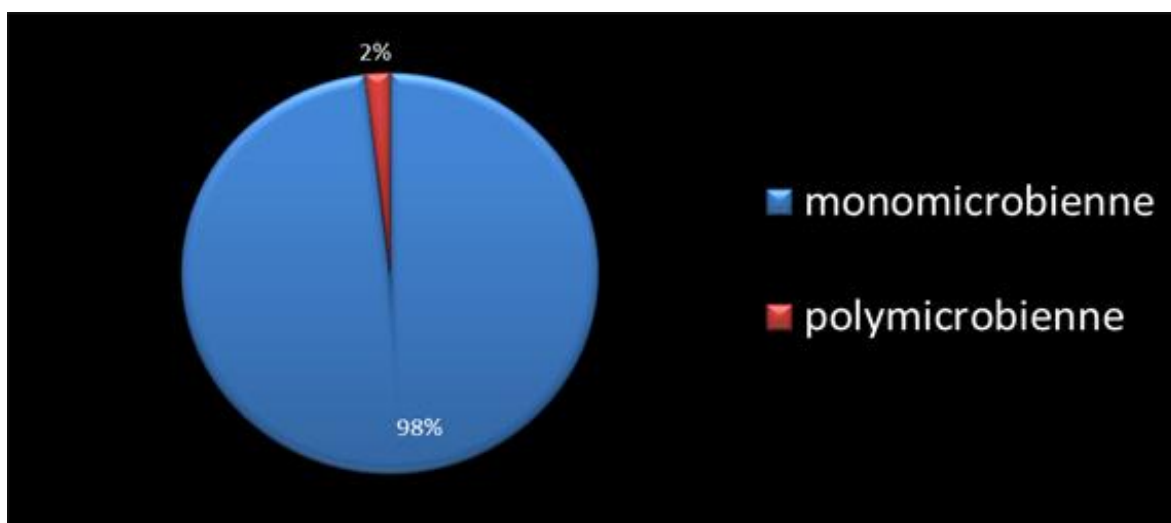


Figure 9 : Répartition globale des hémocultures selon le type microbien n=1799.

7. Répartition globale des souches isolées selon le Gram

Les résultats illustrés ci-dessous montrent une prédominance des bactéries à Gram positif (54%) par rapport aux bactéries à Gram négatif (46%) (**Tableau 9**).

Tableau 9 : Répartition globale des souches isolées selon le Gram n=1803.

Gram	Nombre	Pourcentage (%)
Positif	978	54
Négatif	824	46
TOTAL	1803	100

7.1. Comparaison entre les 2 centres d'étude en fonction du Gram.

La comparaison au niveau des deux centres indique une légère domination des Gram positif au niveau du CHUC contrairement à l'HMC où les Gram négatif sont en tête (**Figure 10**).

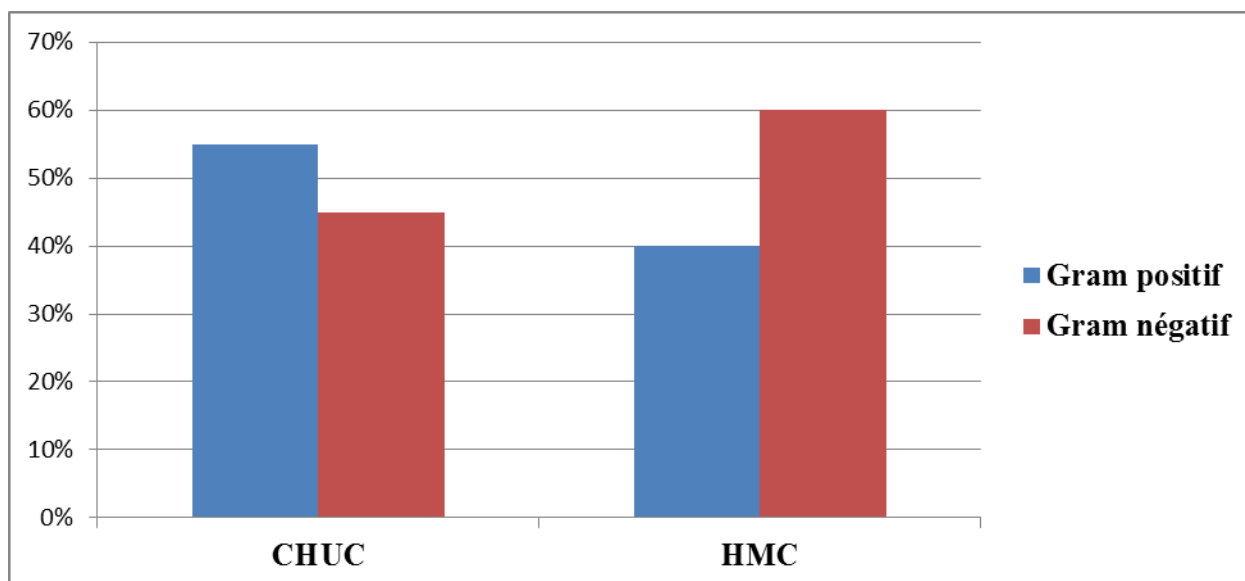


Figure10 : Comparaison entre les 2 centres d'étude en fonction du Gram n=1803.

8. Répartition globale des souches isolées selon les groupes bactériens

Le tableau ci-dessous montre la répartition des souches isolées selon les groupes des germes en cause où le groupe à Gram positif *Staphylocoque* est au premier rang comme agent causal de septicémie avec 46%, suivi par le groupe des Entérobactéries à 25% et le groupe de Bacilles non fermentant à 16% ces derniers sont des groupes à Gram négatif (Tableau 10).

Tableau 10 : Répartition globale des souches isolées selon les groupes bactériens n=1803.

Groupes bactériens	Nombre	Pourcentage (%)
BNF	286	16
Entérobactéries	450	25
Autres Gram négatif	90	5
Staphylocoques	837	46
Streptocoques	126	7
Autres Gram positif	14	1
TOTAL	1803	100

8.1. Répartition comparative entre les deux centres d'étude en fonction des souches bactériennes

La figure ci-dessous indique que *K. pneumoniae* est l'espèce la plus isolée au niveau de l'HMC en revanche c'est le SCN qui la plus isolé au niveau du CHUC (Figure 11).

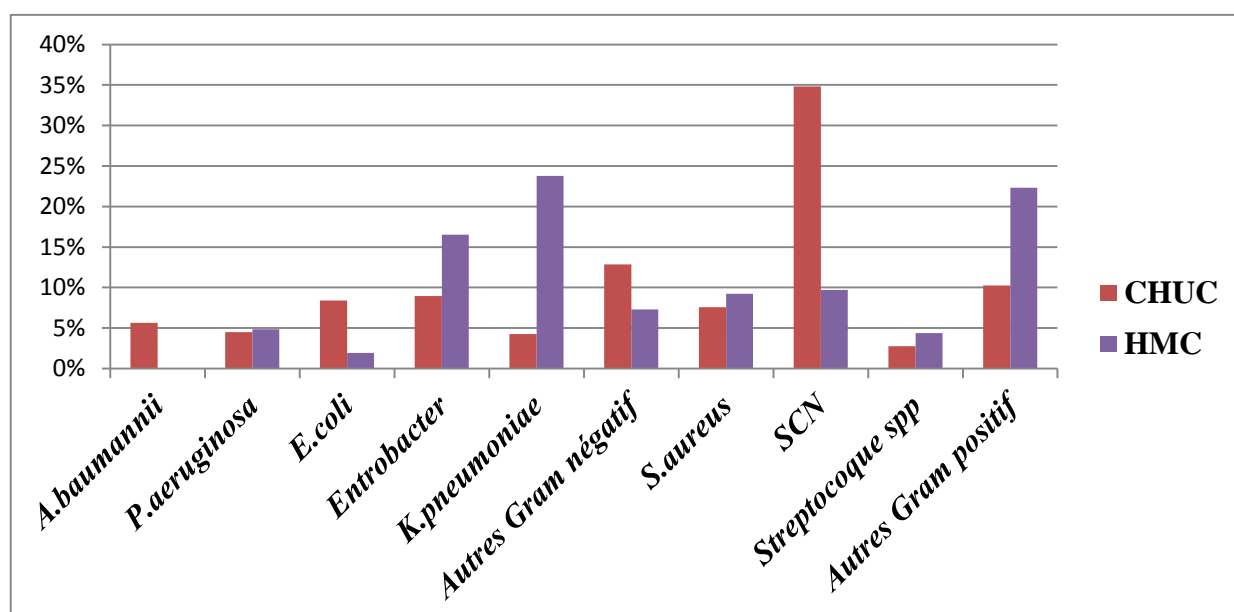


Figure 11 : Répartition comparative en fonction des souches bactériennes n=1803.

9. Répartition globale des hémocultures selon le sexe :

Le tableau ci-dessous montre la répartition des septicémies selon le sexe. Comme indiqué dans le tableau le sexe masculin (60%) présente une nette prédominance d'hémocultures positives isolées par rapport au sexe féminin (40%), avec un sex ratio de 1,5 (Tableau 11).

Tableau 11 : Répartition globale des hémocultures selon le sexe n=1799 (Une hémoculture par patient).

Sexe	Nombre	Pourcentage (%)
Femme	724	40
Homme	1075	60
TOTAL	1799	100

10. Répartition globale des germes selon le sexe au niveau du CHUC et l'HMC

On constate qu'il y a une équivalence dans la répartition des souches selon les deux sexes. Mais on remarque que *Klebsiella pneumoniae* et SCN sont isolés beaucoup plus chez les hommes que les femmes et que les *Enterobacter* au contraire sont isolés chez les femmes beaucoup plus que les hommes (Tableau 12).

Tableau 12: Répartition globale des germes selon le sexe au niveau du CHUC et l'HMC n=1803.

Germes	Hommes	Femmes
<i>Acinetobacter baumannii</i>	43	34
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42	39
<i>Escherichia coli</i>	72	78
<i>Enterobacter</i>	27	45
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	111	37
<i>Brucella</i>	22	11
Autres Gram négatif	140	123
<i>Staphylococcus aureus</i>	89	56
Staphylocoque à coagulase négative	319	215
<i>Enterocoque spp</i>	30	19
<i>Streptocoque spp</i>	19	29
Autres Gram positif	108	95
TOTAL	1022	781

11. Répartition globale des hémocultures selon le service

Le tableau ci-dessous montre la répartition des septicémies selon les services. Le service d'infectieux est le plus grand pourvoyeur de septicémie avec 463 cas suivi par le service du Centre des brûlés avec 401 cas suivi par la pédiatrie et la Réanimation par des taux respectifs de : 156 et 126 cas. 104 cas sont observés dans les autres services tel que : Orthopédie, Hémodialyse, Endocrine,... etc (**Tableau 13**).

Tableau 13 : Répartition des hémocultures selon le service n=1799.

Services	Nombre	Pourcentage (%)
Infectieux	463	26
Centre des brûlés	401	22
Pédiatrie	152	8
Réanimation	126	7
Neurologie	84	5
Gastrologie	83	5
Chirurgie	80	4
Hématologie	81	4
Médecine interne	73	4
Déchocage	55	3
Cardiologie	53	3
Nurserie	23	1
Néphrologie	25	1
Autres services	100	6
TOTAL	1799	100

11.1. Répartition des hémocultures selon les services au niveau du CHUC et HMC

La figure ci-dessous montre la répartition des hémocultures positives au niveau de 13 services répartis sur les deux centres hospitaliers. On constate 170 hémocultures positives au niveau du HMC dont 70 hémocultures positives sont observées au service de réanimation et sur un total de 1529 hémocultures positives au niveau du CHUC, 401 hémocultures positives sont observées au niveau du Centre des brûlés et 451 hémocultures positives au niveau de service d'infectieux.

Comme indiqué dans la figure, une prédominance des hémocultures positives au niveau de CHUC par rapport au HMC. On constate également une absence des services

Résultats

de Centre de brûlés, Déchocage, et Nurserie et une absence de service de Néphrologie au niveau du CHUC (**Figure 12**).

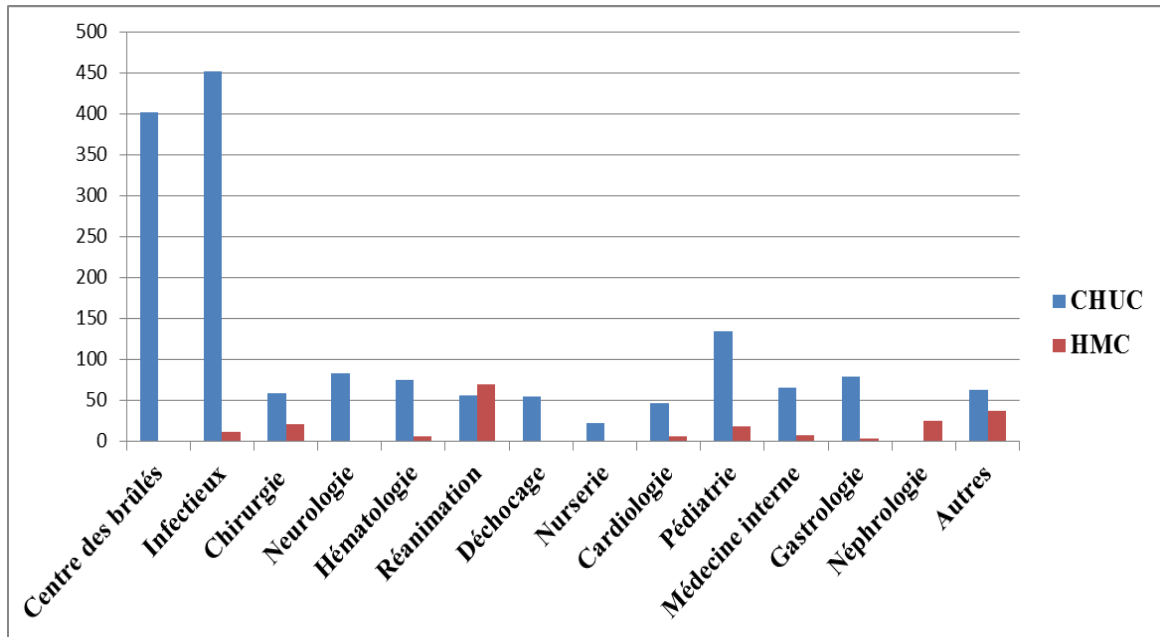


Figure 12: Répartition des hémocultures selon les services au niveau du CHUC et HMC
n= 1799.

