

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : microbiologie appliquée

Présenté par :

AZIZI Hamida & ASKEUR Salima

Thème

Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des isolats d'hémoculture à l'Etablissement Public Hospitalier de Boufarik.

Soutenu le : 21/ 09 / 2019 à 9h

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M^r KADRI Nabil</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M^{me} TIGHIDET Salima</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>M^{me} BENBARA Tassadit</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2018/2019



Remerciements



Remerciements

Avant tout nous remercions **Allah** le tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté, la patience pour faire ce travail. Gloire à Allah.

Ce travail a été réalisé au laboratoire d'analyse médicale de l'établissement public hospitalier de BOUFARIK, sous la direction scientifique de **M^{me} LASSAS K.**, médecin microbiologiste, Exprimons notre gratitude et notre grand respect de nous avoir accueilli dans l'équipe.

Nous tenons à remercier

M^{me} HAMICHE, médecin assistante en maladies infectieuses de l'établissement public de Boufarik la wilaya de Blida.

M^{me} ASKEUR, médecin assistante en histologie, embryologie et génétique clinique à Parnet –Alger.

M^r SAYAH, médecin microbiologiste d'analyse médicale de laboratoire de Bouira.

Et tous les laborantins qui nous ont fait partager leurs expériences pratiques et ont répondu gracieusement à toutes nos questions.

Nous exprimons toute notre gratitude et nos vifs remerciements Aux membres de jury

A notre encadreur **M^{me} TIGHIDET S.** qui nous a honorés en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils et sa disponibilité. Merci d'avoir su nous guider avec patience.

M^r KADRI N. pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury

M^{me} BENBARA T. pour avoir bien voulu examiner notre travail et rehausser sa qualité à travers ces remarques critiques et judicieuses.

Notre gratitude va également aux enseignants du département de biologie qui ont contribué à notre formation.

Nous tenons à remercier sincèrement toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous



Dédicaces



Au nom de Dieu le Tout-Puissant

*J'adresse ma plus profonde gratitude et tout mon amour
À mon cher père (homme de principe –tolérant – rigoureux et généreux)
À ma chère mère (ta générosité, ta simplicité et ton dévouement ont fait de toi
une mère remarquable)*

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se
doit vous avez su me faire confiance et me soutenir en toutes
circonstances au cours de toutes mes années d'études, c'est avec émotion que
je vous exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond
respect.*

Fière d'être votre fille

Mes dédicaces sont adressées

*À mes chers frères Kamel, Arab, Mouhend et à mes adorables sœurs Yassmina,
Sonia, Nouara, Naima et Samia ainsi que leurs maris*

A mes cousines Nacira, Samira et Amina

A mes neveux et nièces

*A tous mes copines : Taous, Sylia, Sara, samia et tout ceux que je n'ai
pas cité sans exception, qui m'ont aidé et supporté mes mauvaises et
rares bonnes humeurs, et à celle avec qui j'ai partagé ce travail mon cher
binôme Hamida et tous les membres de sa famille
A toute la promotion de Microbiologie appliquée
A tous ceux qui me sont chers et qui m'aiment*

*Je vous remercie pour tout le soutien moral et affectueux que vous
m'avez prouvé.*

Longue vie à vous tous.

Salima 

Je dédie ce travail à..... 

Ma mère sans qui rien n'aurait été possible ; à celle qui m'a accompagné et a toujours cru en moi. À celle qui verra toujours en moi la petite fille, à celle qui pardonne tout, oublie tout et aime plus que tout !

Mon père, qui a su me transmettre le goût de l'effort, qui m'a toujours orienté et qui fait tout possible pour m'aider. ♥

Puisse dieu tout puissant vous garder et vous procurer santé et bonheur.

Mon grand-père Salah que j'aime beaucoup. ♥

Mes frères Walid et Abd Raouf et ma sœur Romaina

La famille LARDEJAM, Abdelkader et sa femme Hassiba

Mes chers amis(e)s Houda, Kenza et Abd elghani

À toute la promotion de Microbiologie appliquée

À tous ceux que je n'ai pas cités mais qui n'ont cessé de m'encourager.

Tous ceux et celles qui ont collaboré de près ou de loin à l'élaboration de ce travail

Hamida 

SOMMAIRE

Liste d'abréviation	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01
Chapitre I : Généralités sur le sepsis	02
1. Historique	02
2. Rappels cliniques.....	02
3. Définition du syndrome septique	02
4. Les principales bactéries incriminées dans le sepsis	03
5. Physiopathologie du sepsis	07
6. Symptômes et complications du Sepsis	07
7. Facteurs de risque	07
8. Diagnostic du sepsis	08
9. Traitement du sepsis.....	10
Chapitre II : La résistance aux antibiotiques	11
1. Généralités sur les antibiotiques	11
2. Résistance aux antibiotiques	16
Matériel et méthodes	20
I. Lieu de stage	20
II. Prélèvement	21
III. Examen au laboratoire des hémocultures	23
1. Incubation	23
2. La subculture des hémocultures (isolement)	25
3. La morphologie et le Gram des bactéries	27
4. Identification biochimique de tous les germes isolés des hémocultures	28
5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	33
Résultats et discussion	40
I. La place de l'hémoculture parmi les prélèvements bactériologiques.....	40
II. Résultats des hémocultures	42
1. Interprétation des résultats	42

2. Répartition des résultats des hémocultures	43
3. Le taux de faux positifs	45
4. Répartition des hémocultures positives par service.....	48
5. Répartition des hémocultures positives par sexe	49
6. Répartition des hémocultures positives par âge	50
7. Les différentes portes d'entrée suspectées des septicémies acquises	51
8. Répartition des souches selon le Gram et l'espèce	52
III. Sensibilité des souches aux antibiotiques.....	54
1. Cas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	54
2. Cas d' <i>Escherichia coli</i>	55
3. Cas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
4. Cas de <i>Staphylococcus aureus</i>	59
5. Cas de <i>Staphylococcus non aureus</i> (SCN)	61
6. Autres antibiogrammes	62
Conclusion.....	66

Bibliographie

Annexes

AC: Amoxicilline
ACCP: American College of Chest Physicians
ADH: Arginine Déshydrogénase
AK : Amikacine
AMC: Amoxicilline/acide clavulanique
AmpC: Chromosomal located céphalosporinases
AMX: Amoxicilline
ARNm: Acide ribonucléique messenger
ARNr: Acide ribonucléique ribosomique
ARNt: Acides ribonucléiques de transfert
API : Analytical profile index
BGN : Bactérie Gram Négatif
BLSE: β -lactames à spectre étendu
C3G: Céphalosporines de troisième génération
C : Chloramphénicol
CA-SFM : Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAZ : Ceftazidime
CD: Clindamycine
CHU: Centre Hospitalo-universitaire
CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
CIC : Cathéters intravasculaires centraux
CIC : Cathéters intravasculaires centraux
CIP : Ciprofloxacine
CIT : Trisodium citrate
CIVD : Coagulation Intravasculaire disséminée
CI : Colistine
CMI: Concentration minimale inhibitrice
CRP : Protéine C réactive
CTX : Céfotaxime
CZ : Céfazoline
DO: Densité Optique
DSP: Disaccharide penta peptide

E: Erythromycine

ECMO : Oxygénation par membrane extracorporelle

EDTA: Éthylènediaminetétraacétique

EPH : Etablissement Public Hospitalier

FiO₂: Fraction d'oxygène dans l'air expire

FO : Fosfomycine

FOS: Fosfomycine

FOX: Céfoxitine

GEL : Gélatine

GEN : Gentamicine

GSC : Gélose au sang cuit

HACEK: Haemophilus, Actinobacillus , Cardiobacterium , Eikenella, Kingella

HIV: Virus de l'immunodéficience humaine

ID : Numéro d'identification de l'échantillon.

IPM : Imipénème

IRM : Imagerie par résonance magnétique

ISO : Infections du site opératoire

ITUAUS : Infections du tractus urinaire associées à l'usage de sonde

KP : *Klebsiella pneumoniae*

LCR : Liquide Céphalo-Rachidique

LDC: Lysine Décarboxylase

LE : Lévofloxacine

McF : McFarland

Méti-R : Résistant à la Méthicilline (et à l'ensemble des β -lactamines)

MH : Mueller Hinton

MI : Médecine interne

MIF : Maladies infectieuses femmes

MIH : Maladies infectieuses hommes

MIP : Maladies infectieuses Pédiatriques

NA : Acide nalidixique

NFS : Numération Formule Sanguine

ODC: Ornithine Décarboxylase

OMS: Organisation mondiale de la santé

OXA: Oxacillinase

P : Pénicilline

PA : Pression artérielle

PACO₂ : Pression partielle artérielle en CO₂

PAV : Pneumonie acquise sous ventilation

PCR: Polymérase Chain Reaction

PCT : Procalcitonine

PI : Pipéracilline

PLP: Protéine de liaison à la pénicilline

PU : Pavillon d'urgence

RIF : Rifampicine

SCCM: Society of Critical Care Medicine (Consensus Conference Committee)

SCN: Staphylocoques à Coagulase Négative

SFM: Société Française de Microbiologie

SHV: Sulfhydryl variable

SNA: *Staphylococcus non aureus*

SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome

SPS: Polyanethol Sulfonate de Sodium

TCC: Ticarcilline + acide clavulanique

TDM : Tomodensitométrie

TE: Tétracycline

TEI : Téricoplanine

TEM: Temoniera

TOB: Tobramycine

TSI : Triple sugar iron

UFC: Unité Formant colonie

URE: Urée

VA : Vancomycine

VP : Voges-Proskauer

Figure 1: Principaux sites d'action des antibiotiques chez les bactéries	12
Figure 2: Image montrant les flacons d'hémocultures.....	22
Figure 3: Automate de détection BACT/ALERT® 3D.....	24
Figure 4: Écran principal de chargement des flacons de BACT/ALERT® 3D.....	25
Figure 5: Image montrant la galerie biochimique API 20 E (Biomerieux).....	29
Figure 6: Identification de <i>S. pneumoniae</i> par test d'optochin.....	30
Figure 7: Identification de <i>P. aeruginosa</i> par test d'oxydase.....	31
Figure 8: Carte d'agglutination du Strepto-test.....	32
Figure 9: Carte d'agglutination test coagulase (Staphorex).....	33
Figure 10: La place de l'hémoculture parmi les prélèvements bactériologiques	40
Figure 11: Répartition des résultats des hémocultures.....	43
Figure 12: Répartition détaillée des résultats des hémocultures	45
Figure 13: Répartition des hémocultures positives par service.....	48
Figure 14 : Répartition des hémocultures positives par sexe	49
Figure 15 : Répartition des souches par âge.....	50
Figure 16 : Répartition des hémocultures positives selon le Gram.....	52
Figure 17 : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches <i>Klebsiella pneumoniae</i>	55
Figure 18: Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches <i>d'Escherichia coli</i>	56
Figure 19 : Image de synergie positive <i>d'Escherichia coli</i> (<i>productrice de BLSE</i>).....	57
Figure 20 : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>P. aeruginosa</i>	58
Figure 21: Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches <i>Staphylococcus aureus</i>	60
Figure 22: Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches <i>Staphylococcus non aureus</i> ..	61
Figure 23: Test de synergie négatif <i>d'Enterobacter aerogenes</i>	64
Figure 24: Test de confirmation positif <i>d'Enterobacter aérogènes</i>	64

Tableau I : Définition des syndromes septiques selon l'ACCP/SCCM.....	3
Tableau II : Caractéristiques des Enterobacteriaceae	6
Tableau III : Antibiothérapie de 1 ^{ère} intention	10
Tableau IV : Propriétés des principaux antibiotiques inhibant le peptidoglycane.....	14
Tableau V : Propriétés des principaux antibiotiques inhibant la synthèse protéique.....	15
Tableau VI : Propriétés des principaux antibiotiques inhibant les acides nucléiques	16
Tableau VII : Les principales propriétés de la Polymyxine	16
Tableau VIII : Liste des antibiotiques testés selon les souches.....	35
Tableau IX : Valeurs critiques des CMI de <i>S. pneumoniae</i>	37
Tableau X : Répartition des différentes portes d'entrée suspectées des septicémies.....	51
Tableau XI : Répartition des différentes espèces isolées des hémocultures	53
Tableau XII : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Shigella flexneri</i> et <i>Streptococcus pneumoniae</i>	62



Introduction



Ces dernières années, Les maladies infectieuses se sont considérablement diversifiées et sont devenues de plus en plus difficiles à prévenir et à traiter. Aujourd'hui, on craint toujours les infections fréquentes de l'organisme tel que le sepsis, maladie touchant le système immunitaire. Il s'agit d'une affection grave qui est la complication d'une infection dans la majorité des cas [1].