12. Répartition globale des principaux germes selon les services du CHUC et l'HMC.

Le tableau ci-dessous montre la répartition des principaux germes selon les services. Parmi les 77 souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées le plus grand nombre est isolé au niveau du Centre des brûlés. Parmi 152 souches d'*E.coli* on peut remarquer que 66 souches sont isolées au niveau du service infectieux. Parmi les 149 souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées le plus grand nombre est enregistré au niveau du Centre des brûlés, Infectieux, Neurologie.

Parmi les Gram positif isolés, *S.aureus* et SCN représentent un grand nombre d'isolats répartis presque dans tous les services. 180 souches sont isolées au niveau de service infectieux et 145 de *S.aureus* dont 48 sont isolés au niveau du Centre de brûlés (**Tableau 14**).

Résultats

Tableau 14 : Répartition globale des principaux germes selon le service au niveau du CHUC et l'HMC n=1803.

	CB	Inf.	MI	Neuro	Chir.	Péd.	RUC	Hémato	Gastro	NRS	Réa.	Autres	Total
<i>A.baumannii</i>	45	5		6	1	5	2	7		2	4		77
<i>P.aeruginosa</i>	17	12	3	2	2	2	3	17		4	11	10	81
<i>E.coli</i>	7	66	6		6	6	4	15	14	4	5	19	152
<i>Enterobacter</i>	18	8		2	6	7	4	4	8		14	4	75
<i>K.pneumoniae</i>	36	33	6	20	9	9	6	10	7	5	7	1	149
<i>Proteus spp</i>	4	7	2	4						6			23
<i>Salmonella spp</i>		7			1				1	2			11
<i>Brucella</i>	1	32			1								33
<i>S.aureus</i>	48	29	9	4	3	20	3	7	6		8	8	145
SCN	89	180	26	32	28	52	22	30	24	9	33	9	534
<i>Enterocoque spp</i>	4	3	2	2	6	5			1	3	11	12	49
<i>Streptocoque spp</i>	1	18	2	2		5	3	8	3		1	10	52
Autres	65	80	12	11	10	23	16	4	4	8	40	162	435
TOTAL	335	480	68	85	72	134	63	95	68	35	133	235	1803

CB : Centre des brûlés, Inf. : infectieux, MI : Médecine Interne, Neuro. : Neurologie, Chir. : Chirurgie, Péd. : Pédiatrie, Hémato. : Hématologie, Gastro. : Gastrologie, NRS : Réa : Réanimation, *A.baumannii* : *Acinetobacter baumannii* *P.aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa* *E.coli* : *Escherichia coli* *K.pneumoniae* : *Klebsiella pneumoniae*, *S.aureus* : *Staphylococcus aureus*, SCN : Staphylocoque à coagulase négative. La case jaune : absence du germe, la case rouge : importante.

13. Profil de résistance

Les tableaux ci-dessous représentent le profil de résistance globale des souches identifiées durant la période du 1 Janvier au 31 Mars 2016 dans les deux centres hospitaliers.

Le nombre total des antibiogrammes est 152 antibiogrammes, 27 BLSE dans notre période d'étude 2014-2016 ont été notées.

13.1. Profil global de résistance des souches isolées

La figure ci-dessous (Figure 13) montre que les souches identifiées ont plus de 80% de résistance à la ticarcilline, à la cetazidime, à la piperacilline, à l'aztreonam, à l'association amoxiciline + acide clavulanique et plus de 50% à l'amikacine, à la pénicilline, l'oxacilline et l'érythromycine

La vancomycine et la colistine étaient globalement les antibiotiques les plus actifs sur les germes identifiés (**Figure 13**).

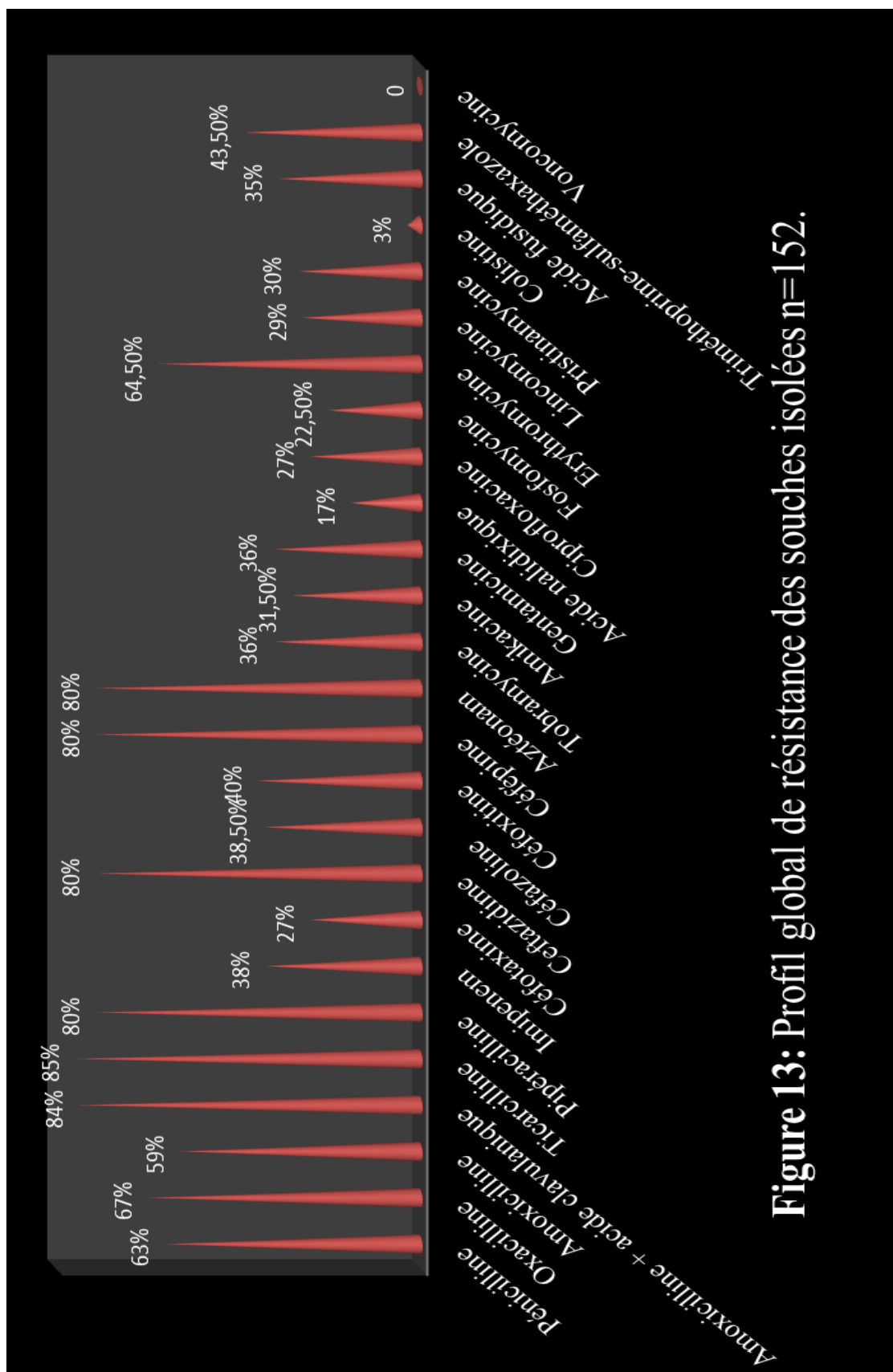


Figure 13: Profil global de résistance des souches isolées n=152.

13.2. Profil de résistance des Bacilles non fermentants

Le tableau ci-dessous montre que les Bacilles non fermentants présentent une résistance élevée à la ticarcilline 85%, à la piperacilline, la ceftazidime, la cefepime, l'aztreonam et au triméthoprime-sulfaméthoxazole avec un taux de 80%, à l'imipénème et gentamicine 75%, à l'amikacine avec un taux de 55%, à la ciprofloxacine avec un taux de 60%. Par contre, la colistine conserve une excellente activité, avec 0% de résistance (Tableau 15).

Tableau 15 : Profil de résistance aux antibiotiques des Bacilles non fermentants n=20.

Antibiotiques	Break point	R+I		S	
		Nombre	Pourcentage%	Nombre	Pourcentage%
Ticarcilline	15-19	17	85%	3	15%
Piperacilline	18-20	16	80%	4	20%
Ceftazidime	15-17	16	80%	4	20%
Cefepime	15-17	16	80%	4	20%
Aztreonam	16-21	16	80%	4	20%
Imipénème	14-15	15	75%	5	25%
Gentamicine	13-14	15	75%	5	25%
Amikacine	15-17	11	55%	9	45%
Ciprofloxacine	16-20	12	60%	8	40%
triméthoprime-sulfaméthoxazole	11-15	16	80%	4	20%
Colistine	13-14	0	0%	20	100%

13.2.1. Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Acinetobacter spp*

La figure ci-dessous montre une résistance totale d'*Acinetobacter spp* à la ticarcilline, ceftazidime, piperacilline, aztreonam, imipénème, l'association amoxicilline + acide clavulanique.

Une résistance élevée à : la gentamicine 94%, l'imipénème 88%, la ciprofloxacine 75%, l'amikacine 69%.

Mais reste la colistine l'antibiotique de choix avec une sensibilité totale (**Figure 14**).

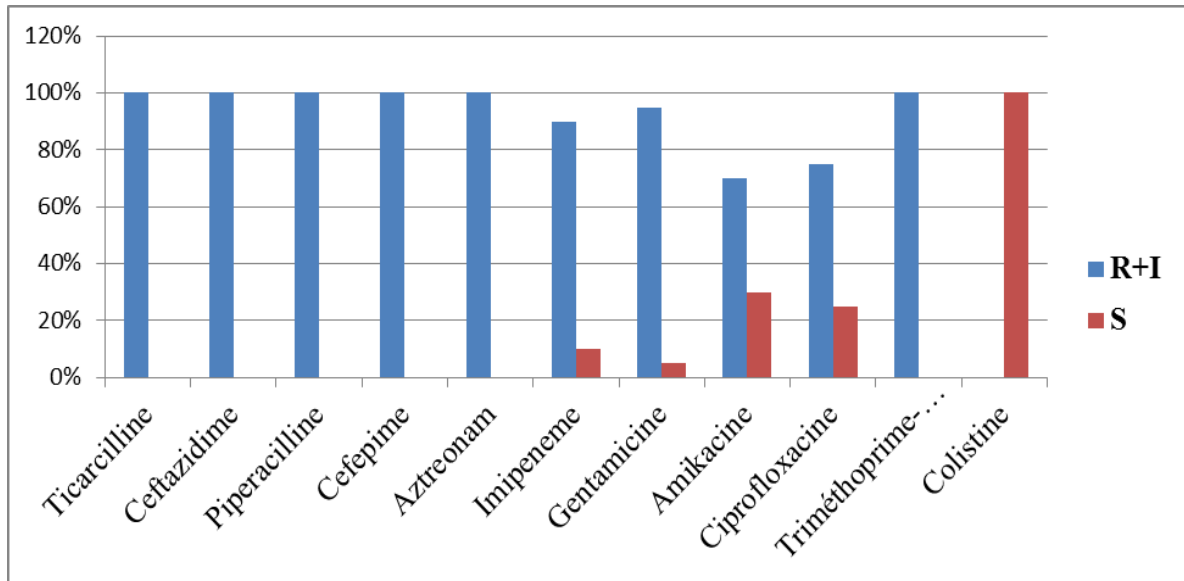


Figure 14 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Acinetobacter spp* n=16.

13.2.2. Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

Globalement les 3 souches isolées sont des souches sauvages, une sensibilité à tous les antibiotiques testés a été notée.

13.2.3. Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Burkholderia spp*

Pour la seule souche isolée une résistance à la ticarcilline et l'imipenème a été notée. Le reste des antibiotiques sont actifs.

13.3. Profil de résistance des Entérobactéries

Le tableau ci-dessous montre que les Entérobactéries isolées enregistrent des taux de résistance importants de 97% à l'amoxicilline, de 84% respectivement pour l'association amoxicilline+acide clavulanique et à la ticarcilline, 73% à la cefazoline, 49% à la cefoxitine, 51% à la cefotaxime (marqueur de BLSE), en revanche une résistance nulle à l'imipenème.

Pour les aminosides, 43% de résistance relevée à la gentamicine, 8% à l'amikacine. 20% à l'acide nalidixique, 28% à la ciprofloxacine, 23% à l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole, par contre que 3% pour la colistine (**Tableau 16**).

Résultats

Tableau 16 : Profil de résistance des Entérobactéries n=37.

Antibiotiques	Break point	R+I		S	
		Nombre	Pourcentage (%)	Nombre	Pourcentage (%)
Amoxicilline	14-16	36	97	1	3
Amoxicilline + acide clavulanique	15-20	31	84	6	16
Ticarcilline	15-19	31	84	6	16
Céfazoline	15-17	27	73	10	27
Cefoxitine	15-17	17	49	18	51
Cefotaxime	15-22	19	51	18	49
Imipenème	14-15	0	0	37	100
Gentamicine	13-14	16	43	21	57
Amikacine	15-17	3	8	34	92
Acide nalidixique	14-18	4	20	18	80
Ciprofloxacine	16-20	10	28	26	72
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	11-15	23	70	10	30
Colistine	13-14	1	3	36	97

13.3.1. Profil de résistance aux antibiotiques des *Enterobacter spp*

La figure ci-dessous montre une résistance totale des *Enterobacter spp* à l'amoxicilline et l'amoxicilline + acide clavulanique et à la céfazoline et une sensibilité totale à l'imipenème, l'amikacine, l'acide nalidixique.

Une résistance de 20% à la Gentamicine, de 30% à Triméthoprime-sulfaméthoxazole et 10% à la ciprofloxacine (**Figure 15**).

Résultats

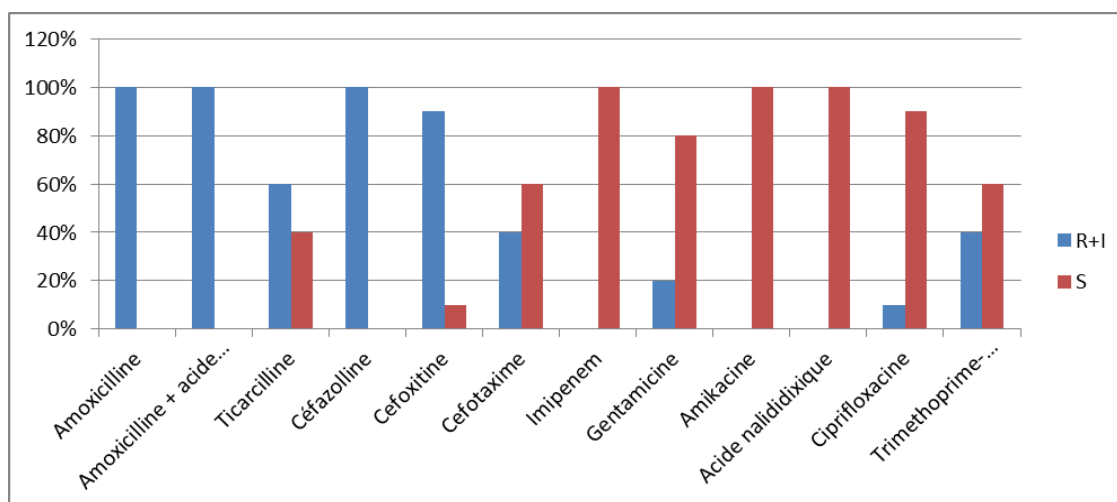


Figure15 : Profil de résistance aux antibiotiques des *Enterobacter spp* n=10.

13.3.2. Profil de résistance des souches *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae présente une résistance naturelle (chromosomique) à l'amoxicilline et à la ticarcilline, et peut acquérir des résistances multiples. Une résistance de 58% à l'amoxicilline+ acide clavulanique, 75% à la cefazoline et au cefotaxime (marqueur de BLSE), une résistance nulle à l'imipénème, 62% à la gentamicine, 17% à l'amikacine et une résistance élevée de 92% vis-à-vis du triméthoprime-sulfaméthoxazole (**Figure 16**).

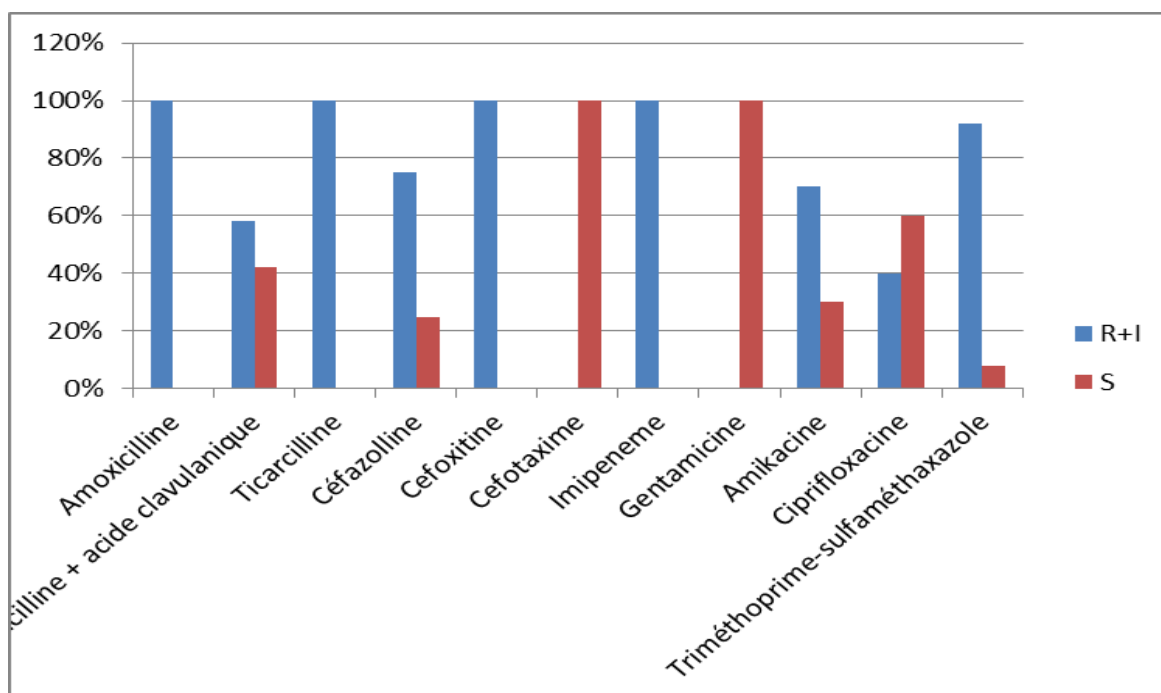


Figure 16 : Profil de résistance des *Klebsiella pneumoniae* n=12.

13.3.3. Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Escherichia coli*

La figure ci-dessous montre une résistance très élevée de 92% à l'amoxicilline, l'association amoxicilline+ acide clavulanique et ticarcilline, 46% à la céfazoline, 38% au cefotaxime et gentamicine, 31% à la ciprofloxacine, 23% à l'acide nalidixique, 62% au trimethoprime-sulfamethoxazole. Par contre l'imipenème et l'amikacine gardent une excellente activité sur les souches d'*E.coli* avec un taux de résistance nul (**Figure 17**).

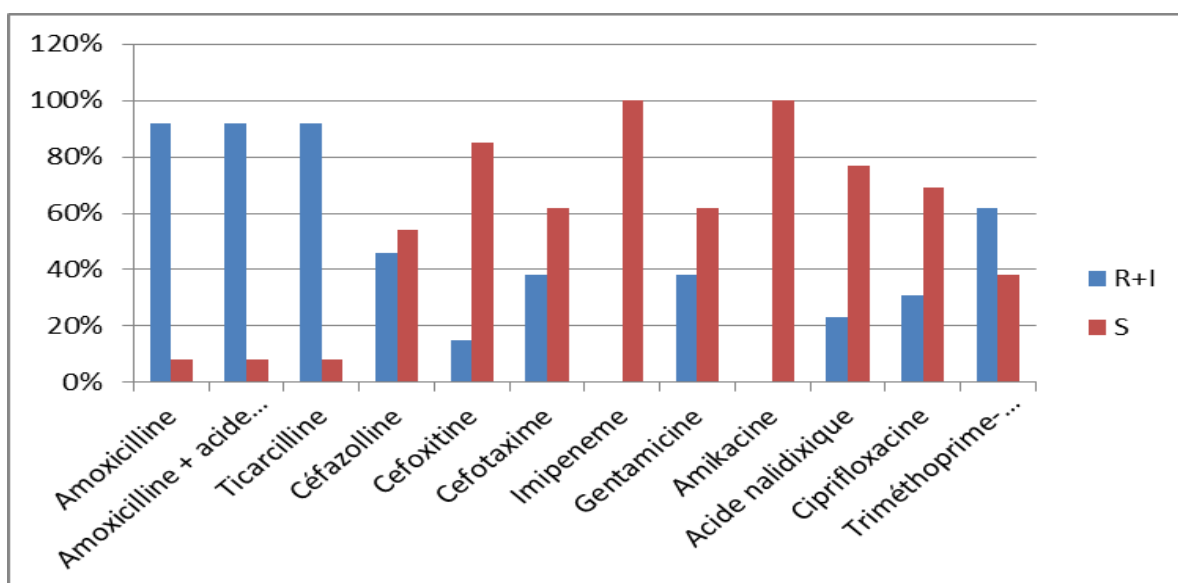


Figure 17 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Escherichia coli* n=13.

13.3.4. Profil de résistance aux antibiotiques de *Proteus spp*

La seule souche isolée est résistante à tous les antibiotiques sauf l'acide nalidixique, la ciprofloxacine et l'imipenème.

13.3.5. Profil de résistance aux antibiotiques de *Serratia spp*

Une seule souche isolée avec une résistance à l'amoxicilline, amoxicilline + acide calvulinique, la céfazoline et à l'acide nalidixique.

13.4. Profil de résistance des Streptocoques

Le tableau ci-dessous montre que les Streptocoques présentent une résistance de 30% à la pénicilline, 20% à l'amoxicilline, 50% à la céfazoline, 40% au cefotaxime, 30% à la gentamicine et à la ciprofloxacine, 40% à la fosfomycine, 60% à l'érythromycine, 30% à la lincomycine et à la Pristinamycine, 20% à l'association Trimethoprime-sulfamethoxazole et acide fusidique. La vancomycine reste l'antibiotique de choix (**Tableau 17**).

Résultats

Tableau 17 : Profil de résistance des Streptocoques n=10.

Antibiotiques	Break point	R+I		S	
		Nombre	Pourcentage(%)	Nombre	Pourcentage(%)
Penicilline	3	30	3	70
Amoxicilline	14-16	2	20	4	80
Cefazoline	15-17	5	50	5	50
Cefotaxime	15-22	4	40	5	60
Gentamicine	13-14	3	30	1	70
Fosfomycine	S≥15	4	40	6	60
Erythromycine	14-22	6	60	4	40
Lincomycine	3	30	3	70
Pristinamycine	3	30	7	70
Trimethoprime-sulfamethoxazole	11-15	2	20	1	80
Ciprofloxacine	16-20	2	20	3	80
acide fusidique	2	20	4	80
Vancomycine	16-20	0	0	10	100

13.5. Profil de résistance des Staphylocoques

Le tableau ci-dessous montre que les Staphylocoques présentent une résistance élevée à la pénicilline (98%), l'oxacilline (68%), la céfoxitine et l'érythromycine (70 %), l'acide fusidique (51%), une résistance plus ou moins à la tobramycine (45%), à la gentamicine (27%), à la lincomycine (28%). Une sensibilité élevée vis-à-vis à la fosfomycine (5%), à la ciprofloxacine (22%) et une sensibilité totale à la vancomycine et pristinamycine (**Tableau 18**).

Résultats

Tableau 18 : Profil de résistance des Staphylocoques n=85.

Antibiotiques	Break point	R+I		S	
		Nombre	Pourcentage (%)	Nombre	Pourcentage(%)
Pénicilline	82	98	2	2
Oxacilline	18-24	57	68	27	32
Cefoxitine	15-17	58	70	25	30
Tobramycine	13-14	36	45	44	55
Gentamicine	13-14	23	27	61	73
Fosfomycine	S≥15	4	5	73	95
Erythromycine	14-22	59	70	25	30
Lincomycine	23	28	60	72
Pristinamycine	0	0	85	100
Trimethoprime-sulfamethoxazole	11-15	39	47	44	53
Acide fusidique	42	51	40	49
Vancomycine	15-16	0	0	85	100
Ciprofloxacine	16-20	16	22	56	78

13.5.1. Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Staphylococcus aureus*

La figure montre que les *Staphylocoques aureus* avaient plus de 93% de résistance vis-à-vis la pénicilline et une résistance de 53% pour l'oxacilline et la céfoxitine (SARM).

Ils avaient moins de 50% de résistance à la tobramycine et à la gentamicine (33%), la ciprofloxacine (27%), l'érythromycine (13%) et la lincomycine et l'association trimethoprime-sulfamethoxazole (7%).

En revanche la fosfomycine, la pristinamycine et la vancomycine restent actives (Figure 18).

Résultats

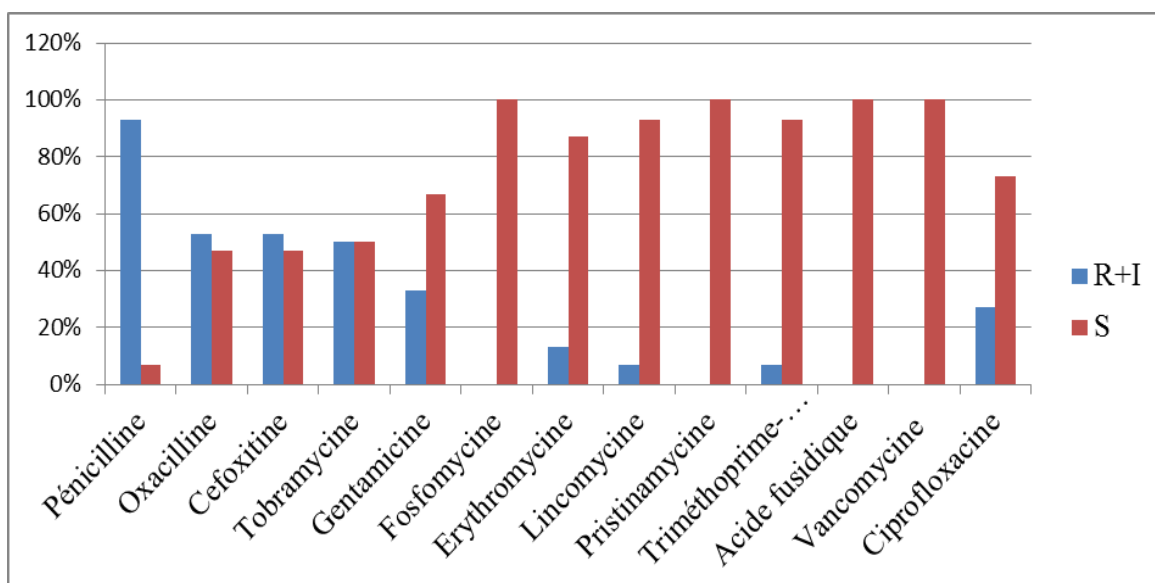


Figure 18 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Staphylococcus aureus* n=15.

13.5.2. Profil de résistance aux antibiotiques des souches Staphylocoques à coagulase négative

La figure ci-dessous montre que Staphylocoques à coagulase négative présentent une résistance élevée aux β -lactamines : pénicilline 97%, oxacilline 70%, céfoxitine 71%.

Une résistance de 44% à la tobramycine et 26% à la gentamycine.