En 2018, l'Université de Pittsburgh qui a publié une étude sur cette maladie estimait que 14 millions de personnes dans le monde survivait à une hospitalisation après un sepsis chaque année. On estime qu'il y a environ 28 millions de cas de sepsis par année, dont 8 millions de décès [2].

Devant cette difficulté, l'hémoculture représente le moyen le plus sûr pour reconnaître le germe responsable. Il s'agit d'un examen important en pathologie infectieuse qui n'est pas toujours praticable dans un bon nombre d'hôpitaux africains, en raison de la qualité du plateau technique. Ce qui oriente le clinicien vers une antibiothérapie probabiliste basée sur les données cliniques et/ou épidémiologiques, qui sont dans la plupart des cas peu fiables [3].

D'une autre part l'hémoculture en elle-même exige un délai souvent incompatible avec l'urgence de la situation [4]. Cette dernière est préoccupante en milieu hospitalier, où la pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie a induit la diffusion épidémique des souches résistantes [5].

C'est dans ce contexte que, nous nous sommes intéressés aux hémocultures pratiquées dans le laboratoire de bactériologie de l'établissement public hospitalier de Boufarik sur une période allant du 04 mars 2019 au 31 mai 2019.

Dans le but d'identifier les principaux germes en cause de ces bactériémies et d'étudier leurs sensibilité vis-à-vis des antibiotiques usuels. Pour cela, la première partie de ce document aborde des généralités sur le sepsis et la résistance aux antibiotiques. Tandis que la deuxième détaille la méthodologie utilisée dans cette étude prospective (les isolats d'hémoculture sont soumis à une identification biochimique et à un antibiogramme) et les résultats obtenus de celle-ci.

1^e PARTIE :
Synthèse bibliographique

Chapitre I :

*Généralités sur le sepsis
(septicémie)*

Le sepsis est un état infectieux généralisé grave, dû à la dissémination d'un germe pathogène dans l'organisme par l'intermédiaire du sang [6]. Il était anciennement désigné par le terme de septicémie, signifiant littéralement « infection du sang », utilisé pour la première fois en 1837 par le médecin français Pierre Adolphe Piorry [7]. Il présente certaines caractéristiques (clinique, portes d'entrée, germes), qu'il est important de bien connaître.

1. Historique

Dans le passé, les principales formes de sepsis étaient la gangrène hospitalière et la fièvre puerpérale qui affectaient les blessés et les femmes peu après l'accouchement. En 1519, Lucrèce Borgia est la femme la plus célèbre décédée de la fièvre puerpérale. Dès 1869, Victor Feltz et Léon Coze ont été les premiers à associer la présence de bactéries à la septicémie. En 1879, ces observations ont été confirmées par Louis Pasteur, qui grâce à son prestige, a eu une grande influence sur la manière de prendre des mesures pour prévenir les infections [7].

2. Rappels cliniques

Le sang est un liquide stérile. Cependant, à partir de sites ou de foyers infectieux, différents germes tels que les bactéries, les champignons peuvent être relargués dans le sang. La présence de bactéries dans le sang ou bactériémie, peut être accompagnée de manifestations cliniques d'une infection grave, notamment de frissons, de fièvre, de signes de toxicité et d'hypotension [8].

3. Définition du syndrome septique

La bactériémie est la « présence d'un germe pathogène dans le sang authentifiée par des hémocultures positives ». Le terme « sepsis » a longtemps été utilisé de façon interchangeable avec ceux de « bactériémie », « sepsis sévère », ou même « choc septique ». Cette confusion a rendu difficile de rassembler les études publiées. En 1992, le sepsis est redéfini dans le consensus d'un panel d'experts « American College of Chest Physicians » et « Society of Critical Care Medicine » (ACCP/SCCM). Il est la réponse systématique inflammatoire à l'infection [9].

Le consensus a aidé à caractériser les quatre stades : le syndrome de réponse inflammatoire systémique (SIRS), le sepsis, le sepsis sévère et le choc septique par ordre de sévérité comme le montre le tableau suivant (Tableau I).

Tableau I : Définition des syndromes septiques selon l'ACCP/SCCM [9].

	Critères de définition
Infection	Invasion par des microorganismes d'un tissu normalement stérile
Réponse systémique inflammatoire (SIRS)	Au moins deux des critères suivants: -température >38°C ou <36° C -fréquence cardiaque >90 bat /min -fréquence respiratoire >20/min ou PaCO ₂ <32mm Hg -leucocytes >12000mm ³ ou<4000mm ³
Sepsis	SIRS associé à une infection
Sepsis sévère	Sepsis associé à: -hypotension (PA systolique <90mmHG ou chute de plus de 40 mm Hg par rapport à la PA systolique habituelle) Ou une hypo perfusion d'organe tel que: Pa O ₂ /FiO ₂ < 280 acidose lactique oligurie < 0.5ml/Kg altération des fonctions supérieures
Choc septique	Sepsis sévère associé à une hypotension persistante (>1heure) malgré un remplissage vasculaire adéquat ou nécessitant administration de médicaments vaso- actifs

FiO₂ : fraction d'oxygène dans l'air expiré ; PA : pression artérielle ; PaCO₂ : pression partielle artérielle en CO₂.

4. Les principales bactéries incriminées dans le sepsis

Il convient tout d'abord de distinguer les bactériémies vraies des contaminations. Si les bactériémies vraies sont le plus souvent mono microbiennes, une hémoculture positive poly microbienne (associée à certaines espèces) oriente plutôt vers une contamination du prélèvement. *Bacillus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium*, bactéries de la flore cutaneo muqueuse, sont des contaminants dans plus de 95% des cas. Les staphylocoques à coagulase négative (85% de contaminants), les entérocoques (20% de contaminants), et les streptocoques du groupe viridans (60% de contaminants) peuvent cependant, dans un certain nombre de cas, être responsables de bactériémies vraies. La distinction vrai/ faux positif pourra se faire en répétant les hémocultures chez le malade et surtout en tenant compte de la clinique [10]. Les principales bactéries incriminées dans les bactériémies vraies sont :

4 .1. Les streptocoques

Les streptocoques sont des cocci à Gram positif différenciables des staphylocoques par l'absence de catalase [11]. Elles peuvent être classées, selon l'hémolyse qu'ils produisent sur gélose au sang, en :

a. Streptocoques Alpha hémolytiques : L'hémolyse de type α est partielle et produit une zone verdâtre autour des colonies. *S. pneumoniae* et *S. viridans* sont α -hémolytiques; on différencie à l'aide de l'optochine le *S. pneumoniae* (qui est naturellement sensible à l'optochine) des autres streptocoques α -hémolytiques [12].

b. Streptocoques Béta hémolytiques : sont divisés, selon la classification de Lancefield, qui repose sur le typage d'un antigène polysaccharidique de paroi, en 20 sérogroupes. à titre d'exemple le *Streptococcus pyogenes*, qui appartient au groupe A, responsable de toute une gamme d'infections superficielles et profondes. Et le *Streptococcus agalactiae*, qui appartient au groupe B, retrouvé dans l'hémoculture d'un nouveau-né septicémique [12].

4 .2. Les staphylocoques

Les staphylocoques sont une composante essentielle de la flore humaine normale, mais comprennent aussi des espèces qui sont d'importants pathogènes. Après coloration, ils apparaissent sous la forme de cocci à Gram positif en amas [11]. Ces germes cultivent très bien sur milieux ordinaires à 37 °C ; en 24 heures, les colonies de 1 à 2 mm de diamètre sont lisses, rondes, opaques et bombées. Les colonies peuvent être pigmentées en jaune doré ou jaune citrin et, sur gélose au sang, certaines souches sont hémolytiques [12]. Les Staphylocoques autres que *Staphylococcus aureus* sont souvent identifiés aux espèces non productrices de coagulase et sont connus comme "staphylocoques à coagulase négative"(SCN). Leur identification se faisant par opposition à *Staphylococcus aureus*, le terme de "*Staphylococcus non aureus* " (SNA) serait cependant préférable. Ce sont les principaux commensaux de la peau mais ils sont également isolés des muqueuses [13].

4 .3. Les Entérobactéries

Le nom « entérobactérie » fait référence à la localisation de cette famille de microorganismes dans le tube digestif et principalement le côlon de l'homme et des animaux. Elles comprennent une grande variété d'espèces commensales et pathogènes [11]. Actuellement, les Entérobactéries sont classées sur la base du séquençage des ARN 5S et 16S [14]. Ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, le plus souvent mobiles grâce à une ciliature péritriche. Elles fermentent le D-glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites. Elles n'ont pas d'oxydases et possèdent une catalase [15].

Elles sont aéro-anaérobies et elles se cultivent sur les milieux ordinaires. La température optimale de croissance est 37°C mais la culture est possible entre 20°C et 40°C. Une centaine d'espèces d'*Enterobacteriaceae* sont individualisées, mais 23 d'entre elles représentent 99% des souches isolées en clinique [16]. Seuls les genres et les espèces qui sont reconnus dans la septicémie seront envisagés dans le tableau suivant (Tableau II).

Tableau II : Caractéristiques des Enterobacteriaceae [17].