Une résistance élevée de 81% vis-à-vis l'érythromycine, 60% à l'acide fusidique, et 54% au triméthoprim-sulfaméthoxazole.

Une sensibilité élevée de 81% à fosfomycine, et une sensibilité totale à la vancomycine et la pristinamycine (**Figure 19**).

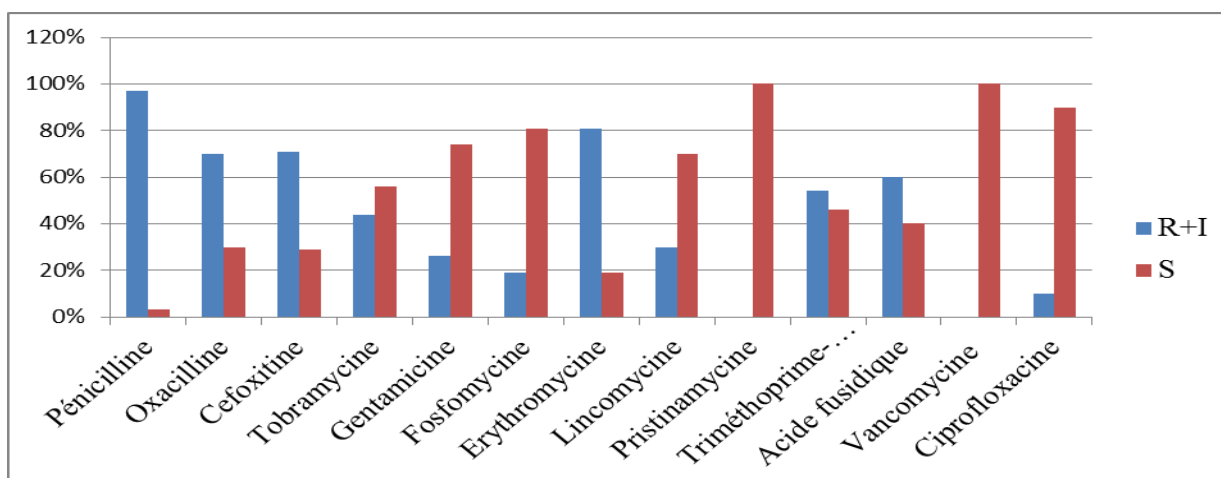


Figure 19 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches Staphylocoques à coagulase négative n= 70.

13.6. Profil de résistance des bactéries multi-résistantes

Le tableau montre le type de résistance associée aux différentes souches : 69% des souches d'*Acinetobacter spp* sont multi résistantes, où seule la colistine reste l'antibiotique de choix. 38% et 50% des souches *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* présentent une résistance de type BLSE. 53% de *Staphylococcus aureus* présentent une résistance de type SARM. Par contre les Streptocoques et *Pseudomonas aeruginosa* ne présentent aucun aspect de la multi résistance (**Tableau 19**).

Tableau 19 : Profil de résistance des bactéries multi-résistantes n=30.

Bactérie	Types de résistance	Nombre	Pourcentage (%)
<i>Staphylococcus aureus</i> (N=15)	SARM	8	53%
Streptocoques (N=10)	Résistance à la vancomycine	0	0%
<i>Escherichia coli</i> (N=13)	BLSE	5	38%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (N=12)	BLSE	6	50%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (N=3)	multirésistance	0	0%
<i>Acinetobacter spp</i> (N=16)	multirésistance	11	69%

13.6.1. Profil de résistance des SARM

La figure ci-dessous montre une résistance naturelle des *S.aureus* à la pénicilline, oxacilline, céfoxitine et la fosfomycine. Une résistance élevée à la tobramycine et à la gentamicine (63%). Une résistance à l'érythromycine et au trimethoprime-sulfamethoxazole (13%). Par contre une sensibilité totale à la lincomycine, la pristnamycine, l'acide fusidique et la vancomycine (**Figure 20**).

Résultats

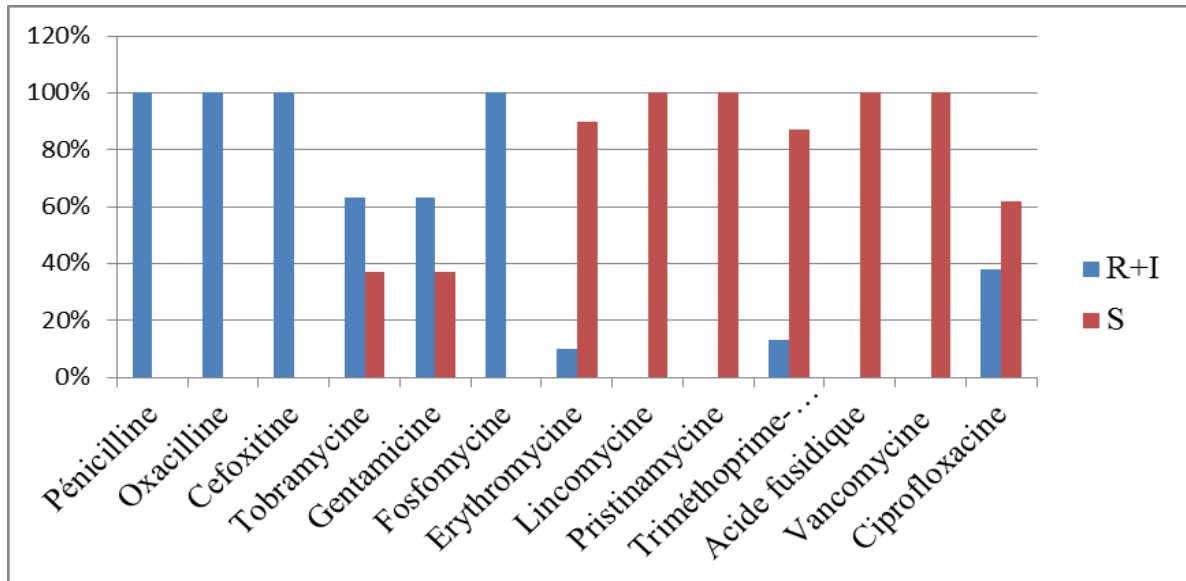


Figure 20 : Profil de résistance des SARM. n=8.

13.6.2. Profil de résistance des souches *E.coli* BLSE

La figure ci-dessous montre la résistance totale des *E.coli* BLSE à l'amoxicilline, l'amoxicilline + acide clavulanique, la ticarcilline et l'acide nalidixique. Une résistance élevée de (80%) à céfazoline et cefotaxime et de 60% à la gentamicine et la ciprofloxacine (60%).

Une résistance nulle a l'imipénème, l'amikacine et la colistine (**Figure 21**).

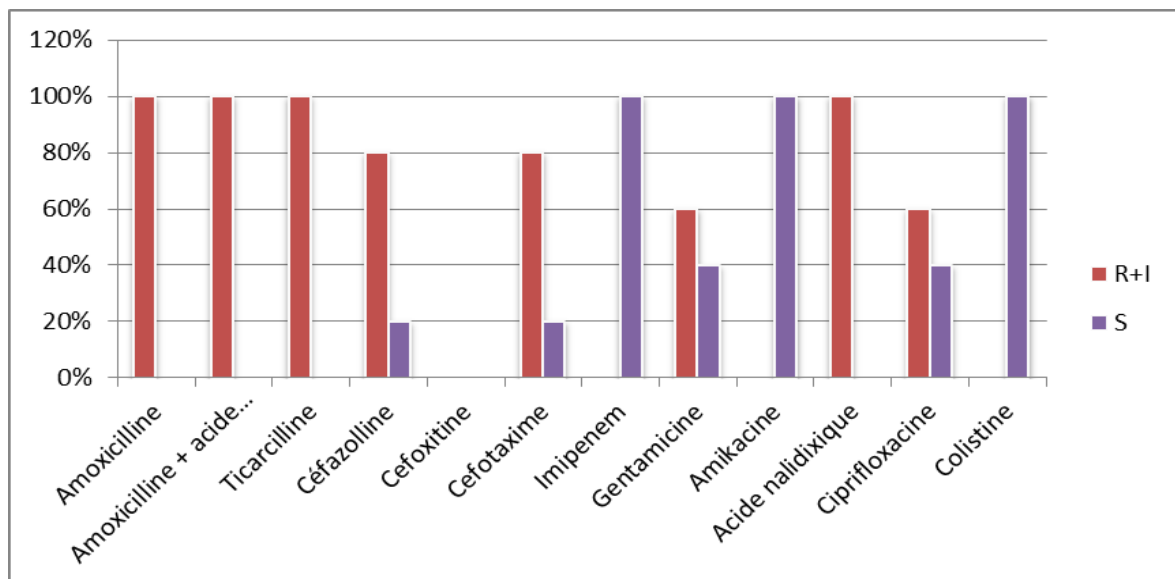


Figure 21 : Profil de résistance des souches *E.coli* BLSE n=5.

13.6.3. Profil de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* BLSE

La figure ci-dessous montre une résistance totale de *Klebsiella pneumoniae* BLSE à plusieurs antibiotiques tel que : l'amoxicilline, l'amoxicilline + acide clavulanique, la

Résultats

ticarcilline, la céfazoline et la gentamicine et à la ciprofloxacine. En revanche une résistance nulle à la colistine, à l'amikacine, à l'imipénème est notée (**Figure 22**).

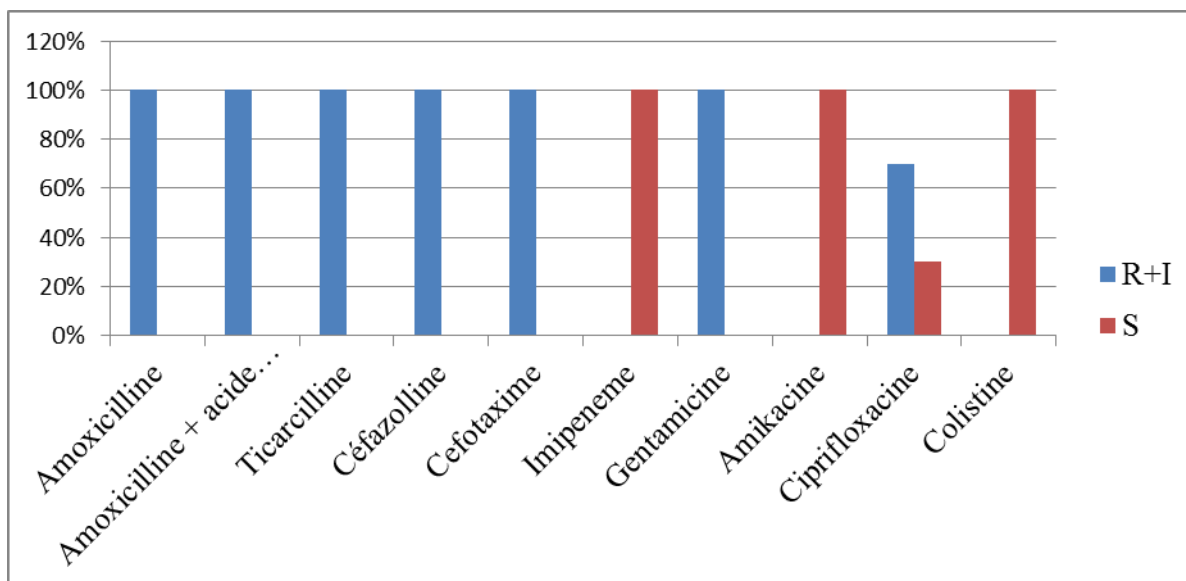


Figure 22 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* BLSE n=6.

Discussion

Discussion

Les septicémies demeurent aujourd'hui une cause importante de mortalité en France et dans le monde (**Thomin, 2015**).

Dans notre étude rétrospective qui a été réalisée au niveau de deux laboratoires :

Le laboratoire de Microbiologie du centre hospitalo universitaire C.H.U BENBADIS et le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital militaire régional universitaire H.M.C Abdelali BENBAATOUCHE de Constantine, sur une période de deux ans et trois mois, du 1^{ère} janvier 2014 au 31 mars 2016.

Durant notre période d'étude, sur un total correspondant à 7477 hémocultures, le taux de positivité enregistré est de 1799 ce qui correspond à 24 %. Ce taux est élevé comparativement à d'autres études qui ont été faites au C.H.N.S.S. de Bobo-dioulasso en Burkina-Faso durant l'année 2002 par Lankoande ; sur 522 cas le taux de positivité des hémocultures au C.H.N.S.S était de 13.58% seulement (**Lankoande, 2002**).

Ce nombre reste élevé par rapport à une autre étude qui a été faite entre (1 novembre 2001 au 30 juin 2002) dans le service des urgences de l'hôpital européen Georges-Pompidou, 1432 hémocultures ont été effectuées chez 1069 malades. Le taux de positivité était de 12 % seulement (**Mallat et al., 2004**).

Dans notre étude le taux de contamination enregistré est très faible 3%, comparativement à l'étude de Baudat en 2002 à l'hôpital de Fribourg qui enregistre 10% des isolats contaminants, alors que le travail de Weinstein et al en rapporte 43%; cette valeur se situe entre 2% et 43% dans d'autres études.

Plusieurs explications sont possibles : le facteur principal réside très probablement dans le fait que le taux de contamination est plus faible lorsque ce sont des infirmières (c'est le cas à l'Hôpital Cantonal de Fribourg), ou une équipe spécialisée qui effectue les prélèvements, que lorsque celui-ci est fait par des étudiants en médecine ou des médecins, comme dans la plupart des hôpitaux américains. D'autres aspects propres à la méthode de prélèvement ont été étudiés et leur influence sur le taux de contamination reste controversé : il s'agit de la modalité de ponction du sang veineux (la ponction veineuse directe serait associée à un taux de contamination plus faible que lorsque le prélèvement se fait par un accès vasculaire déjà en place, de la désinfection du capuchon de la bouteille avant l'ensemencement et du changement de l'aiguille entre la ponction et l'ensemencement. Le

Discussion

désinfectant utilisé semble jouer également un rôle, avec dans la littérature une tendance controversée de la chlorhexidine à être associée à un taux de contamination plus faible que le povidone-iodé (**Baudat, 2002**).

Dans notre étude le taux des hémocultures négatives est très élevé, il est de 73%.

Nos résultats sont proches de ceux de Séko koné au Mali et qui enregistre 81.04% d'hémocultures négatives (**Séko kone, 2009**).

Dans notre étude la septicémie est due principalement aux bactéries (98%) et rarement aux levures (2%). Cette observation est confirmée par plusieurs études.

Celle de Baudat *et al* en 2005 et de Séko Koné en 2009 rapportant des taux proches : 6%, 0.1% et qui étaient pathogènes dans la majorité des cas.

A l'échelle internationale, la fréquence des septicémies à levure observée dans l'étude de Eloy *et al* en 2004 était de 2.3%, elle est proche de celle trouvée dans d'autres pays d'Europe comme la Suisse : 2,9 %, la Grèce : 3 %, l'Espagne 4 %, mais plus basse en Allemagne où elle se situe à 9%. Les candidémies occupent ainsi dans leur étude le septième rang des septicémies, ce qui est identique aux données de l'étude Funginos réalisée en Suisse entre 1991 et 2000 (**Eloy *et al.*, 2006**).

Une autre étude Française en 2013 d'Alfadasi *et al* a montré les mêmes observations et noter que les levures ne présentent que 1,6% et se présentent fréquemment chez les immunodéprimés (**Alfadasi *et al.*, 2013**).

Quoi qu'une augmentation est remarquée par Beck-Sague aux Etats-Unis entre 1980 et 1990 avec une incidence de 2 à 3,8 infections pour 1000 hospitalisations (**Eloy *et al.*, 2006**), elle est confirmée ces dernières années par Baudat *et al* en 2015.

Selon les auteurs, les levures du genre *Candida* représentent le quatrième ou cinquième agent retrouvé dans les septicémies (**Eloy *et al.*, 2006**).

Durant notre étude 98% des septicémies ont été monomicrobiennes et 2% ont été polymicrobiennes, ces résultats sont légèrement différents de ceux de Baudat en 2002 qui a trouvé 96.7% de septicémies monomicrobiennes et 3.3% de septicémies polymicrobiennes (**Baudat, 2002**). Dans une étude française le pourcentage des polymicrobiennes est estimé à 5,9% (**Alfandari, 2016**). Cela est proche des données de l'hôpital universitaire de Bâle

Discussion

de l'année 2013. Le taux de septicémies polymicrobiennes peut représenter jusqu'à 10% de l'ensemble des septicémies pertinentes (**Osthoff et al., 2016**).

Ces observations sont affirmées par les résultats trouvés à l'hôpital du point « G » au Mali, il s'agit de septicémies monomicrobiennes dans 263 (95 %) cas et de septicémies polymicrobiennes dans 13 (5 %) (**Maïga et al., 2004**).

Selon une autre étude au Québec les septicémies polymicrobiennes enregistrées sont de 9%. Donc les septicémies polymicrobiennes sont moins fréquentes (**Fortin, 2013**) parce que une hémoculture positive polymicrobienne (associée à certaines espèces) oriente plutôt vers une contamination du prélèvement. *Bacillus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium*, bactéries de la flore cutanéomuqueuse, sont des contaminants dans plus de 95% des cas (**Séko koné, 2009**).

Dans notre étude une domination légère des Gram positif 54% par rapport aux Gram négatif 46% est notée. De ce fait une domination de groupe de Staphylocoques 46% suivi par le groupe des Entérobactéries et des Bacilles à Gram négatif non fermentants qui sont respectivement 25%, 16%. Cette dominance est en accord avec les résultats de l'International antimicrobial therapy cooperative group (EORTC) ainsi que les résultats européens et américains (**Elmaatoui, 2009**).

En ce qui concerne les groupes bactériens nos résultats sont différents de ceux de Ben Haj Khalifa et Khedher en Tunisie qui ont trouvé que la prédominance revient aux Entérobactéries par 83.2% suivi par les 61.2% et les BNF avec 16.8% (**Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010**).

Une étude au Québec a montré que la répartition des microorganismes selon l'origine de la septicémie démontre que la famille des Entérobactéries est généralement la plus prévalente (**Fortin, 2013**).

Selon Parakash et al d'Oman et Sékou Koné au Mali et Elmaatoui et al au Maroc, la prédominance est enregistrée pour les Gram positif avec des taux qui sont respectivement : 57,8%, 53,19%, 60,34% et des taux de Gram négatif de 42,2%, 39,69%, 24,14% (**Elmaatoui, 2009 ; Séko koné, 2009 ; Parakash, 2014**).

Discussion

Une autre étude rétrospective de trois ans réalisée sur un ensemble de 49 hôpitaux aux Etats unis constate que les septicémies à Gram positif sont de 64% contre 27% pour les Gram négatif (**Bourneton et al., 2010**).

Par contre une autre étude au Burkina-Faso par Lankoande a enregistré des résultats totalement différents de ceux de la littérature. Le taux des bacilles à Gram négatif est plus élevé avec 84.5% dont les principaux germes appartiennent aux Entérobactéries et 15.3% des cocci Gram positif (**Lankoande, 2002**).

En Tunisie, dans la région de SFAX (1993–1998). Le profil bactériologique des septicémies était marqué par la prédominance des bactéries à Gram négatif (BGN). Il correspond au profil décrit dans les années 1970 et 1980 dans les pays industrialisés. Ce déphasage pourrait s'expliquer par un retard dans l'introduction des techniques invasives et des céphalosporines de 3^{ème} génération dans leurs habitudes thérapeutiques, ce qui est conforme à la littérature (**Ben jema 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**).

Dans notre étude, le sex. ratio est en faveur du sexe masculin avec un taux de 1,5, ce taux est comparable avec pas mal d'études qui ont enregistré des taux identiques ou proches de nos résultats.

En 2002 Diop a enregistré un taux identique de 1,5% ; d'autres études en Burkina-Faso, en Europe, au Maroc, ont enregistré des taux proches et qui sont respectivement : 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 (**Lakoande, 2002**). Ces fréquences sont expliquées par les différences de l'immunité humorale existant dès la naissance et sont renforcées après la puberté par les œstrogènes. En immunologie expérimentale, il faut une moindre quantité d'antigènes chez la femelle pour susciter la synthèse d'anticorps et la

Discussion

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 <http://microcsb.net/IMG/pdf/DISCUSSION-2.pdf>.

Les taux des septicémies enregistrés varient en fonction de la nature et la structure de l'hôpital et de l'activité des unités d'hospitalisation et de la qualité de l'équipe de soins.

Les épisodes de septicémies ont été constatés chez des patients hospitalisés dans plusieurs services et avec des pourcentages différents, dont les pourcentages les plus élevés sont constatés au niveau des services : l'infectieux par 27% des cas, suivi par les centre des brûlé avec 24%, la pédiatrie par 9% et le service de réanimation par un taux de 7%.

Sachant que la répartition des services au niveau des hôpitaux est différente où on note une absence de service de néphrologie au niveau de CHUC et le CB au niveau de l'HMC.

Ces résultats sont différents de ceux qui ont été enregistrées par Lankoande qui a noté que le grand pourcentage est enregistré en médecine interne (60,3%), alors que dans notre étude le taux enregistré dans ce service est de 7%. 23% ont été notés dans le service de pédiatrie. Ces résultats sont supérieurs aux notes (**Lankoande, 2002**).

Selon Baudat, les services qui ont le plus fort pourcentage de positivité des hémocultures sont ceux de médecine (56,1%), suivi des soins intensifs (19,5%), des services chirurgicaux y compris la gynécologie et l'obstétrique (16,1%) et de la pédiatrie (8,3%) (**Baudat, 2002**).

Etude comparative

Selon notre étude dans les deux centres hospitaliers, on assiste à quelques différences dans les résultats, ce ci revient principalement à la particularité de chaque centre hospitalier.

Pour le nombre des hémocultures au niveau de CHUC (2014-2015), il est de 6676, ce nombre est largement supérieur à celui enregistré au niveau de HMC (720 hémocultures

Discussion

effectuées) dans la même période et ça se justifie par le nombre total des malades au niveau de 2 centres hospitaliers.

Une autre différence concernant également la répartition des espèces, c'est le nombre de Gram positif et de Gram négatif qu'est différent et ça revient principalement à la fréquence élevée de SCN qui est de Gram positif au niveau de CHUC et la domination des germes de *Klebsielle pneumoniae* (33) et *E.coli* (15) au niveau de l'HMC.

En plus, la différence relève dans la répartition des souches au niveau des services de chaque centre hospitalier.

Pour la répartition des souches dans les services du CHUC, une domination des germes au niveau de 2 services est observée, l'un est l'infectieux ; et ça revient probablement à l'environnement hospitalier qui est riche par des bactéries opportunistes et pathogènes et les dispositifs médicaux souillés qui facilitent la dissémination de la bactérie dans la circulation sanguine ; l'autre est le centre des brûlés et son taux élevé justifié par Petitpierre et al dans leur livre : « une septicémie se développe chez 90% des brûlures infectées, si l'étendue est supérieure à 20% » (**Petitpierre et al., 2002**).

Pour les germes isolés au niveau de ces services, le SCN est dans le premier rang par un effectif de 470 suivis par *Klebsiella pneumoniae* par 126, *E.coli* par 119 et *S.aureus* par 105. Ces mêmes résultats trouvés en Europe et en Amérique du nord sont confirmés par Osthoffa et al dans leurs résultats au niveau de l'hôpital universitaire de Bale (**Osthoffa et al., 2016**).

Cette observation confirmée par une autre étude américaine qui trouve aussi une domination de SNC 32%, *S. aureus* 16%. Une autre étude américaine également mais sur une période de sept ans (1995-2002) a tirée des conclusions similaires. Une autre étude réalisée en Finlande de 1999-2000 au sein de 4 hôpitaux arrive à la même conclusion et des résultats similaires sont tirés au niveau de l'Angleterre entre 1997 et 1999 et en fin une étude menée en Estonie dans trois hôpitaux de 2004-2005 cette domination est confirmée par Umeh et al en 2016 (**Bourneton et al., 2009 ; Umeh et al., 2016**).

Mais deux études au Québec, présentent des résultats légèrement différents, une étude de 2013 révèle que *S.aureus* et *E.coli* sont les plus dominants et d'autres études démontrent que la famille Entérobactéries est la plus dominante (**Fortin, 2013**).

Discussion

Un autre germe de BNF, *Acinetobacter baumannii* qui présente des fréquences diminuées par rapport aux autres germes. Mais sa fréquence au niveau du centre des brûlés est remarquable et ça revient à sa capacité d'acquérir et d'accumuler les facteurs de résistance et de son caractère opportuniste (**Élouennass et al., 2004**).

Au contraire au niveau de l'HMC une domination des Gram négatif avec un profil bactériologique dominé par *Klebsiella pneumoniae* et *E.coli* est notée. Cette domination est similaire aux résultats dans une étude marocaine (2002-2005) (**Elouennass et al., 2008**).

Le service le plus touché est le service de réanimation à cause de la présence de matériel invasif. Selon Elouennass l'acquisition d'une septicémie en milieu de réanimation est un facteur de risque de décès qui se surajoute (**Elouennass et al., 2008**).

Au niveau du CHUC on observe qu'il y'a des différences de répartition des germes selon les deux sexes, les grandes différences apparues au niveau des souches suivantes : les SCN et *Klebsiella pneumoniae* qui sont isolées majoritairement chez l'homme par des différences respectives de: 91 et 46 et les *Enterobacter* qui apparaissent majoritairement chez les femmes par une différence de 21 souches. Par contre au niveau de l'H.M.C il y'a une équivalence de répartition entre les deux sexes sauf pour les SCN une grande fréquence est remarquée chez les hommes que les avec une différence de 13 souches.

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 septicémies et déterminer le niveau et l'évolution de la résistance aux antibiotiques des principaux germes en cause dans les deux hôpitaux.

Résistance des Bacilles non fermentants

Dans notre étude le pourcentage de résistance des BNF à l'amikacine et à la gentamicine est respectivement 75% et 55%. Ce sont des pourcentages très proches de ceux retrouvés au niveau du C.H.U.C en 2014 (**Réseau de surveillance C.H.U.C, 2014**) : 40,1% et 55,1%. Cette résistance aux aminosides chez les bactéries pathogènes pour

Discussion

l'homme relève essentiellement de l'acquisition d'enzymes modificatrices (**Nguyena et Lamberta, 2012**).

Un taux éloigné est remarqué par Elouennass et *al* en 2004 pour l'amikacine 22,10% et la gentamicine 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**).

La résistance élevée aux céphalosporines de 3^{ème} génération par un taux de résistance au céfepime et à la céftazidine (80%) pose un problème épidémique. Ce taux est élevé par rapport aux données de la littérature surtout celles d'Elouennass et *al* en 2008 au Maroc et de Ben haj khalifa et Kedher en 2010 avec un pourcentage de résistance à la ceftazidine de 22,12% et de 48,65%. Un taux de résistance au même antibiotique (57,95%) est noté au niveau de C.H.U.C en 2014.

Résistance des Entérobactéries

La colistine a une action létale surfactive et de perméabilité sur les membranes bactériennes par interaction avec les protéines et avec un mécanisme d'action découle un spectre d'activité qui couvre les bactéries à Gram négatif (BGN) potentiellement multi résistantes telles que *Acinetobacter spp* et *P. aeruginosa* (**Kipnisa et Gueryb, 2010**).

Une résistance nulle à la colistine remarquée dans nos résultats et confirmée par les données de la littérature ; donc la colistine reste l'antibiotique de choix.

Dans notre étude une résistance diminuée aux antibiotiques testés est notée : l'acide nalidixique et la ciprofloxacine par des taux respectifs de : 20% et 28%. Ces taux sont inférieurs à ceux retrouvés dans le spectre d'activité des principales familles d'antibiotiques au centre hospitalo-universitaire de Constantine par des pourcentages de 45,5% et 33% (**Réseau de surveillance C.H.U.C, 2014**).