Caractéristiques	<i>Klebsiella</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Proteus</i>	<i>Shigella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>
Rouge de méthyle	+	+	+	+	+	+	-	d
Voges-Proskauer	+	-	-	d	-	-	+	+
Production d'indole	d	+	d	d	d	-	-	-
Utilisation du citrate	+	-	+	d	-	+	+	+
Production d'H ₂ S	-	-	d	+	-	+	-	-
Uréase	+	-	+	+	-	-	-	-
β-galactosidase	+	+	+	-	d	d	+	+
Gaz à partir du glucose	+	+	+	+	-	+	+	d
Acide à partir du lactose	+	+	d	-	-	-	+	d
Phénylalanine désaminase	-	-	-	+	-	-	-	-
Lysine décarboxylase	+	+	-	-	-	+	d	d
Ornithine décarboxylase	+	+	+	d	d	+	+	d
Mobilité	-	d	+	+	-	+	+	+
Liquéfaction de la gélatine (22 °C)	-	-	-	+	-	-	d	+
Taille du génome (Mb)	5,7	4,6-5,5	Nd	Nd	4,6	4,5-4,9	Nd	5,1
Autres caractéristiques	Capsulés	Péritriches si mobiles	Flagelles Péritriches	Flagelles Péritriches	Pas de gaz à partir de sucre	Flagelles Péritriches	Flagelles Péritriches	Flagelles Péritriches et colonies souvent pigmentées

(+) : généralement présent. (-) : généralement absent. (d) : variation entre souches ou espèces dans la possession de ce caractère.

(Nd) ; Non déterminé : génome pas encore séquencé.

5. Physiopathologie du sepsis

Le sepsis se définit comme le passage répété de bactéries dans le sang (normalement stérile), à partir d'un foyer tissulaire de multiplication microbienne. Ce foyer a étéensemencé lors du passage de bactéries exogènes par une porte d'entrée muqueuse ou tégumentaire [18]. Les foyers infectieux les plus fréquemment à l'origine des bactériémies sont urinaires (32-56% des cas), pulmonaire (10-23%) biliaires (13-20%) et cutanés (13-14%) [19]. Les bactéries régulièrement véhiculées par le sang au cours d'une septicémie, peuvent aller ensemencer d'autres tissus, créant alors des foyers secondaires ou métastases infectieuses qui peuvent à leur tour ensemencer le sang circulant [18].

Il est classique de distinguer d'une septicémie, une bactériémie qui consiste en un passage occasionnel de bactéries dans le sang à partir d'une porte d'entrée, sans que n'y existe de foyer de multiplication bactérienne. Les signes cliniques peuvent être identiques à ceux d'une septicémie mais, en général, ils ne se répètent pas [18].

6. Symptômes et complications du sepsis [18]

La symptomatologie clinique des septicémies est dominée par une fièvre fréquemment accompagnée de frissons et sueurs. Le risque de choc septique, accident évolutif aigu redoutable. Essentiellement dû aux toxines bactériennes, et pouvant être responsable de la mort en quelques heures.

Le choc septique est la conséquence ultime d'une infection au cours de laquelle la réaction inflammatoire de l'organisme déborde la simple réponse immune à l'infection. Cette exacerbation de la réponse à l'infection entraîne des effets délétères multiples (vasoplégie, diminution de la délivrance de l'O₂ aux tissus etc.).

7. Facteurs de risque

De nombreux facteurs de risque de sepsis ont été rapportés dans la littérature. Ceux-ci dépendent de facteurs liés à l'hôte lui-même et à son degré d'immunodépression. Le principal facteur de risque semble être l'âge dont le risque est plus élevé chez les nourrissons et les personnes âgées que dans les autres groupes d'âge [20]. En fonction des études, les hommes présentant un risque de sepsis augmente de 30 % par rapport aux femmes[21]. Toute situation favorisant une immunosuppression est un facteur de risque de sepsis, les maladies chroniques avec/sans dysfonctionnement grave d'un organe, l'immunodéficience, les infections cutanées (furoncles, escarres, brûlures, plaies), l'injection de drogue avec du matériel contaminé ou sans désinfection de la peau, la présence de dispositifs médicaux implantés (intravasculaire ou

autre) et l'utilisation inappropriée d'antibiotiques. Les patients incapables de communiquer leurs symptômes sont souvent traités à des étapes plus avancées de leur maladie [22]. Les facteurs de risque liés au développement de la septicémie maternelle comprennent également les facteurs affectant la grossesse même (l'accouchement à domicile dans des conditions insalubres, des antécédents d'infection pulvienne, une grossesse multiple) [23].

Les infections nosocomiales sont la complication la plus commune affectant les patients hospitalisés. Les infections du tractus urinaire associées à l'usage de sonde (ITUAUS), les infections liées aux cathéters intravasculaires centraux (CIC), les infections du site opératoire (ISO) et la pneumonie acquise sous ventilation (PAV) constituent la grande majorité de toutes les infections nosocomiales. Le non-respect des pratiques de prévention des infections nosocomiales fondées sur des données probantes augmente l'incidence de la septicémie nosocomiale [24].

8. Diagnostic du sepsis

Idéalement, le diagnostic du sepsis devrait être réalisé le plus tôt possible après admission du patient pour ne pas retarder sa prise en charge thérapeutique. Cependant le diagnostic du sepsis reste difficile : il repose sur la présence de certains signes cliniques non spécifiques (très haute ou très basse température, d'une accélération de rythme cardiaque, de la fréquence respiratoire ou d'une diminution de la tension artérielle) [25].

Pour confirmer le diagnostic, les médecins recherchent dans la circulation sanguine la présence de bactéries (méthode directe), ou d'une autre infection qui pourrait être responsable du sepsis (méthode indirecte) [26].

8.1 Diagnostic direct : Il repose essentiellement sur l'isolement du pathogène en cause à partir de prélèvements biologiques (le sang) [27].

a. Hémoculture

a.1. Définition d'hémoculture [28]

L'hémoculture est un élément capital du diagnostic, c'est une technique de laboratoire dont le but est de mettre en évidence la présence ou l'absence de microorganismes (bactéries et levures) dans le sang. Que l'on ait recours à des hémocultures surveillées de manière manuelle ou automatisée, on ensemence généralement deux flacons pour chaque prélèvement, un flacon aérobie et un flacon anaérobie. Il est obligatoirement suivi d'un antibiogramme permettant d'étudier la sensibilité aux différents antibiotiques des souches isolées.

a.2. Milieux d'hémocultures

De très nombreux milieux présentés en flacon sous pression réduite, permettant l'ensemencement direct à travers un opercule de caoutchouc, sont proposés par les fabricants.

Plusieurs bouillons sont utilisés : bouillon coeur-cerveille, bouillon trypticase-soja, milieu thioglycolate. Un accent est mis sur la quantité de bouillon à ensemercer. Dans l'idéal, l'O.M.S recommande de mélanger le sang avec dix fois son volume de bouillon soit pour 5 ml de sang un équivalent de 50 ml de bouillon [4]. Aussi, les bouillons doivent être enrichis d'additifs ; Les anticoagulants : tels que Polyanéthol Sulfonate de Sodium (SPS), outre son rôle d'inhibition de la coagulation sanguine, il favorise la croissance de la plupart des bactéries car il inhibe doublement l'activité bactéricide du sérum et il inhibe la phagocytose, il inactive le complément et neutralise le lysozyme et les antibiotiques de la famille des aminosides, d'autres anticoagulants tels que le citrate, l'héparine sont aussi utilisés [1]. La plupart des milieux commercialisés ont une atmosphère enrichie en CO₂ et en Azote (N₂). Pour certains flacons d'hémoculture, les fabricants ajoutent soit des résines adsorbantes de cation (Bactec[®]), soit du charbon (BacT/ALERT[®]) substance qui auraient un effet neutralisant sur les antibiotiques [8]. Ils contiennent aussi une concentration de 10 à 15% de saccharose qui éviterait la lyse des bactéries à paroi déficiente. Son efficacité n'est cependant pas encore démontrée.

Molécules à groupement «thiol» ou «pyridoxal» favorisent la croissance des bactéroïdes et de certains Streptocoques. Le groupement thiol neutralise un certain nombre d'antibiotiques, notamment les aminosides. Autres facteurs de croissance L'hémine et la vitamine K3 favorisent le développement des bactéries exigeantes et des anaérobies [4]. Dès la réception au laboratoire, les flacons doivent être incubés à 35-37°C et inspectés régulièrement. La durée d'observation varie de 7 à 10 jours [6].

8.2. Diagnostic indirect : ensemble d'analyses visant à déterminer les indicateurs de la réponse inflammatoire et de la source de l'infection (foyer infectieux) [27].

Le taux de globules blancs est généralement très élevé ou au contraire nettement abaissé, la Numération Formule Sanguine (NFS) et plaquettes permet de rechercher une thrombopénie, une polynucléose neutrophile majeure ou une leucopénie. D'autre part, la protéine C réactive (CRP), une protéine produite majoritairement par le foie en réponse à l'IL-6, et la Procalcitonine (PCT) sanguines témoignent de l'existence d'une inflammation, mais leur élévation n'est pas spécifique d'une infection. Toutefois des niveaux bas rendent peu probable l'existence d'une septicémie. En outre, des prélèvements sont réalisés au niveau des potentielles portes d'entrée de l'infection (crachats, urines, cathéter, sonde, plaies) pour identifier la bactérie et la mettre en culture [26,29]. Les examens radiologiques tels que radiographies du thorax, une tomodensitométrie (TDM) et une imagerie par résonance magnétique (IRM) peuvent aussi être effectués à la recherche d'une source d'infection [30].

9. Traitement du sepsis

Le traitement de l'infection repose sur des antibiotiques par voie intraveineuse, instaurée le plus rapidement possible après les hémocultures mais sans attendre leur résultat. On associe généralement 2 ou 3 antibiotiques, le choix reposant sur l'origine supposée de l'infection initiale comme l'indique le tableau III, l'état du sujet et l'existence d'autres pathologies comme l'endocardite bactérienne. Les résultats des hémocultures sont obtenus en 1 à 3 jours selon le germe et permettent d'adapter les antibiotiques. La durée de l'antibiothérapie est de 7 à 14 jours voire plus, en fonction de la négativation des hémocultures, de l'état clinique, de la fièvre, du germe, des localisations initiales et secondaires [31].

Tableau III : Antibiothérapie de 1^e intention [18].

Types d'infection	Bactéries suspectées	Traitement de 1 ^e intention
Septicémie d'origine cutanée	Staphylocoque	Isoxazolypénicilline + Aminocide
Septicémie d'origine pulmonaire	Streptocoque Staphylocoque etc.	-macrolide+ Aminocide ou pénicilline G+aminocide
Septicémie d'origine urinaire	Entérobactérie Streptocoque D	- Aminocide+ pénicilline A ou Quinolone+Aminocide
Septicémie d'origine digestive ou génitale	Entérobactérie Streptocoque	Pénicilline G+Aminocide+métronidazole
Septicémie d'origine endocarditique	Streptocoque	Pénicilline G ou A+Aminocide

Le sepsis est une pathologie grave. Sa prise en charge s'est améliorée grâce aux progrès de la réanimation et aux antibiotiques, mais on se heurte maintenant après des années de laisser-aller, à des bactéries devenues de plus en plus résistantes aux antibiotiques [4]. De ce fait, il semble important d'avoir une idée sur les antibiotiques et sur les résistances développées à leur rencontre.