Dans notre étude une résistance de 24% des Entérobactéries vis-à-vis les quinolones est notée, cette résistance est diminuée par rapport aux données du C.H.U.C en 2014 et aux données de d'autres études ; une marocaine et une tunisienne avec des taux respectifs de 56%, 55,33%, 41% (**Réseau de surveillance C.H.U.C, 2014**), ce taux est compatible avec celui d'Eloueness 17,30% (**Eloueness et al., 2004 Ben haj khalifa et Khedher, 2010**).

Discussion

Selon Courvalin et *al* en 2007 la ciprofloxacine est la molécule la plus active sur les bactéries à Gram négatif. Mais la résistance plasmidique risque de prendre de l'importance dans le future. Cette résistance est due principalement aux mutations chromosomiques, en plus leur présence sur des plasmides conjugatifs favorise leur mobilité et leur dissémination chez les différents pathogènes (**Meradi et al., 2011**).

Par ailleurs, leur association à d'autres déterminants de résistance, essentiellement les β -lactamines et aminosides, concourt à une cosélection de la résistance aux fluoroquinolones par ces derniers antibiotiques largement utilisés en thérapeutique humaine (**Meradi et al., 2011**).

Notre étude a montré des taux de résistance élevés mais relativement stables pour l'amoxicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique avec des taux respectifs de 97% et 84%. Ces résultats sont similaires à d'autres études comme les travaux de Smaoui et *al* en 2015 et une autre étude algérienne de Meradi et *al* Berezzouk au Maroc en 2008 a montré que les entérobactéries montrent 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.

D'autre part ceci est dû probablement à une large prescription par nos médecins limitant fortement leur intérêt en traitement probabiliste des IUC (**Smaoui et al., 2015**).

Pour les aminosides une résistance plus au moins faible est notée vis-à-vis des antibiotiques testés : amikacine et gentamicine avec des taux respectifs de : 8% et 43%. Des taux différents observés au niveau de C.H.U.C avec des taux de 11,26%, 27,35% respectivement.

Pour la gentamicine la résistance est inférieure à celle notée en Tunisie en 2010 42,6% (**Ben hadj khalifa et khedhar, 2010**).

Certaines molécules comme l'imipenème et la colistine gardent une excellente activité sur ces germes (**Berezzouk, 2008**).

Résistance des Streptocoques

Dans notre étude le taux de résistance le plus élevé est celui à l'érythromycine avec un taux de 60% et la cefazoline avec un pourcentage de 50%. En revanche les Streptocoques présentent des taux diminués de résistance vis-à-vis des autres antibiotiques

Discussion

où la céfotaxime et la fosfomycine avec un taux de 40%. Pour la pénicilline, la gentamicine, la lincomycine et la pristinamycine avec un taux de 30%, l'amoxicilline, l'association triméthoprim sulfaméthoxazole, la ciprofloxacine et l'acide fusidique avec un taux de 20%. Une résistance nulle à la vancomycine est notée.

Selon l'étude de Ben hadj khalifa et khedhar 2010, les résistances les plus élevées étaient observées à l'érythromycine (35%), mais ce pourcentage reste éloigné par rapport à nos résultats (60%). la lincomycine à 33,6% est très proche de nos résultats.

Et en comparant avec l'étude de Lankoande qui rapporte un pourcentage de 25% à la gentamicine, ce dernier est proche de nos résultats (30%) (**Lankoande, 2002**).

Résistance des Staphylocoques

Dans notre étude les Staphylocoques présentent une résistance élevée à la pénicilline 97%, l'oxacilline 68% et la cefoxitine 69%. Une sensibilité de 100% à la vancomycine, 94% à la fosfomycine, 83% à la ciprofloxacine est notée.

Le taux de résistance aux pénicillines est presque identique de ce qui a été noté par Lankoande (96,5%) (**Lankoande, 2002**). Les taux de sensibilité à la fosfomycine, la pristinamycine et l'amoxicilline sont très proches de nos résultats. Ben hadj khalifa et Khedhar en Tunisie ont confirmé ces observations pour l'oxacilline et par l'enregistrement d'un taux de sensibilité de 30,2% (**Ben hadj khalifa et Khedhar, 2010**).

Pour la gentamicine le taux noté dans notre étude est plus élevé par rapport à ce qui a été noté par Elmaataoui et al au Maroc rapportant un taux de 18% seulement (**Elmaataoui et al., 2009**).

Dans notre étude une sensibilité totale à la vancomycine est notée, donc c'est l'antibiotique de choix mais l'utilisation potentielle des glycopeptides, exposerait au risque de sélection de souches de Staphylocoques et de sensibilité diminuée aux glycopeptides. Ce risque pourrait être majoré par l'utilisation des « verrous » d'antibiotiques à base de vancomycine (**Elmaataoui et al., 2009**).

Après un demi-siècle d'utilisation des antibiotiques, l'émergence et la dissémination de la résistance bactérienne à cette classe thérapeutique posent un problème de santé publique important dont la maîtrise constitue un défi pour les cliniciens, les microbiologistes, les hygiénistes et les autorités sanitaires.

Discussion

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques se traduit dans la pratique hospitalière par une augmentation de la morbidité et parfois de la mortalité, ainsi que des coûts d'hospitalisation (**Bertrand et al., 2005**).

Concernant les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR). Une BMR se définit comme une bactérie qui n'est sensible qu'à un petit nombre de molécules utilisables en thérapeutique du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques (**Boscher, 2014**).

les SARM sont la cause la plus courante des infections bactériennes et l'une des trois premières causes d'infections nosocomiales.

Malgré l'existence d'antibiotiques efficaces, 10% à 50% des patients atteints de septicémie à staphylocoque en meurent encore. L'importance des *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) comparée au *S. aureus* sensible à la méticilline (SASM) tient non seulement à leur résistance aux β -lactamines, mais également à leur résistance à d'autres antibiotiques importants. Le problème principal est le fait que les souches SARM hospitalières ont un potentiel épidémique. Les SARM ont disséminé dans le monde entier au cours des deux dernières décennies et sont devenus des "occupants" endémiques de beaucoup d'hôpitaux (**Struelens et Denis, 2000**).

Les taux de résistance des souches d'Entérobactéries aux β -lactamines sont élevés à l'exception de l'imipénème qui reste actif sur toutes les souches. Nos résultats montrent que l'imipénème est la seule β -lactamine active pouvant être utilisée comme un traitement alternatif pour ces souches résistantes au cefotaxime et ceftazidime. Selon les anciennes études, ce dernier considéré, pour longtemps, comme un antibiotique de choix pour les cliniciens (**Mansour et al., 2008**), parce que les carbapénèmes représentent la dernière ligne de défense dans l'armement antimicrobien contre les infections sérieuses ou invasives.

L'activité des carbapénèmes peut être compromise avec l'émergence de carbapénémases, la KPC-1 et la KPC-2 carbapénémases qui peuvent être confondues avec une BLSE. L'action de la KPC-1 se fait en association avec la réduction de l'expression des porines Omp K35 et Omp K37. Les enzymes de type KPC touchent toutes les carbapénèmes (**Sekhri-Arafa, 2011**).

Discussion

Plusieurs études ont rapportés l'efficacité de cette molécule sur les souches d'Entérobactéries productrices de BLSE : une sensibilité de 100 % a été rapportée par Goossens et Grabein en 2005.

Le nombre des souches *E.coli* BLSE isolées durant notre étude est estimé à 13 souches (38%) ce nombre est très proche de ce qui a été trouvé par Ghezouani et al en Tunisie (40%).

En ce qui concerne les souches *K.pneumoniae* 50% des souches isolées dans notre étude sont des BLSE, ce taux est énorme comparativement à celui rapporté par Ghezouani et al (5%) (**Ghezouani et al., 2014**).

Pour les *Acintebacter spp* la colistine reste un antibiotique de choix pour le traitement des infections à *Acinetobacter spp* (**Gounden et al., 2009**).

Les aminosides forment une classe d'antibiotiques qui conserve une place incontournable au sein de l'arsenal antibactérien hospitalier (**Nguyena et Lamberta, 2012**). Tous les aminosides possèdent des groupements aminés et des groupements hydroxyles nécessaires à leur activité et ces groupements peuvent être la cible de trois classes d'enzymes :

- Les acétyltransférases ou AAC catalysent l'acétylation des groupements aminés.
- Les nucléotidyltransférases ou O-adényl (ANT ou AAD) agissent par adénylation des groupements hydroxyles.
- Les phosphotransférases ou APH transfèrent un groupement phosphate sur les groupements hydroxyles (**Sekhri-Arafa, 2011**).

Pour les quinolones, ces molécules obtenues par synthèse chimique et qui dérivent d'acides carboxyliques hétérocycliques diversement substitués dont le chef de file, l'acide nalidixique, a été décrit en 1962 par Leshner et al sont des molécules couramment prescrites aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu extra hospitalier générant la sélection des souches résistantes avec le risque de transmission des gènes de résistance (**Courvalin et al., 2007 ; Touati, 2013**).

Conclusion

Conclusion

Une légère infection, même passée inaperçue, peut dégénérer en une réaction bien plus grave. Les germes se multiplient et se propagent dans tout l'organisme, c'est la septicémie. Cette infection sanguine peut mener au pire, le choc septique.

L'hémoculture reste aujourd'hui le Gold standard dans le diagnostic de routine des septicémies. Cependant cette technique montre des limites. Le délai d'obtention des résultats reste parfois trop tardif dans un contexte où une antibiothérapie précoce et adaptée influence le pronostic.

Le diagnostic étiologique de cette infection nous a permis d'identifier les principaux germes en cause : les Gram positif dont les *Staphylococcus aureus* et Staphylocoque à coagulase négatif sont majoritaires, et les Gram négatif sont représentés principalement par les Entérobactéries.

Pour mieux lutter contre ces germes, il est impératif de déterminer et de connaître leurs profils de sensibilité vis-à-vis des agents anti-infectieux. Ainsi, l'analyse des données pour la sensibilité des germes aux antibiotiques a permis de dégager certains nombre de profils.

Dans notre étude les Entérobactéries isolées présentent une résistance élevée à l'amoxiciline et une sensibilité assez élevée vis-à-vis la colistine et l'imipenème ; pour ce qui concerne les Staphylocoques sont totalement sensibles à la pristinamycine qui est l'antibiotique de choix.

L'actualisation des données locales sur le profil épidémiologique des germes et leur sensibilité joue un rôle important dans la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques et dans la détermination d'une stratégie de contrôle du développement des bactéries. La surveillance et la maîtrise de la diffusion des souches multirésistantes épidémiques semblent urgentes, il en est de même de la pression générée par des prescriptions d'antibiotiques non justifiées.

La prévention des septicémies pourrait ainsi permettre un gain économique substantiel pour les établissements de santé. On entrevoit à travers cela un argument supplémentaire pour amener les établissements de santé à adhérer à la surveillance des septicémies et plus globalement des infections nosocomiales dans leur ensemble.

Perspectives

Perspectives

La réorganisation des hôpitaux, du point de vue gestion des risques, la mise en place d'un système de contrôle de la bonne exécution des actes médicaux et paramédicaux ainsi que la création d'un comité nationale de surveillance des infections nosocomiales devraient faire diminuer les infections hospitalières notamment les septicémies.

Les méthodes biomoléculaires vont permettre une identification automatisée, rapide et fiable, ainsi qu'un test de résistance limité en quelques heures seulement à partir du prélèvement sanguin. D'autres examens sont encore nécessaires afin d'évaluer la sensibilité et surtout la spécificité des résultats positifs par rapport à l'hémoculture standard. Les premières études donnent néanmoins un avant-goût des possibilités que ces nouvelles technologies offriront: une identification d'une candidémie dans les 5 heures suivant le prélèvement sanguin, contre plus de 5 jours avec les méthodes traditionnelles. En raison des coûts élevés auxquels il faut s'attendre avec ces technologies, une pose de l'indication plus précise et une prévention des contaminations sont incontournables.

Références

bibliographiques

Références bibliographiques

Abid F, Boutefnouchet N, Dekhil M, Bouzerna N. (2007). *Klebsiella pneumoniae* productrices de β -lactamases a spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba, Algérie. *Scientific study and research*. 8 (2).

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.

Alfandari F, Cabareth P, Nguyenc D, Descampsd A, Vachée C. Cattoenf, Van Grunderbeeck N.(2016). Evaluating the management of 493 patients presenting with bacteremia in 23 northern French hospitals. *Médecine et maladies infectieuses*. 30.

Allassane H. (2001). Sensibilité et évolution de la résistance des *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques à l'hôpital national de Niamey. Thèse de doctorat en pharmacie. Bamako, Mali.

Baudat V, Chuard C, Regamey C. (2005). Revue des hémocultures positives sur deux ans à l'hôpital cantonal de Fribourg. *Med Suisse*, 36.

Baudat V. (2002). Hémocultures positives à l'Hôpital Cantonal de Fribourg, 1997-1998 : signification clinique, microbiologie, épidémiologie, traitement et pronostic. Thèse de doctorat en médecine. université de Genève, Suisse.p.9-11-16-19.

Beddak F. (2007). Analyses médicales aux services du CHU de Sidi bel Abbas et à la polyclinique de Sidi Djillali. Université Djillali liabés, Sidi bel Abbas, 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.

Ben jema Z, Mahjoubi,Y, Ben Haj H'mida F, Hammami N, BenAyed M, Hammami A.(2004). Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax (1993–1998).*Pathologie Biologie*, 52 : p. 82–88.

Benabella I. (2013). Etude de l'écologie bactérienne et infections nosocomiales en réanimation. Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Algérie, p.13-77-94.

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.

Bentchouala Ch. (2009). Les mécanismes de résistance aux antibiotiques des Salmonelles mineures. Thèse de doctorat en médecine. Université des frères Mentouri Constantine.p.122.

Berrezzouk M. (2008). Hémoculture : profil bactériologique de sensibilité aux antibiotiques à propos de 539 prélèvements collectés au laboratoire de l'hôpital Cheikh Zaied à Rabat. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Mohamed V, Maroc, p.78.

Berthelot P, Grattard F, Mallaval F-O, Ros A, Lucht F, Pozzetto B. (2005). Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie*. 53: p.341-348.

Bertrand X, Costa Y, Pina P. (2005), Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998–2003. *Médecine et Maladies Infectieuses*. (35) 6 : P.329–334.

Bonnet R. (2007). B-lactamines et entérobactéries. AntibioGramme Courvelin P. 2^{ème} édition.p.141-162.

Bougattoucha W, Boudelaa Y. (2010). Examen cyto bactériologique des urines. Laboratin diplôme d'état. Ecole de formation paramédicale de Skikda, Algérie, p. 30.

Boukhatem L. (2013). Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen. Mémoire de master en biologie. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, Algérie, p.20-23-26-31.

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

Boscher C. (2014). Epidémie à *Acinetobacter baumannii* multirésistant dans un service de réanimation polyvalente : évolution par cas-témoins de l'impact de l'antibiothérapie.mémoire du diplôme d'études spécialisées de pharmacie. Université de Lorraine, France. p.3.

Bricha S, Ounine S, Oulkheir N, EL Halou E, Attarassi B.(2009). Facteurs de virulence et épidémiologie lies au *Pseudomonas aeruginosa*. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, (2) 7 : p.14.

Brissou P, Chamouilli J-M, Gaillard T, Muzellec Y. (2004). Infections à pneumocoque. **In :** Encyclopédie Médico-Chirurgicale. 4-260-B-10.

Ciyen M. (2008). La ration kinoise et les maladies non transmissibles. Mémoire de fin d'étude en santé publique. CIDEP université ouverte. Kinshasa, Congo.

Courvalin P, Leclercq R, Bingen E. (2006). AntibioGramme. 2^{ème} édition. ESKA. Paris.p.26-91-100-117-144-267-276-332.

Courvalin P. (2007). Interpretative reading of antimicrobial susceptibility. *Antibiogramme*. 2^{ème} édition.p.35-109.

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

Delarras C. (2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire, recherche de bactéries et de levures-moisissures*. Edition Lavoisier. Paris. p.652.

Dembele NA. (2008). Etude des septicémies au cours du sida en milieu hospitalier de Bamako. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bamako. Mali.

Diko O.A. (2013). Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline au CHU du point G de 2007—2009. Thèse de doctorat en pharmacie. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (usttb), Mali, p.13- 16-17-18-19-21.

Diop R. (2004). Sepsis, sepsis sévère et choc septique. Thèse de doctorat en médecine. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, p.5-9-10-12-13-14-38.

Dubreuil L, Neut C. (2011). *Accréditation n'oubliez pas les anaérobies ces inconnus maltraités*. Université de Lille, France.

El Haddad L. (2010). *CARACTERISATION DES PHAGES DE Staphylococcus aureus*. Mémoire pour l'obtention du grade de Maîtrise en Sciences. Université Laval, Québec, Canada. P. 1- 2.

Elixhauser A, Friedman B, Stranges E. (2011). *Septicemia in U.S. Hospitals, 2009. Healthcare cost and utilization project*.

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.

Elouennass M, Sahnoun I, Zrara A, Bajjou T, Elhamzaoui S. (2008). Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002–2005). *Médecine et maladies infectieuses*, 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. 62–69

Eveillard M. (2007). Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat en biologie cellulaire. Université D'Angers. P.17-18.

Faye A, Diallo AB, Camara M, Fall MY, Diop M, Cissokho P et al. (2005). Evaluation du coût de l'hémoculture et des liquides biologiques par le BACTEC 9120. In : 10^{èmes} rencontres africaines de biologie technique. Brazzaville.

Ferrant Y. (2013). Carte VITEK 2 ANC (bio Mérioux) : Evaluation de ses performances et comparaison à d'autres systèmes d'identification de bactéries anaérobies et de corynebactéries au laboratoire de microbiologie du C.H.U. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Poitiers, p.10-29.

Fortin F. (2013). Surveillance des bactériémies nosocomiales panhospitalières 1er avril 2011-31 mars 2012. Institut national de santé publique du QUÉBEC.

https://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/1625_SurvBacteNosoPanhospi_Avril2011-Mars2012.pdf

Gounden R, Bamford C, Zyl-Smit R, Cohen K, Maartens G. (2009). Safety and effectiveness of colistin compared with tobramycin for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *BMC Infectious Diseases*. 9 (26):1-6.

Habi S. (2009). Etude de la Métallo-résistance et de l'Halo-tolérance des Entérobactéries Isolées des Eaux de Surface de la région de Sétif. Thèse de doctorat en sciences de la nature et de la vie. Université "Ferhat ABBAS" – Sétif, Algérie.p.8.

Houidi M-A. (2009). Qualité du prélèvement des hémocultures. Mémoire de fin d'étude. Institut supérieur des sciences infirmière de Sfax, Tunisie.

Janoir C. (2015). Virulence factors of *Clostridium difficile* and their role during infection. *Journal Elsevier*, 1-12.

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

www.cclinouest.com/PDF/Surveillance/Bacteriemies/.../r_bacteriemie_2010.pdf

Nguyena J, Lambert T.(2012). Interprétation phénotypique de l'antibiogramme vis-à-vis des aminosides, *Revue Francophone des Laboratoires*. Volume 2012 (445) : P. 75–77.

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

Kipnisa E, Gueryb B, P. (2010). Réévaluation de la colistine. *Antibiotiques*, (12) 4, p. 205–227.

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.

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.20-9-95-96-97-99-103.

Latour J.F. (2004). Sepsis sévère et choc septique : données actuelles Place de la protéine C activée. *Évaluation sur le médicament*, 15 (3) : p.12.

Lazoul KH, Rabhi I. (2014). Etudes des mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques dans la région de Touggourt. Mémoire de master académique. Université kasdi merbah, Ouargla, Algérie.p.18.

Lehot J, Ricaud X. (2012). Maladies infectieuses dermatologie. 2^{ème} édition. Edition Prodel.France.p.97.

Liazidi A. (2012). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de magister en biologie. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, Algérie, p.28-30.

Lortholary O, Duvivier C. (2013). Processus inflammatoires et infectieux. Elsevier Masson.p.110-111.

Lozniweski A, Rabaud C. (2010).résistance bactérienne aux antibiotiques. CCLIN Sud-Est. Nancy.

Maiga I, Sidibé M, Rochero A. (2004).les bactéries isolées par hémoculture à l'hôpital de point « G » Mali. *Mali medical*, 19 (1).

Makki A. (2007). Septicémie et choc septique. Université Libanaise - Maitrise en sciences de Laboratoire. Liban.

Mallat a, Grohs b, Levy J-L. Mainardi A. (2004). Retrospective study of bacteremia diagnosed in an emergency department: frequency, susceptibility of microorganisms, and impact on therapeutic management. *Médecine et maladies infectieuses*, (34) 7 : p. 310-315.

Malhotra-Kumar S, Lammens C, Martel A, Mallentjer C, Chapelle S, Verhoeven J et al., (2004).Oropharyngeal carriage of macrolide resistant viridans group streptococci. *JAntimicrob.Chemother.* 53, p.271-276. *Med Sciences*, Paris, 16.p.89-102.

Maleb A, Ghazouani M, Chadli M, Elouennass M.(2014).Bacteriological aspects of catheter cultures: study over 24 months, *La tunisie Medicale* - 2014 .92 (08) : p.547-550.

Mansour W., Bouallegue O., Dahmen S. et Boujaafar N. (2008) .Caractérisation des mécanismes enzymatiques de résistance aux b-lactamines chez des souches de *Acinetobacte baumannii* isolées à l'hôpital universitaire Sahloul, Sousse en Tunisie (2005). *Pathologie Biologie.* 56 :116–120.

Marieb E. (2008). Biologie humaine, principe d'anatomie et de physiologie. 8^{ème} édition. Nouveaux Horizons. Paris. p.88.

Martin C. (2011). Bacilles à Gram négatif non fermentaires. **In** : Denis F, Poly M-C, Martin C, Bingén E, Quentin R. Microbiologie médicale.2^{ème} édition. Elsevier Masson. P.107-115-146-368-370-413-417.

Martin L, Tortora G, Fanke B-R, Case C-L. (2012). Introduction à la microbiologie. 2^{ème} édition. Pearson. France.p.246.

Matuszewski C. (2009). Evaluation de la carte Vitek 2 ANC pour l'identification des bactéries anaérobies et des corynébactéries d'intérêt médical. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, p.18.

Medboua ch. (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 Université Abderrahmane MIRA, Bejaïa, p.4-32-38.

Meradi L, Djahoudi A, Abdi A, Bouchakour J-D, Claude P, Timinouni M. (2011). Résistance aux antibiotiques de type qnr, acc (6)-lb-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie. *Pathologie biologie*, 53, p.73-78.

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.

Monteil H. (2000). *Pseudomona, Burkoldaria*. In : Eyquem A, Alouf j, Montagnier L. traité de microbiologie clinique. Édition piccine Padoue, Italie. P.23-25-26.

Montravers P, Desmard M, Dufour G. (2010). Candidémies en réanimation, 52 congrès national d'anesthésie médecins. Conférences d'essentiel. Université Paris VII Denis Diderot, Paris, France.

Morot B. (2006). Les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons. Thèse de doctorat en sciences des aliments université Blaise Pascal. France. P. 13.

Nafti Y. (2008). Contribution à l'étude de la cinétique de libération d'un principe actif: oxacilline sodique encapsulé en vue de déterminer les conditions de conservation. Mémoire de master en biologie. Université Ziane Achour de Djelfa, Algérie.

Naucill Vilde JL. (2007). Bactériologie médicale. 2^{ème} édition. Edition Masson.France.p.82.

Osthoffa M, Khannaa N, Goldenbergerb D, Wüscher V, Flückigerc U. (2016).Hémocultures positives: interprétation et prise en charge initiale. *Forum médical suisse*. 16 (3) p.59–67.

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

Petitpierre 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

Poirel L, Nordman P. (2006). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *PubMed*. 12(9): p.826-36.

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.

Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood, Woolverton. (2010). la pathogénicité des microorganismes. **In:** Microbiologie. 3^{ème} édition. Deboek. Paris. p.631-822.

Ramoul A. (2014). Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses. Thèse de doctorat en biologie. Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie, p.35-40.

Réseau de surveillance de C.H.U. Spectre d'activité des principales familles d'antibiotiques au centre hospitalo-universitaire de Constantine. Basé sur les pourcentages de résistance des bactéries aux antibiotiques –données du laboratoire de microbiologie – (de 2014)-selon les critères d'interprétation du CLSI 2011.

Rosales P. (2016). Septicémie: ce que vous devez savoir.

<https://www.elblogdelasalud.info/fr/sepsis-lo-que-usted-necesita-saber/12663>

Schaffler A, Menche N. (2004). Anatomie, Physiologie, Biologie. 2^{ème} édition. Maloine. Paris. 240-241.

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.

Sedrati A. (2014). Etude de l'antibiorésistance des souches bactériennes à l'origine des infections infantiles à l'EPH d'Ouargla. Mémoire de master académique. Université Kasdi merbah-Ouargla, Algérie. P.28.

Singleton P. (2005). Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6^{ème} édition. Edition Dunod. P.473.

Struelens M J, Denis O. (2000). Staphylococcus aureus résistant à la méticilline : vers une réponse coordonnée à un défi persistant .*BULLETIN EUROPÉEN SUR LES MALADIES TRANSMISSIBLES*. (5) 3.

Smaouia S, Abdelhedia K, Marouanea C, Kammouna F, Messadi-Akrout S. (2015). Résistance aux antibiotiques des entérobactéries responsables d'infections urinaires communautaires à Sfax (Tunisie). *Médecine et maladies infectieuses* (30).

Thomin J. (2015). Comparaison de quatre protocoles d'identification bactérienne par spectrométrie de masse directement à partir d'hémocultures positives. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Nantes, France, p 15-16.

Touati M. (2013). Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba. thèse de doctorat en microbiologie appliquée. Université Annaba-Mokhtar Badji, Algérie, p.30.

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.

Umeh O, Sanu O, Utom I L, Nwaokorie F O. (2016). Prévalence et intensité de la bactériémie suite aux interventions orthodontiques. *International Orthodontics*, 14 : p.80-94.

Walidbgt. (2010). Examen cyto bactériologique des urines. Etude du protocole. Ecole paramédicale de Skikda, Algérie.

Yadi S-N. (2012). Epidémiologie des infections nosocomiales dues aux bactéries à Gram négatifs à l'unité de néonatalogie de l'EHS de Tlemcen du 14 mai au 22 juin 2012. mémoire de master en biologie moléculaire et cellulaire. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie, p.15-16-17-21.

Références électroniques

<http://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/sang/89933> consulté le 6/4/2016

<http://microcsb.net/IMG/pdf/DISCUSSION-2.pdf> consulté le 5/5/2016

Abstract

Septicemia are serious conditions, responsible for significant morbidity and mortality worldwide. These conditions constitute a diagnostic and therapeutic emergency.

The objectives of this study were Isolation and identification of causative organisms and to determine their resistance profile.

This is a retrospective study of two years and three months at the two hospitals centers University Hospital of Constantine and Military Hospital of Constantine. Data collection took place from archived blood culture records, in addition to an internship of three months.

The results of 7477 are among these blood cultures, 24% were considered positive indicating a septicemic condition, 3% were suspicious of dirt and 73% were negative. The male is the most exposed to septicemia. Isolated from blood cultures of the different services that the infectious service is great provider followed by the center burned.

In our study Gram-positive bacteria are more isolated. The four predominant groups were, in descending order, Staphylococci, Enterobacteria, Non-fermentative rods and Streptococcus with the respective proportions of 46%, 25%, 16% and 7%.

The eleven ESBL-producing strains are *Klebsiella pneumoniae* by 6 isolates and *E. coli* by 5 isolates. Of the 15 isolated strains of *S.aureus* 8 are considered MRSA.

Refreshing local data on the epidemiology of germs and sensitivity plays an important role in rationalizing the use of antibiotics and the determination of a bacteria development control strategy.

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

Keywords : Septicemia, blood culture , antibiotic resistance, Staphylococcus, Enterobacteria.