Chapitre II :

*La résistance aux
antibiotiques*

La chimiothérapie prit son véritable essor en 1909 lorsqu'Ehrlich formula le principe de la toxicité sélective. L'étude de plusieurs chercheurs, dont Ehrlich, conduisit à la découverte des arsphénamines dans le traitement de la syphilis. Ce fut la première grande victoire de la chimiothérapie. La deuxième étape fut celle des antibiotiques grâce à la découverte de la pénicilline par Fleming 1929. Ce fut une véritable révolution en thérapeutique puisque, l'une après l'autre, les maladies infectieuses les plus dangereuses étaient maîtrisées et vaincues [32]. Cependant, un problème a surgi après leur usage généralisé ; l'utilisation intensive de la pénicilline a conduit à l'évolution de souches bactériennes insensibles. Ce qui a remis en cause l'efficacité de ces traitements [33]. Actuellement, La propagation des organismes pathogènes résistants aux antimicrobiens est une des menaces les plus sérieuses pour la santé publique [34].

1. Généralités sur les antibiotiques

1.1. Définition

Ce terme a été proposé par Selmanwaksman en 1953 (du grec anti : « contre », et bios : « la vie ») [34], il le définit Comme une substance chimique d'origine microbienne capable d'inhiber la croissance d'autres microorganismes, dont principalement les bactéries, et même de les détruire [33]. L'antibiose est donc le fait que la prolifération d'une espèce puisse être mise en échec par une seconde espèce [35]. L'antibiotique doit répondre aussi aux critères de la définition de Paul Ehrlich sur la chimiothérapie ; il doit être doté d'une toxicité sélective [32]. De ce fait, un nombre restreint d'antibiotiques découverts est utilisés en médecine thérapeutique [35].

1.2. Caractéristiques

L'antibiotique est qualifié d'agent chimiothérapeutique pour sa toxicité sélective, cette propriété le distingue des antiseptiques. Il agit à des concentrations de l'ordre du microgramme par millilitre in vitro ; il interagit d'une manière spécifique au niveau d'une structure d'une voie métabolique ou d'une enzyme, perturbant ainsi la vitalité et inhibant la croissance microbienne [32].

Les antibiotiques ont une structure chimique, un spectre d'action et une efficacité diverse [35]. Seuls certains d'entre eux sont naturels, c'est-à-dire en totalité synthétisés par des microorganismes dont principalement des actinomycétales du genre *Streptomyces* et des

moisissures des genres *Penicillium* et *Cephalosporium*. Chacun de ces deux groupes de microorganismes produit un peu plus d'une quarantaine d'antibiotiques, utilisés en l'état ou chimiquement modifiés par l'ajout de groupement chimiques spécifiques, d'où la nomination semi-synthétique [35]. Ces modifications ont pour but de diminuer la sensibilité des antibiotiques à l'inactivation par les microorganismes pathogènes résistants tout en gardant leur activité (p.ex. l'ampicilline et la méthécilline) [34]. En outre, beaucoup d'antibiotiques semi synthétiques ont un spectre plus large que la molécule originale (p.ex. l'ampicilline et l'amoxicilline) par rapport à la pénicilline G et la pénicilline V [34].

1. 3. Classification

Les antibiotiques sont classés en familles, selon leur structure chimique, leur origine, leur mode d'action ou leur site d'action. Pour des raisons de simplicité, nous adapterons cette dernière classification. La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie. Chaque famille d'antibiotique possède son propre site d'action ; les structures et fonctions bactériennes les plus communément ciblées sont : la paroi cellulaire (peptidoglycane), membrane cytoplasmique, les métabolismes de synthèse des protéines et des acides nucléiques [32]. La figure ci-dessous (figure 1) schématise les principaux sites d'action des antibiotiques dans une bactérie.

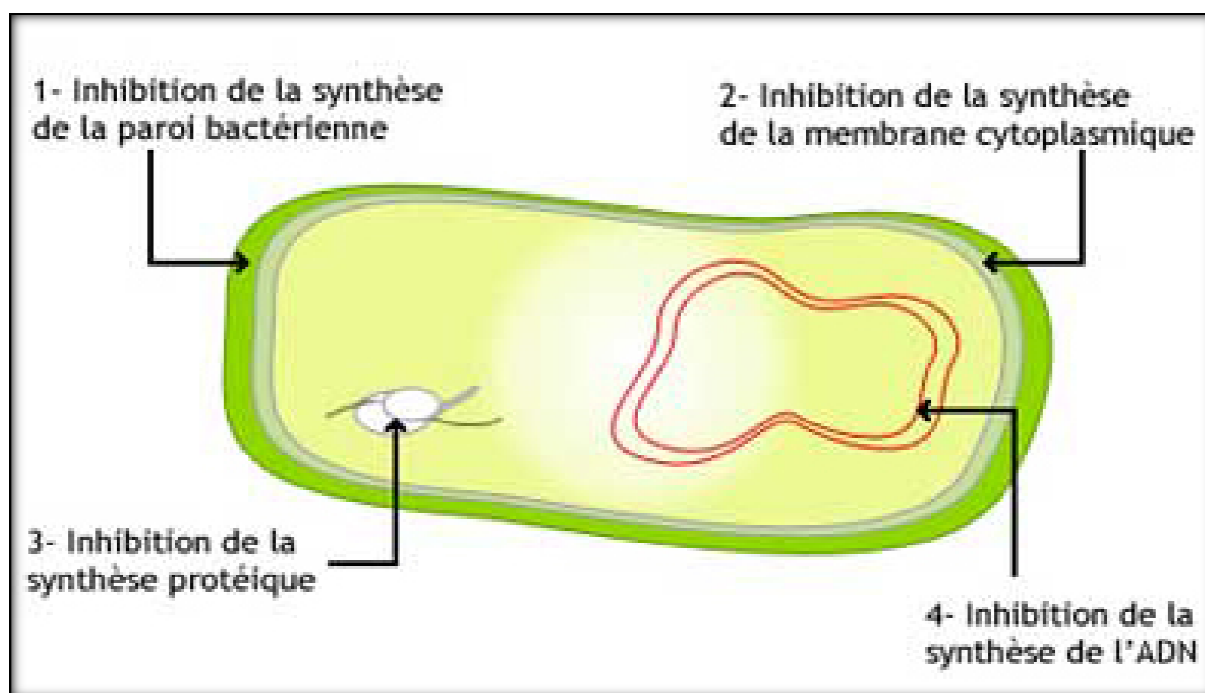


Figure 1 : Principaux sites d'action des antibiotiques chez les bactéries [32].

a. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

Contrairement aux cellules animales les bactéries possèdent une paroi rigide qui les protège des perturbations osmotiques du milieu. Elle a la particularité d'être constituée d'un complexe moléculaire exclusif : le peptidoglycane dont le métabolisme de synthèse constitue la cible de nombreux antibiotiques (dont principalement les β -lactamines, Glycopeptides et la Fosfomycine). Ils ne sont donc actifs que sur des bactéries en phase de croissance [35].

Le tableau ci- après (Tableau IV) résume les propriétés des différents antibiotiques, inhibant le peptidoglycane, qui se distinguent par leur spectre d'activité et Mode d'action.

Tableau IV : Propriétés des principaux antibiotiques inhibant le peptidoglycane [36, 34,37].

Famille d'antibiotiques	Groupe d'antibiotiques	Mécanisme d'action	Membres	Spectre
β-lactamines (Caractéristique commune est leur noyau Beta lactame qui est leur site actif) Effet primaire -cide	Pénicillines	Inhibent les enzymes de transpeptidation impliquées dans le pontage des chaînes polysaccharidiques du peptidoglycane. Activent les enzymes lytiques de la paroi.	Pénicillines (G, V et méthicilline) Pénicilline A et carbénicilline	Etroit (Gram positif) Large (Gram positif et quelques Gram négatif)
	Inhibiteurs de β -lactamines	Inhibe les β -lactamases de manière irréversible. Leur association à des pénicillines permet de restaurer l'activité de ces derniers vis-à-vis de bactéries produisant ces β -lactamases.	Acide clavullanique Sulbactam Tazobactam	Large ; bactéries produisant des β -lactamases (<i>Staphylococcus aureus</i> et divers entérobactéries)
	Céphalosporines	Comme celui des pénicillines	Céphalotine Céfoxitine Ceftriaxone Céphopérazone	Large spectre (Gram positif et quelques Gram négatif)
	Carbapénèmes	Fixation aux protéines de liaison aux pénicillines (PLP).	Imipénème	Large (Gram positif et Gram négatif, résistant à la plupart des β -lactamases). Inactif sur les staphylocoques méti-R
Glycopeptides Effet primaire -cide	Vancomycine	Se fixe directement à la terminaison D-alaD-ala des précurseurs et inhibe la transpeptidation. Elle a donc un site de fixation différent des pénicillines.	Vancomycine	Etroit (Gram positif)
Acide phosphonique Effet primaire -cide	Fosfomycine	Se fixe de manière covalente sur une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N-acétylmuramique (pyruvyl -transférase)	Fosfomycine	Large (Gram positif et certains Gram négatif)

b. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

Différentes classes d'antibiotiques agissent au niveau de l'une des trois étapes principales de la traduction (l'initiation, l'élongation et la terminaison) [38]. Le tableau suivant résume les propriétés des différents antibiotiques, inhibant la synthèse protéique, qui se distinguent par leur spectre d'activité et leur mode d'action.

Tableau V: Propriétés des principaux antibiotiques inhibant la synthèse protéique [36, 34,37].

Famille d'antibiotiques	Mécanisme d'action	Membres	Spectre
Aminosides Effet primaire -cide	Se fixent à la sous unité 30S du ribosome pour inhiber directement la synthèse protéique et provoquer des erreurs de lecture de l'ARNm	Gentamicine Amikacine Tobramycine Streptomycine	Large (Gram négatif, mycobactéries) Etroit (Gram moins aérobies).
Tétracyclines Effet primaire -statique	Comme ci-dessus	Doxycycline (vibramycine) Minocycline	Large (Gram positif et négatif, rickettsias, chlamydias).
Macrolides Effet primaire -statique	Ils se fixent sur l'ARN ribosomal 23S de la sous unité 50S et inhibe l'élongation de la chaîne peptidique.	Erythromycine Clindamycine	large (Gram positif, anaérobies et aérobies et quelques Gram négatif).
Chloramphénicol Effet primaire -statique	Comme ci-dessus (agit au niveau de la sous unité ribosomale 50S).	Chloramphénicol	Large (Gram positif et négatif, rickettsias, chlamydias).
Fusidanes (Acides fusidiques) Effet primaire -statique	Empêchent la traduction de l'ARNm ; ils inhibent le facteur d'élongation G (en se fixant sur lui, ils empêchent la fixation des aminoacyl-ARNt)	Fucidine	Etroit (Cocci et bacilles Gram positif).

c. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

Les antibiotiques suivant ce mode d'action peuvent se fixer sur l'ADN et donc empêcher la progression de l'ADN polymérase sur ce dernier. Cela entraîne une inhibition de la réplication de l'ADN ce qui est indispensable à la formation de nouvelles bactéries. Les fluoroquinolones fonctionnent ainsi [35]. Le tableau qui suit résume les propriétés des différents antibiotiques, inhibant la synthèse protéique, qui se distinguent par leur spectre d'activité et leur mode d'action.

Tableau VI: Propriétés des principaux antibiotiques inhibant les acides nucléiques [36,34,37].

Famille d'antibiotiques	Mécanisme d'action	Membres	Spectre
Quinolones Effet primaire -cide	Inhibent l'ADN gyrase et la topoisomérase IV, de ce fait Interfèrent avec la réplication de l'ADN et la transcription	Norfloxacine Ciprofloxacine Lévofloxacine	Etroit (meilleur sur les Gram négatif que sur les Gram positif) Large
Rifamycines Effet primaire -cide	Inhibe l'ARN polymérase ADN dépendante en se liant à leur cible de manière covalente. Il en résulte un arrêt de la synthèse des ARNm.	Rifampicine Rifacilline	Très active sur les bactéries à croissance intracellulaire telles que les mycobactéries et sur les cocci Gram positif et Gram négatif.

d. Antibiotique perturbant la membrane cellulaire

Certains antibiotiques agissent grâce à des propriétés dites surfactantes. Cette propriété permet aux antibiotiques de s'insérer entre les phospholipides externes. Cela entraîne une augmentation anormale de la perméabilité membranaire, ce qui entraîne une fuite de substances intracellulaires à travers la membrane plasmique et la mort des bactéries [35].

Les polymyxines fonctionnent selon ce mode d'action. Malheureusement, à cause de la similitude entre les membranes des cellules bactériennes et celles des eucaryotes, les antibiotiques qui agissent sur la membrane sont toxiques et seulement quelques-uns ont trouvé une fonction thérapeutique [39]. Le tableau suivant résume les propriétés de la polymyxine.

Tableau VII: Les principales propriétés de la Polymyxine [37, 34,38].

Famille d'antibiotiques	Mécanisme d'action	Membres	Spectre
Polymyxine Effet primaire -cide	Se fixe sur les membranes bactériennes (en particulier la membrane externe des bactéries à gram négatif) et les désorganisent.	Polymyxine B Colistine	Etroit (mycobactéries et bacilles Gram négatif).

2. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser

des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger. On considère que de nombreux gènes bactériens codants pour une résistance aux antibiotiques ont été « capturés » lors d'un transfert horizontal depuis le producteur vers le non producteur. Ce qui a donné naissance à un large pool de gènes de résistance en dehors des microorganismes producteurs [34]. Cette section décrit les différents mécanismes par les quelles les bactéries exercent leur résistance aux antibiotiques.

2.1. Résistances intrinsèques et extrinsèques

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : **la résistance naturelle** et **la résistance acquise**.

a. La résistance intrinsèque ou naturelle

Elle se définit comme une caractéristique fonctionnelle ou structurelle conférant une certaine tolérance, voir une insensibilité totale, à tous les membres d'un groupe de bactéries (une espèce, un genre ou parfois un groupe plus grand), vis-à-vis d'une molécule particulière ou vis-à-vis d'une classe d'antimicrobiens [40]. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique ; elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce. Elle est transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission Horizontale) [41] ; elle détermine le niveau de sensibilité « basal » des bactéries et définit le phénotype sauvage d'une espèce [42].

b. La résistance acquise

Contrairement à la résistance intrinsèque, la résistance acquise se définit comme une caractéristique propre à quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière, provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles [41]. Elle est moins stable, imprévisible, évolutive et observée in vivo et in vitro pour la plupart des bactéries et des antibiotiques connus [43]. L'acquisition des gènes de la résistance ne suffit pas à l'apparition de populations bactériennes résistantes, il faut que la croissance des bactéries qui les hébergent soit favorisée par rapport aux bactéries sauvages. C'est seulement si l'environnement contient des antibiotiques que les bactéries résistantes vont être sélectionnées et émerger. C'est ce qu'on appelle la pression de sélection par les antibiotiques [44]. L'évolution des mécanismes de résistance aux β -lactamines illustre

parfaitement ce phénomène [45]. Le principal mécanisme de résistance acquis aux β -lactamines chez les bacilles à Gram négatif est la production des β -lactamases [46].

b. 1. Supports génétiques de la résistance acquise

On décrit deux phénomènes majeurs à la base de l'acquisition de résistances par modifications du génome bactérien, à savoir, les mutations de gènes et l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger qui se transmet par des éléments mobiles transférables : plasmides et transposons [40, 47].

2.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

La résistance des bactéries se manifeste par un ou plusieurs mécanismes. Ces derniers pouvant être, pour un même antibiotique, différents d'une bactérie à l'autre. Les divers mécanismes impliqués sont les suivant :

a. Diminution de la perméabilité [48]

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles. Des mutations peuvent entraîner la perte de certains porines et de ce fait entraver la pénétration de certains antibiotiques. Ces mutations peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément.

La fosfomycine pénètre dans le cytoplasme des bactéries par l'intermédiaire du système de transport des glycérophosphates. Des mutations au niveau de ce système de transport entraînent la résistance à la fosfomycine. La fréquence des mutations étant élevée, il est déconseillé d'utiliser la molécule en monothérapie.

b. Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux [48]

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant d'excréter certains antibiotiques. Ces systèmes jouent un rôle dans la résistance naturelle. Sous l'effet de mutations, leur niveau d'expression peut augmenter et faire apparaître une résistance acquise pouvant toucher simultanément plusieurs familles d'antibiotiques (fluoroquinolones et β -lactamines). Le phénomène a été décrit surtout chez les Gram négatif.

La résistance aux tétracyclines ou aux macrolides est due le plus souvent à d'un mécanisme d'efflux.

c. Modification de la cible [48]

La modification de la cible se produit lorsqu'un antibiotique donné ne peut plus se lier à la cible sur laquelle il agit habituellement. Plusieurs cibles sont à citer, le ribosome, les PLP, les précurseurs du peptidoglycane, les topoisomérases, l'ARN polymérase et le facteur d'élongation G.

A titre d'exemple, le remplacement de la D-ala terminale par un groupement lactate sur le précurseur du peptidoglycane entraîne une résistance aux glycopeptides chez les entérocoques. Un autre exemple, celui de la résistance aux rifamycines qui résulte habituellement de mutations portant sur la chaîne B de l'ARN polymérase. C'est aussi le cas de la résistance des *Staphylococcus* à la méthicilline ou à l'oxacilline par modification de la protéine liant les pénicillines (PLP), enzyme de la voie de synthèse du peptidoglycane.

d. Inactivation de l'antibiotique [48]

Ce mode de résistance implique l'inactivation de l'antibiotique par un enzyme bactérien. C'est l'un des mécanismes le plus souvent en cause. On classe ces enzymes suivant les antibiotiques qu'elles hydrolysent de manière préférentielle ; on retrouve des enzymes inactivant les macrolides, lincosamides et synergistines, des enzymes inactivant le chloramphénicol (Il peut être inactivé par un chloramphénicol acétyltransférase, habituellement codée par un gène plasmidique), ceux qui inhibent les aminosides (peuvent être inactivés par 3 classes d'enzymes : les acétyltransférases, les nucléotidyltransferases et les phosphotranseferases) et d'autres qui inhibent les B-lactamines (les β -lactamases).



2^e PARTIE :
Partie pratique



Matériel et méthodes

Après ce bref rappel de littérature sur la septicémie et la résistance bactérienne, Il s'agit maintenant de déterminer les principaux germes en cause de bactériémies et d'étudier leurs sensibilités aux antibiotiques usuels.

Pour cela, notre travail consiste à collecter des prélèvements d'hémoculture issues de différents services et les soumettre à divers analyses au niveau du laboratoire de microbiologie de l'EPH de Boufarik la wilaya de Blida. Il s'agit d'une étude prospective sur une période allant du 04 mars 2019 à 31 mai 2019.

I. Lieu de stage

L'EPH de Boufarik est pourvu d'un service de maladies infectieuses et fait partie des hôpitaux de renommés national. Au sein de l'hôpital, l'unité de bactériologie occupe une place centrale dans la surveillance des infections ainsi que de la résistance aux antibiotiques. En plus du matériel classique, Elle est équipée de :

- Une hotte à flux laminaire (Laboratoire de 3^e niveau).
- Un automate d'hémocultures BACT-ALERT.
- Un incubateur à CO₂ pour les bactéries aéroanaérobies.
- Un incubateur sans CO₂ pour les bactéries aérobies, les antibiogrammes et les galeries d'identification API 20 E.
- Un congélateur de -20°C pour la conservation des disques d'antibiotiques, des disques d'identification (Optochin).

Le laboratoire de bactériologie intervient dans la recherche d'une bactériémie, du choix d'un traitement et la surveillance de son efficacité, et ce grâce à l'hémoculture qui est un ensemencement de sang dans un milieu de culture liquide. Cependant, du fait de la gravité de ces infections, et de l'importance de la précocité du traitement, la relative lenteur des examens bactériologiques est un lourd handicap aux services qu'ils peuvent rendre. Il faut donc insister sur la nécessité ici plus qu'ailleurs ; d'une confirmation clinico-biologique, d'une transmission en urgence des résultats même partiels, d'un choix de méthodes qui donnent des résultats les plus précoces possibles [49].

II. Prélèvement [49]

Les prélèvements sont pratiqués le plus tôt possible après les premières constatations cliniques. Avant antibiothérapie, 4 à 12h avant le début du traitement de 1^e intention, (sauf pour contrôler l'efficacité du traitement) et devant tout syndrome fébrile d'allure infectieuse.

1. Antiseptie [49]

La méthode de référence pour la réalisation d'une hémoculture est la ponction d'une veine non perfusée, même si elle est possible sur cathéter ou dispositif implantable, mais avec un risque de contamination augmenté. Elle doit être réalisée avant tout autre prélèvement sanguin. En évitant l'agitation et les courants d'air et avoir à sa portée le matériel nécessaire (deux flacons à hémoculture, une tubulure à prélèvement, les antiseptiques, des compresses stériles, le garrot, la pince à clamper), se laver les mains au savon, puis se les désinfecter à l'alcool à 70°. Il en est de même pour la peau du malade qui doit être aussi désinfecter au niveau du point du prélèvement (en général, veine du pli du coude) avec un antiseptique iodé (Alcool iodé, teinture d'iode), en respectant le temps de contact 1 à 2 min à fin d'assurer une désinfection rigoureuse.

De plus, il est nécessaire de ne plus toucher la peau à l'endroit de la ponction ; afin d'éviter la contamination de l'échantillon par les bactéries de la flore cutanée telles que les staphylocoques à coagulase négative et de désinfecter les bouchons de caoutchouc des flacons à hémoculture avec de l'alcool iodé (respecter ce temps de contact).

2. Ponction [49]

Après antiseptie soignée de la peau (alcool iodé), 20 ml de sang sont prélevés par ponction veineuse etensemencés en condition aérobie (pour 10ml) et anaérobie (pour 10ml). L'ensemencement se fait en général lors du prélèvement au lit du malade grâce à une tubulure reliant l'aiguille à prélèvement au ballon à hémoculture. Tout d'abord, Piquer la veine choisie avec l'aiguille à prélèvement de la tubulure. Ensuite, laisser le sang remplir presque entièrement la tubulure puis clamper. Déclamper et laisser pénétrer le sang dans le flacon (soit aérobie ou anaérobie). Reboucher le flacon. Enfin, étiqueter (nom, prénom, date et heure du prélèvement, température) et bien indiquer s'il s'agit d'un flacon aérobie ou anaérobie.