المخلص

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

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

هذه دراسة بأثر رجعي لمدة سنتين وثلاثة أشهر في مركزين استشفائيين مركز المستشفى الجامعي قسنطينة و المستشفى الجامعي الجهوي العسكري

النتائج المتحصل عليها عزل 7477 زراعة للدم من بينها 24% إيجابي يدل على حالة إنتان الدم، و 3% كانت ملوثة 73% سلبية. الذكور هم الأكثر عرضة للتسمم الدم. تم عزل اغلب العينيات من مصلحة الامراض المعدية متبوعة بمركز الحروق.

في دراستنا البكتيريا إيجابية Gram هي أكثر عزلة. من أبرز المجموعات المهيمنة أربعة، في ترتيب تنازلي، المكورات العنقودية، المعوية، العصوية غير المخمرة والعقدية مع نسب كل منها كالآتي 46%، 25%، 16% و 7%.

السلالات المنتجة للنسب المقاومة ل- β لكتمين بطيف ممد أحد عشر *Klebsiella pneumoniae* بنسبة 6 سلالة و *E. coli* المعزولة بنسبة 5 سلالة من بين 15 *S.aureus* معزولة 8 سلالات تعتبر من ذوات المقاومة المتعددة SARM.

تحديث البيانات المحلية في وبائيات الجراثيم والحساسية للمضادات الحيوية تلعب دورا هاما في ترشيد استخدامها وتحديد استراتيجية السيطرة على نمو البكتيريا.

زراعة الدم لا يزال التشخيص الروتيني للتسمم الدم. وبرغم النتائج المحدودة للتقنية. التكنولوجيات الجديدة مثل الطرق الجزيئية البيولوجية تعد بثورة في تشخيص حالات تسمم الدم في السنوات المقبلة.

الكلمات المفتاحية: تسمم الدم، زراعة الدم، مقاومة المضادات الحيوية، المكورات العنقودية، المكورات المعوية.

Résumé

Les septicémies 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 étaient l'isolement et l'identification des germes en cause et la détermination de leurs profils de résistance.

Il s'agit d'une étude rétrospective de deux ans (2014-2015) et trois mois (du 1^{ère} janvier au 31 Mars) au niveau des deux centres hospitaliers CHUC, HMC. La collecte des données s'est faite à partir des registres archivés d'hémoculture, en plus d'un stage pratique de trois mois.

Sur un total de 7477 hémocultures réalisées, 24% ont été considérées positives témoignant d'un état septicémique, 3 % étaient suspectes de souillures et 73 % étaient négatives. Le sexe masculin est le plus exposé à la septicémie. Les hémocultures isolées proviennent des différents services où le service d'infectieux est le grand provoyeur suivis par le centre des brûlés.

Parmi les germes isolés quatre groupes prédominants, qui sont par ordre décroissant : Staphylocoques, Entérobactéries, Bacilles non fermentants et Streptocoques avec les proportions respectives de 46%, 25%, 16% et 7%, en plus dans notre étude les bactéries à Gram positif sont les plus isolées.

Les onze souches productrices de BLSE sont *Klebsiella pneumoniae* par 6 isolats et *E.coli* par 5 isolats. Parmi les 15 souches de *S.aureus* isolées 8 sont considérées comme des SARM.

L'actualisation des données locales sur le profil épidémiologique des germes et leur sensibilité joue un rôle important dans la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques et dans la détermination d'une stratégie de contrôle du développement des bactéries.

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

Les Mots clés : La septicémie, l'hémoculture, la résistance aux antibiotiques, les Staphylocoques, les Entérobactéries.

Annexes

Annexe 1 : Bact-Alert 3D :

Le BacT/ALERT 3D est un appareil de détection des hémocultures positives.

Il est composé d'une chambre d'incubation, d'un moniteur, d'un clavier, d'une imprimante, d'un lecteur de code-barres, d'un onduleur et d'une souris. La chambre d'incubation est subdivisée en deux tiroirs ayant chacun une capacité de 60 flacons de culture.



Procédure de chargement des flacons d'hémocultures.

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

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


L'instrument indique alors les emplacements disponibles :

- ✓ Un voyant vert s'allume sur la face avant du ou des tiroir(s) où des positions sont disponibles.
- ✓ Ouvrir le tiroir dans lequel on souhaite charger le flacon


Un voyant orange, témoin d'ouverture, sur la face avant du tiroir choisi s'allume.

- ✓ Introduire le flacon dans une cellule disponible (diode verte allumée).
- ✓ L'écran de chargement se « rafraîchit », indiquant que la position choisie a bien associé le N° de code à barres du flacon introduit.

Annexes

- ✓ La diode verte correspondante à la position chargée clignote.
- ✓ Revenir à l'écran principal en appuyant sur la touche 

Procédure de déchargement des flacons d'hémoculture négatifs.


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

Procédure de déchargement des flacons d'hémoculture positifs.

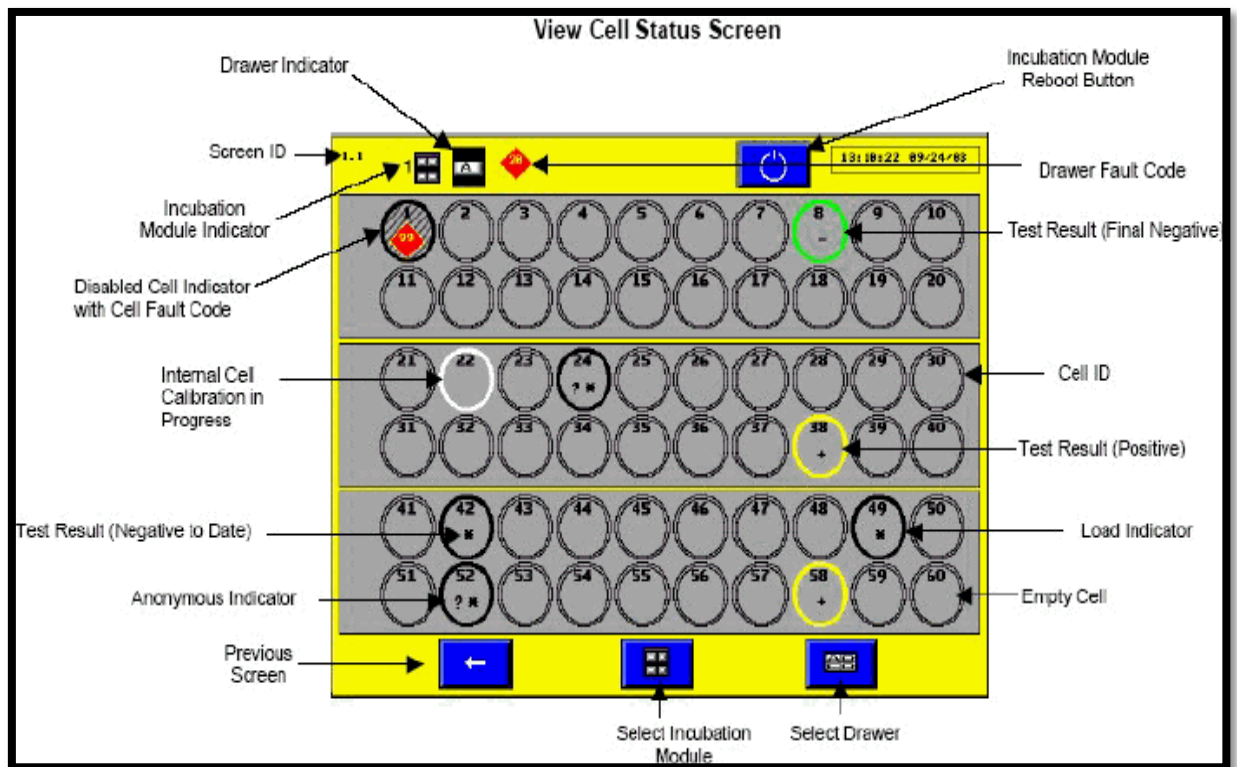
Dès lors qu'un flacon prend l'état positif :

- ✓ Le fond d'écran BacT/ALERT s'allume en jaune
- ✓ Si paramétrée, une alarme sonore retentit.

Cliquer, depuis l'écran principal (fond jaune), sur le bouton représentant un flacon positif, allumé en bleu.

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

Annexes



Annexes

Annexe 2 : Milieux de cultures.

Gélose au sang frais

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 biliaires.....	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

Gélose Chapman

Peptone.....	11g
Extrait de viande.....	1g
NaCl.....	75g

Annexes

Mannitol.....	10g
Rouge de phénol.....	0,025g
Agar.....	15g

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-Mobilité-Nitrate

Peptone tryptique de caséine.....	10g
Mannitol	7.5g
Rouge de phénol à 1%.....	4ml

Annexes

Nitrate de Potassium.....	1g
Agar	3.5g

pH = 7.6

Milieu au citrate de Simmons

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

pH = 7

Urée-indole

L. 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 = 7.5










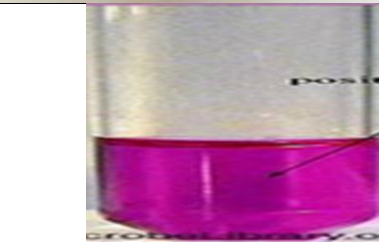


Annexes

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 sèche 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 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.

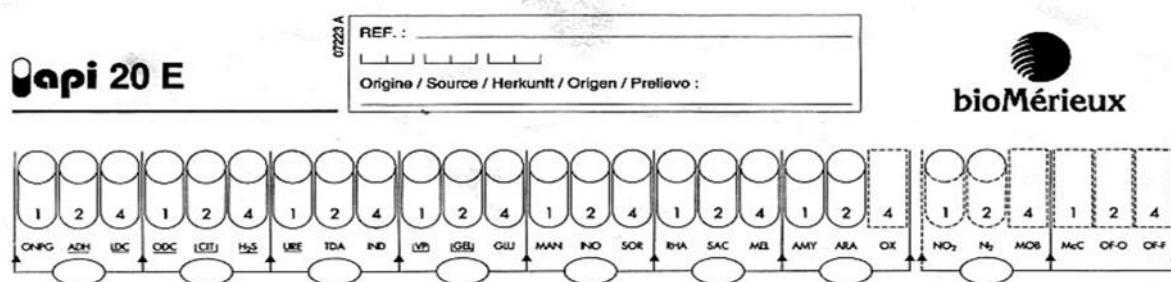
Annexes

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		
Eau peptonée exempte d'indole		
Urée- indole		
Clark et Lubs		

Annexes

Annexe 5 : La fiche des résultats standards de la galerie API20E.

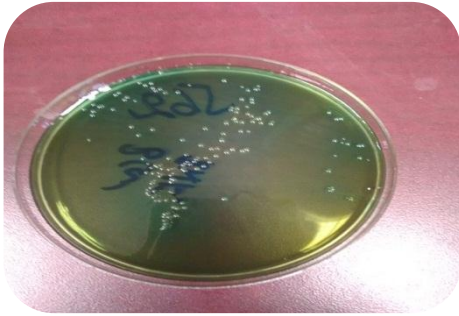


Annexe 6 : le tableau de la lecture de la galerie biochimique API20E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché :	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Beta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de Phénol	Lecture directe		
[CIT]	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S		Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif chlorure de fer III		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif Kovacs	 	
[LVP]	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de VP1 et VP2 Attendre 10 minutes		
[GEL]	Gélatine	gélatinase		Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ ⁻ /N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de NIT1 et NIT2 et zinc éventuellement		

Annexes

Annexe 7 : Aspect des colonies de certaines souches isolées sur les différents milieux gélosés.



Acinetobacter baumannii
lactose- sur Gélose
Hecktoen



Acinetobacter baumannii
lactose+ sur
Gélose Hecktoen



Proteus mirabilis sur Gélose
Hecktoen



Klebsiella pneumoniae sur
Gélose
Hecktoen



Staphylococcus aureus sur
milieu Chapman



Staphylocoque blanc sur
Gélose au chocolat

Annexes

Annexe 8 : 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
Pefloxacin	13-15
Ciprofloxacine	16-20

**PROFIL ÉPIDÉMIOLOGIQUE DES SEPTICÉMIES NOSOCOMIALES AU CHUC
ET L'HMC 2014-2016**

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

Les septicémies 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 étaient l'isolement et l'identification des germes en cause et la détermination de leurs profils de résistance.

Il s'agit d'une étude rétrospective de deux ans (2014-2015) et trois mois (du 1^{ère} janvier au 31 Mars) au niveau des deux centres hospitaliers CHUC, HMC. La collecte des données s'est faite à partir des registres archivés d'hémoculture, en plus d'un stage pratique de trois mois.

Sur un total de 7477 hémocultures réalisées, 24% ont été considérées positives témoignant d'un état septicémique, 3 % étaient suspectes de souillures et 73 % étaient négatives. Le sexe masculin est le plus exposé à la septicémie. Les hémocultures isolées proviennent des différents services où le service d'infectieux est le grand provoyeur suivis par le centre des brûlés.

Parmi les germes isolés quatre groupes prédominants, qui sont par ordre décroissant : Staphylocoques, Entérobactéries, Bacilles non fermentants et Streptocoques avec les proportions respectives de 46%, 25%, 16% et 7%, en plus dans notre étude les bactéries à Gram positif sont les plus isolées.

Les onze souches productrices de BLSE sont *Klebsiella pneumoniae* par 6 isolats et *E.coli* par 5 isolats. Parmi les 15 souches de *S.aureus* isolées 8 sont considérées comme des SARM.

L'actualisation des données locales sur le profil épidémiologique des germes et leur sensibilité joue un rôle important dans la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques et dans la détermination d'une stratégie de contrôle du développement des bactéries.

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

Mots clés : Septicémie, Hémoculture, Résistance aux antibiotiques, Entérobactéries, Staphylocoques.

Laboratoire de recherche : Le laboratoire de Microbiologie du C.H.U BENBADIS de Constantine et le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital militaire régional universitaire (H.M.C) de Constantine Abdelali BENBAATOUCHE.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr KITOUNI M. (Professeur - UFM Constantine),

Rapporteur : M^{me} SEKHRI-ARAFA N. (Maître de conférence - UFM Constantine),

Examineur : M^{lle} BOUCHLOUKH W. (Maître Assistante « A » - UFM Constantine).

Date de soutenance : 26/06/2016