Il est à signaler que deux types de flacons à hémoculture ont été utilisés : flacons classiques et ceux du système automatisé BACT/ALERT®. Comme l'indique la figure 02 ci-après.

Il est possible de prélever les hémocultures en 2 ou 3 ponctions (prélèvement multiple) ou bien en une seule ponction 4 à 6 flacons (prélèvement unique). Les deux stratégies présentent la même sensibilité à nombre de flacons égal. Cependant, il est préférable de privilégier la méthode par prélèvement unique qui permet de réduire le taux de contamination et instaurer une antibiothérapie plus rapidement [50].

Concernant le nombre et le rythme des hémocultures : si pendant longtemps qu'il était important de répéter les prélèvements pour majorer la probabilité de mettre en évidence la bactérie pathogène, il a été récemment démontrée que, ce qui importe pour majorer cette probabilité, c'est la quantité totale de sang prélevés plus que le nombre de prélèvement. Aussi, il est désormais recommandé lorsque la réalisation d'hémocultures est indiquée de prélever en une seule fois 40 à 60 ml de sang en pratique, et avec les flacons d'hémocultures classiques, ceci peut se résumer à prélever en une seule fois 2 à 3 flacons aérobies et 2 à 3 flacons anaérobies. Certaines situations telles que les endocardites peuvent encore justifier des prélèvements répétés dans le temps [50].



Figure 02 : Image montrant les flacons d'hémocultures (flacon de BACT/ALERT® à droite, flacon classique à gauche).

Les flacons d'hémocultures doivent être envoyés le plus rapidement possible au laboratoire de bactériologie sans incubation préalable. Celui-ci doit être prévenu en cas de suspicion de bactéries à croissance lente (*Brucella spp.*), de même qu'en cas de recherche spécifique et /ou en cas de suspicion d'endocardites.

III. Examen au laboratoire des hémocultures

Dès le prélèvement les hémocultures sont rapidement acheminées au laboratoire de bactériologie, où ils sont immédiatement incubés. L'examen quotidien est éventuellement microscopique. Chaque flacon suspect doit faire l'objet d'un examen microscopique à l'état frais et après coloration de Gram ainsi que d'une subculture en aérobie et anaérobie.

L'unité de bactériologie utilise principalement un appareillage automatisé (BACT/ALERT® 3D). En raison de la réception des prélèvements externe (flacons classiques), on a eu le privilège de travailler avec les deux méthodes (méthode classique et méthode automatisée).

1. Incubation

Les hémocultures sont incubées immédiatement à 37°C. Les flacons classiques sont placés à l'étuve alors que ceux de l'automate sont incubés dans l'appareil BACT/ALERT® 3D (Une fiche de renseignements cliniques doit impérativement accompagner les flacons vers le laboratoire). Elles sont incubées 7 à 10 jours et systématiquement subcultivées.

1.1. Incubation à l'aide du BACT/ALERT® 3D (principe) [51]

L'automate de détection et d'isolement de micro-organismes (bactéries et champignons) dans le sang et d'autres liquides biologiques normalement stériles ou des produits préparés ou transformés aseptiquement (voire figure 03). Le fonctionnement tactile exclusif permet un contrôle sans texte et facilite la gestion des flacons, il fournit des alertes visuelles et sonores instantanées pour les flacons positifs. Chaque flacon possède un détecteur colorimétrique "CO₂ sensor" de coloration verte. Le sensor est séparé du bouillon par une membrane semi-perméable qui ne laisse passer que le CO₂. La production du CO₂ entraîne une diminution du pH et le sensor devient jaune. Le virage de couleur est interprété par réflectométrie : chaque lecture compare la variation de couleur à la précédente et chaque flacon dispose de sa propre cellule de lecture.



Figure 03 : Automate de détection BACT/ALERT® 3D.

Le processus de gestion des flacons sur le système BACT/ALERT® 3D est simple, grâce au processus de chargement des flacons en deux étapes Scannez et Chargez. Avant de scanner le code-barres, on sélectionne sur l'écran le champ souhaité. Ce champ devient blanc, indiquant qu'il est actif. On tourne le flacon de manière à ce que l'ID (numéro d'identification de l'échantillon) du flacon soit orienté vers le haut. Puis, on place le flacon au-dessus de la bande du code-barres située dans la trappe du lecteur de code-barres. Deux signaux sonores brefs retentissent si l'ID du flacon est scanné correctement dans le champ ID du flacon.

Dans l'écran principal (figure 04), on appuie sur le bouton "chargement des flacons". Une fois les enregistrements des informations nécessaires sont faits, on fait entrer les flacons pour lancer leurs incubations. La durée de l'incubation est de 7 jours au maximum.

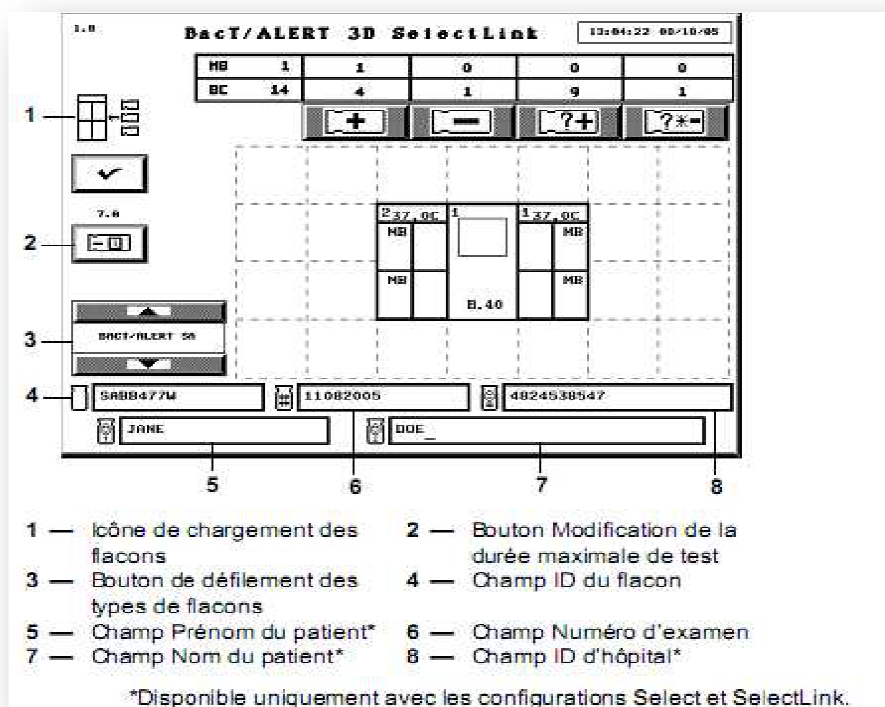


Figure 04 : Écran principal de chargement des flacons de BACT/ALERT® 3D.

1.2. Incubation à l'aide de l'étuve

Elle dure 10 jours au maximum. Contrairement aux flacons du BACT/ALERT® 3D, qui ne sont subcultivés qu'après l'alerte (alertes visuelles et sonores instantanées pour les flacons positifs), l'incubation à l'étuve est systématiquement interrompue par des subcultures sur milieu solide riche ; Gélose au sang cuit(GSC), en aérobiose et anaérobiose en J1, J3 et J10, à la recherche d'un signe de culture. Il est à noter que les délais de réponse se situent entre 7à10 jours. Au-delà de ce délai, les bactéries détectées sont généralement des contaminants qui étaient présents en faible quantité dans le prélèvement.

2. La subculture des hémocultures (isolement) [52]

Il est classique pour une même hémoculture d'ensemencer deux flacons, l'un incubé en aérobiose et l'autre en anaérobiose. Les flacons d'hémoculture ne sont jamais ouverts ; l'isolement et l'identification des agents infectieux sont réalisés à partir d'un échantillon prélevé par ponction à la seringue, de chaque flacon.

2.1. Milieu d'isolement [52]

Il convient de choisir un milieu spécifique qui permet la croissance de micro-organismes à culture délicate. De ce fait, on utilise principalement la gélose au chocolat.

a. La Gélose au sang cuit (GSC)

Est un milieu riche car il contient des facteurs de croissance variés par la présence d'un mélange de peptone. Il est constitué de la Gélose Mueller Hinton additionnée de 10 % de sang frais.

b. Technique d'ensemencement

On pose, aseptiquement, une goutte de sang dans le milieu spécifique (GSC). Puis, on ensemence par la pipette pasteur boutonnée en faisant des stries fines et très serrées puis des stries larges et éloignées. Les ensemencements sont lancés sous haute à flux laminaire.

Enfin, on introduit la boîte ensemencée dans une jarre à bougie sous 3 à 5 % de CO₂ et saturée d'humidité (favoriser la croissance des bactéries exigeantes en CO₂ et les bactéries aéroanaérobies facultatives). Une jarre spécifique fermée hermétiquement créant l'anaérobiose est utilisée en cas de suspicion de bactéries anaérobies strictes, l'incubation dure 24h.

A défaut de sang de cheval ou de mouton, le laboratoire utilise du sang humain périmé contrôlé fourni par le croissant rouge pour préparer les géloses au sang et les géloses au chocolat.

2.2. Autres milieux [52]

Pour confirmer l'orientation de l'identification et pour un meilleur isolement, on utilise des milieux sélectifs tels que le milieu Chapman, milieu Hektoen, milieu TSI, ...etc.

a. Milieu Chapman

Milieu sélectif pour les staphylocoques (hyper salin 75g /L de Cl). Ces derniers, fermentent le Mannitol et acidifient le milieu, d'où le virage au jaune du milieu initialement rouge.

b. Milieu Hektoen

Milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes. Il est particulièrement adapté à la culture des *Salmonella* et *Shigella*.

La technique d'ensemencement de ces deux milieux est identique à celle sur milieu GSC. L'incubation se fait directement à l'étuve à 37°C pour les bactéries aéroanaérobies facultatives.

c. Milieu TSI

Milieu utilisé pour la caractérisation biochimique des entérobactéries en général et des salmonelles en particulier. Le principe du milieu repose sur l'aptitude ou l'incapacité des entérobactéries à fermenter le glucose (avec ou sans dégagement de gaz), le lactose, le saccharose et à réduire les sulfates en sulfures qui, en présence de fer, donne un précipité noir de sulfure de fer.

c.1. Ensemencement et incubation [52]

A partir des cultures pures, on ensemence la pente du milieu par des stries et le culot par piqure à l'aide d'une pipette Pasteur bouclée préalablement stérilisée à la flamme. L'interprétation des phénomènes qui se produisent de la manière suivante :

Jaune : glucose positif (fermentation du glucose).

Rouge ou inchangé : glucose négatif.

Noir : formation de sulfure d'hydrogène.

Bulle ou fissure : formation de gaz à partir du glucose.

Il est à signaler que toutes les hémocultures qui restent négatives doivent néanmoins être subcultivées avant d'être jetées.

3. La morphologie et le Gram des bactéries

3.1. L'examen à l'état frais [52]

C'est l'examen microscopique de bactéries vivantes, en milieu liquide. Il permet de mettre en évidence leur mobilité, apprécier leur mode de groupement et leur morphologie.

Préparation : On dépose une gouttelette de l'eau physiologique sur une lame. Puis, on prélève une trace de culture à la pipette Pasteur boutonnée et l'émulsionner dans la gouttelette d'eau physiologique précédente. Recouvrir d'une lamelle.

Observation : Au microscope optique à l'objectif x40, diaphragme quasiment fermé pour augmenter le contraste, forte intensité lumineuse.

3.2. Coloration de Gram [52]

Cet examen consiste à déposer une goutte de la suspension bactérienne sur une lame puis faire toute une série de coloration à fin de déterminer le Gram.

Après fixation du frottis à la chaleur, on couvre la lame avec le violet de Gentiane pendant 90 secondes puis on rince à l'eau. On traite par la solution de Lugol pendant 60 secondes puis on rince à l'eau.

On soumet le frottis à une étape de décoloration en le traitant avec un solvant comme l'éthanol à 95%. A ce stade, les cellules Gram négative seront incolores tandis que, les cellules Gram positives seront violettes. Ensuite, on couvre la lame avec la fuchsine pendant 60 secondes, puis on rince à l'eau. Enfin, on fait sécher le frottis au papier buvard puis on l'examine à l'objectif à immersion (grossissement x100).

Ce dernier a pour but de noter ; la présence ou l'absence d'une flore bactérienne monomorphe ou polymorphe, leur disposition les uns par rapport aux autres (exemple : cellules isolées, en paires, en chaînettes et en grappes) ainsi que l'affinité tinctoriale des éléments bactériens (Gram+ ou Gram-). Par conséquent cet examen nous donne une orientation sur la bactérie.

Ces premiers résultats (morphologie et le Gram des bactéries mises en évidence et le délai de culture) doivent être immédiatement transmis au clinicien, en précisant : le nombre d'hémocultures positives(en aérobiose et en anaérobiose). Le traitement de 1^e intention est souvent choisi en fonction de ces résultats. 24 à 48 h plus tard, le laboratoire donne l'identification et l'antibiogramme de la bactérie isolée.

Après l'isolement des germes, on devra pouvoir affirmer l'identité de toutes les souches (identification précise et antibiotype). L'identification fait appel aux tests biochimiques (galerie biochimique API 20E), sérologiques (tests de latex) et à l'antibiogramme standard qui sont réalisés de la manière suivante :

4. Identification biochimique de tous les germes isolés des hémocultures

4.1. Identification par galerie biochimique API 20E (Biomérieux) [52]

C'est une version miniaturisée des tests biochimiques classiques destinés à l'identification des entérobactéries. Ce test regroupe 23 tests biochimiques. Des substrats déshydratés sont contenus dans des microtubes (voire figure 05). Ces substrats sont mis en solution grâce à une suspension de la bactérie à identifier. A la suite d'une période d'incubation de 24 H à 37°C, permettant à la bactérie de bien réagir avec le substrat, les diverses réactions sont notées afin de déterminer le code d'identification de 7 chiffres appelé « profil numérique » grâce à un catalogue de standardisation.

Premièrement, on réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide et on place la galerie dans la boîte d'incubation. A partir de quelques colonies, on prépare une suspension bactérienne dans de l'eau physiologique. Ensuite, on remplit les tubes et cupules des tests

CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne et on remplit uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests. Une anaérobiose est réalisée pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE en remplissant leur cupule d'huile de vaseline. Enfin, on referme la boîte d'incubation qu'on incube à 37°C pendant 24H.

Après incubation, on note sur la fiche de résultat, toutes les réactions spontanées. La révélation des trois TDA, VP et indole est faite par l'ajout des réactifs nécessaires (TDA, VP1, VP2 et KOVACS). Alors que l'identification est obtenue à l'aide d'un code obtenu après la lecture de la galerie.



Figure 05 : Image montrant la galerie biochimique API 20 E (Biomérieux).

4.2. Autres tests d'identification

a. Test de sensibilité à l'optochin [52]

L'Optochin (chlorhydrate d'éthyle hydrocupréine) est un produit chimique complètement soluble dans l'eau. Il est utile dans l'identification de *Streptococcus pneumoniae* ; le streptocoque alpha-hémolytique le plus souvent sensibles à ce produit chimique.

Il est utilisé sous forme de disques en papier filtre imprégnés de chlorhydrate d'éthylhydrocupréine, qui sont appliqués directement sur des plaques inoculées avant incubation.

Une identification présomptive positive de *S. pneumoniae* est réalisée lorsqu'une zone d'inhibition bien définie apparaît autour du disque imprégné (voire figure 06). Les autres streptocoques alpha-hémolytiques ne présentent pas cette zone claire d'inhibition en présence d'optochin. Le produit chimique teste la fragilité de la membrane cellulaire bactérienne et provoque la lyse de *S. pneumoniae* en raison de modifications de la tension superficielle.

a.1. Procédure de test de sensibilité à l'optochin

En utilisant une boucle d'inoculation, on sélectionne trois à quatre colonies bien isolées de l'organisme alpha-hémolytique à tester. Une culture d'organisme isolé de 18 à 24 heures peut également être utilisée pour les tests. Ensuite, On strie l'isolat sur la moitié d'une plaque de gélose de sang afin d'obtenir une croissance confluyente.

À l'aide d'une pince stérile, on place un disque d'optochin sur la surface inoculée de la gélose. Puis, on appuie doucement sur le disque avec la pince afin que le disque adhère fermement à la surface de la gélose. L'incubation est à 37°C pendant 18-24 heures dans un environnement enrichi de 5-10% de CO₂. Si la zone d'inhibition est présente, l'organisme alpha-hémolytique testé est *S. pneumoniae*.

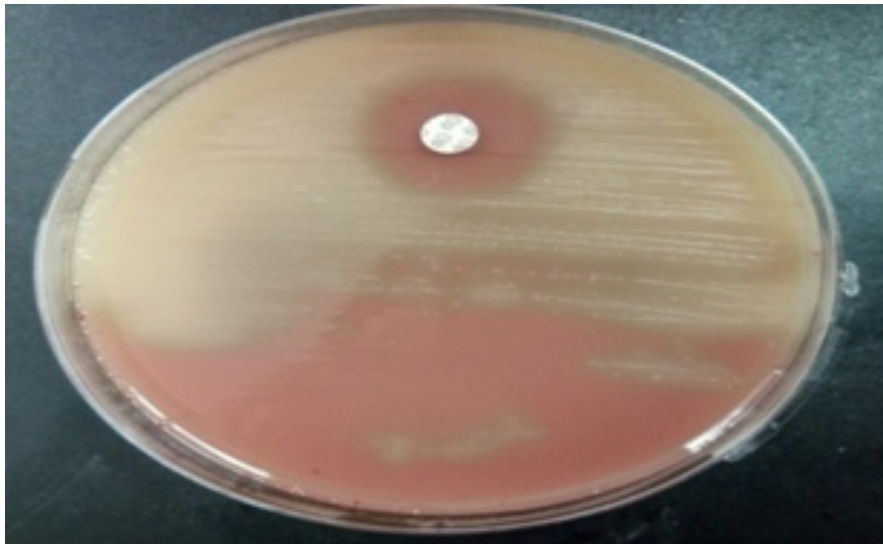


Figure 06: Test de sensibilité de *S. pneumoniae* à l'optochin.

b. Test de l'oxydase [52]

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. La recherche de l'oxydase concerne les bactéries à Gram (-), Il consiste à mettre en évidence la capacité que possèdent ces bactéries à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé, ceci est illustré dans la figure suivante (figure 07). Il est réalisé en ajoutant un disque d'oxydase à une suspension bactérienne épaisse en eau physiologique qui se traduit par une coloration violette en 2 minutes environ pour une réaction positive.

On place un disque imprégné du réactif sur une lame. A l'aide d'une pince flambée, on dépose une goutte de réactif sur le disque non imprégné. Avec une pipette Pasteur, on prélève une colonie sur milieu solide et on la dépose doucement sur le disque. Pas de lecture avant 30 secondes environ.

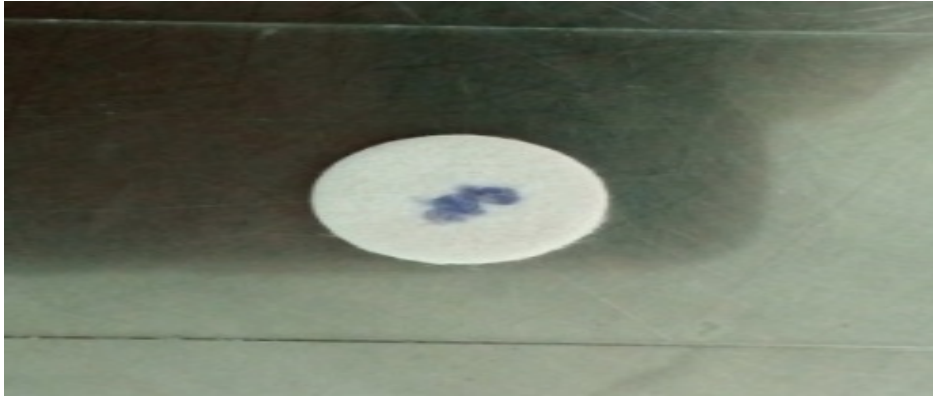


Figure 07: Image montrant un test d'oxydase positive
(Identification de *P.aeruginosa*. par test d'oxydase)

c. Test de la catalase [52]

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La recherche de la catalase concerne les bactéries à Gram (+). Elle consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.

On dépose sur une lame une goutte d'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur. On prélève une colonie à l'aide de l'anse. Puis, on dissocie la colonie dans la goutte. Si on aperçoit des bulles d'oxygène le test est positif. La bactérie est dite Catalase(+).

d. Le Strepto-test [53]

Il s'agit d'un test d'agglutination rapide permettant une détermination du groupe des streptocoques. Il comporte des suspensions de latex permettant d'identifier les groupes A, B, C, D, F et G, ceci est illustré dans la figure suivante (figure 08). Ces particules s'agglutinent fortement en présence de l'antigène homologue alors qu'elles restent en suspension homogène en l'absence de celui-ci.

On ramène les réactifs à température ambiante. Puis, on dépose une ou deux gouttes de latex sur les cercles correspondants. On prélève 2 à 3 colonies bien isolées par la pipette pasteur boutonnée et les émulsionner dans les réactifs de chaque cercle. On donne à la carte un mouvement de rotation pendant 1 min. Enfin, on observe l'apparition d'agglutinats.

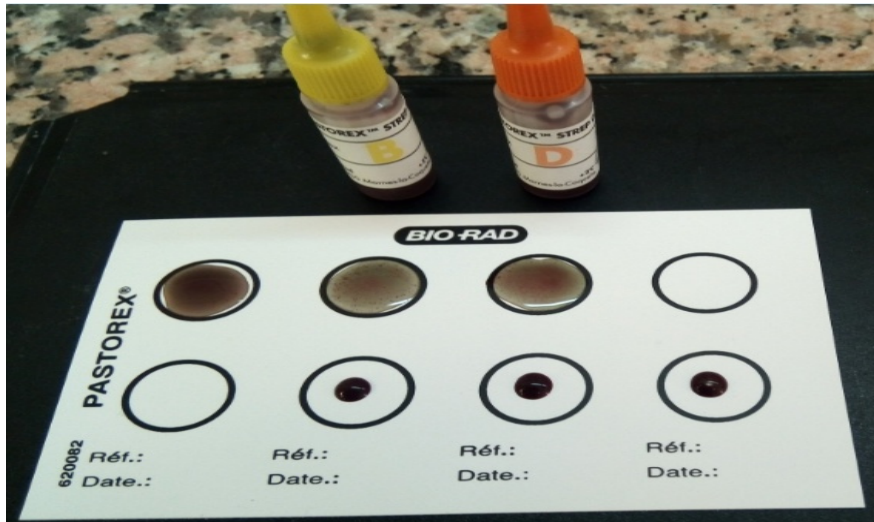


Figure 08: Carte d'agglutination du Strepto-test.

e. Test coagulase (Staphorex) [54]

Le teste permet la distinction rapide entre *Staphylococcus aureus* et d'autres espèces de staphylocoques, moins virulentes, un test rapide d'agglutination constitué de latex sensibilisé par du fibrinogène et des IgG à fin de détecter le facteur d'affinité pour le fibrinogène et la protéine A, qui sont des protéines caractéristiques de *S. aureus*.

Les isolats de *Staphylococcus aureus* sont mélangés avec le réactif au latex sur une carte d'agglutination. Après avoir bien mélangé, la carte est examinée à l'œil nu : la formation d'agglutinats indique la présence de *Staphylococcus aureus* comme la montre la figure ci-dessous (Figure 09).

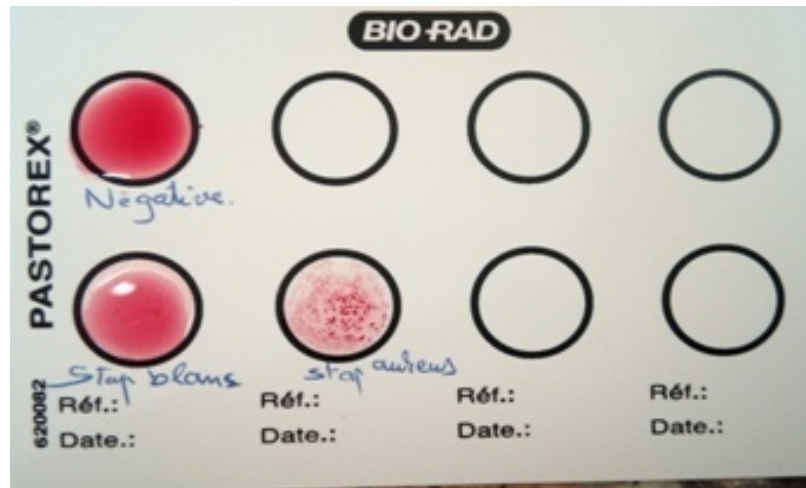


Figure 09 : Carte d'agglutination du test de coagulase (Staphorex).

5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques [55]

La sensibilité des souches aux différentes familles d'antibiotiques a été testée par la méthode de l'antibiogramme standard selon les recommandations du CLSI 2014 [55].

5.1. Antibiogramme [55]

a. Milieu

Pour les bactéries non exigeantes (tels que les entérobactéries, *P.aeruginosa*, *Staphylococcus spp.* et autres), on utilise la gélose Mueller Hinton (MH), coulée en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm. Pour les bactéries exigeantes (tels que les *Streptococcus spp.* et *Neisseria meningitidis*), on additionne 5% de sang humain périmé et contrôlé à la gélose MH. Les géloses sont ensuite séchées avant l'emploi.

b. Inoculum

A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement (20 à 24h pour les *Streptococcus spp.*), on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. On décharge parfaitement l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %. On homogénéise rigoureusement la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5Mc Farland (McF) ou à une D.O de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Pour les molécules n'ayant pas de valeurs critiques du CLSI (ayant une charge SFM, telle que la Pristinamycine, Fosfomycine et l'oxacilline 5), l'inoculum à 0.5 McF doit être dilué au 1/10.

c. Ensemencement

On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. Puis on l'essor en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi du tube, afin de le décharger au maximum. On frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. On Répète l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boites de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

d. Application des disques d'antibiotiques

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre (pas plus de 4 disques pour les bactéries exigeantes). Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm, centre à centre.

On teste la liste des antibiotiques indiqués dans le tableau VIII cité ci-dessous, selon les recommandations du CLSI (OMS, 2014). On Presse chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

Tableau VIII : Liste des antibiotiques testés selon les souches [55].

Entérobactéries	<i>S .pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>
Ampicilline ou amoxicilline	Oxacilline 1 µg	Ticarcilline	Penicilline
Cefotaxime	Erythromycine	Pepracilline	Oxacilline
Cefazoline	Clindamycine	Ceftazidime	Cefoxitine
Amikacine	Chloramphénicol	Azteronam	Gentamicine
Chloramphénicol	Rifampicine	Amikacine	Amikacine
Ciprofloxacine	Vancomycine	Netilmicine	kanamycine
Acide nalidixique	Levofloxacine	Tobramycine	Erythromycine
Fosfomycine	Tetracycline	Ciprofloxacine	Clindamycine
Colistine	Pristinamycine	Fosfomycine	Ofloxacine
	Fosfomycine		Vancomycine
	Oxacilline µg		Teicoplanine
			Rifampicine
			Tetracycline
			Chloramphénicol
			Pristinamycine
			Fosfomycine
			Acide fusidique

Un inoculum correct et un ensemencement en stries satisfaisant conduisent à une culture confluent. L'obtention de colonies isolées traduit une légèreté de l'inoculum et nécessite une reprise de test.

Des souches de contrôle de qualité; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sont testées en parallèle, afin de valider les résultats d'antibiogramme.

Vérifier que les diamètres d'inhibition des souches de contrôle de qualité sont dans les limites requises, un inoculum lourd engendre des diamètres plus petits.

Le disque érythromycine doit être appliqué prêt du disque de clindamycine ; si il y'a antagonisme entre ces deux disques. la souche testée présente une résistance inductible à la clindamycine.

e. Incubation

On incube 18 heures à 37°C pour les bactéries non exigeantes et 20 à 24h à 37°C sous CO₂ (5%) pour les *Streptococcus spp.*

f. Lecture des antibiogrammes

On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.

Pour les *Streptococcus spp.* , on mesure avec précision le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne et non pas celle de l'hémolyse boîte ouverte et bien éclairée. On compare ces résultats aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture CLSI et CA-SFM (voir annexes).

Puis, on classe la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante selon les critères définis par les recommandations de CLSI 2014.

5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par bandelettes E-test [55]

La CMI est obligatoire pour les souches à croissance difficile isolées d'infection graves comme *S. pneumoniae* et *listeria monocytogenes*. Ces souches, ont fait l'objet d'une standardisation de la technique d'étude de la sensibilité aux antibiotiques selon les recommandations de la CLSI. La technique de l'antibiogramme (diffusion des disques) n'est pas validée pour certaines molécules antibiotiques. Pour ces molécules, la sensibilité de ces germes est appréciée uniquement par la détermination de la CMI.

Cette technique, utilisant des bandes imprégnées d'un gradient de concentration d'antibiotiques, permet d'obtenir simplement et rapidement une détermination de la CMI, dans les mêmes conditions que l'antibiogramme standard.

a. La technique d'ensemencement

La technique d'ensemencement est identique à celle de l'antibiogramme.

b. Application des bandelettes d'antibiotiques

On applique les bandelettes E-test, à l'aide d'une pince bactériologique stérile, sur la surface de la gélose. Les antibiotiques utilisés pour *S. pneumoniae* sont la pénicilline G, l'amoxicilline et l'imipénème. On utilise une bandelette par boîte. Une fois appliquée, la bandelette ne doit pas être déplacée. Incubation 18 à 20 heures à 37°C, sous CO₂ (5%).

c. Lecture

On lit la valeur de la CMI correspondant à l'intersection des 2 ellipses. On compare ces résultats aux valeurs critiques figurant dans le tableau récapitulatif des valeurs critiques pour les CMI de *S pneumoniae* (tableau IX). Puis, On Classe la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.

Tableau IX: Valeurs critiques des CMI de *S pneumoniae* [55].

Antibiotiques testés	Valeur critique CMI (mg /ml)		
	R	I	S
Pénicilline parentérale (non méningite)	≥8	4	≤2
Amoxicilline	≥8	4	≤2
Imipénème	≥1	0.25-0.5	≤0.12

5.3. Recherche de la β-lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* [55]

Les β-lactamases à spectre élargi ou étendu désignent des enzymes produites principalement par les entérobactéries entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3^e génération (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et aux monobactam

(aztreonam), mais n'ont aucune activité vis-à-vis des céphamycines (cefoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipénème).

On recherche une BLSE lorsque le diamètre des céphalosporines de troisième génération ou de monobactame est inférieur aux valeurs suivantes : cefotaxime (CTX \leq 27mm), ceftazidime (CAZ \leq 22mm), ceftriaxone (CRO \leq 25mm) et aztréonam (ATM \leq 27mm).

a. Méthode de détection de la BLSE chez les entérobactéries

a.1. Test de synergie

Principe

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam).

Technique

Pour les entérobactéries, la recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme. En déposant des disques de céftazidime, céfotaxime, céfepime et aztréonam (30 μ g chacun) à une distance définie (centre à centre) d'un disque d'AMC (amoxicilline-clavulanate) (10 μ g).

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre l'AMC et le Cefotaxime, l'AMC et le ceftazidime ou bien l'AMC et l'aztréonam. L'absence d'une image de synergie, peut être dû à :

- la synthèse d'une BLSE de type CMT (complexe mutants TEM). La recherche de cette dernière, se fera en rapprochant les disques AMC-CTX de 25mm au lieu de 30mm.
- l'association de plusieurs mécanismes (BLSE+ Céphalosporinases hyperproduites). La recherche des BLSE chez les souches hyperproductrice de céphalosporinase se fait par la neutralisation de la céphalosporinases en utilisant de la Cloxacilline (qu'on n'a pas pu faire par manque de moyen).

a.2. Test de confirmation (technique du double disque) [55]

Ce test devra être fait systématiquement devant l'absence de synergie avec diminution des diamètres des céphalosporines de 3^{ème} génération.

Technique

A partir d'une culture de 18h, on prépare une suspension d'une opacité égale à 0.5McF selon la technique de l'antibiogramme. Puis, on ensemence par écouvillonnage la boîte de Mueller Hinton.

Application des disques d'antibiotiques

On dépose un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (céfotaxime 30 µg) à une distance de 30mm (centre à centre). On laisse diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse) la boîte sera déposée le couvercle vers le haut. Après 1 H d'incubation, on ôte le disque d'AMC pour le remplacer par un disque de Cefotaxime ou Ceftriaxone. On incube la boîte 18H à 37°C.

Lecture

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^e génération appliqué après diffusion du disque AMC est supérieur ou égal à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporines de 3^e génération.

Résultats et discussion

Notre étude a été portée sur des malades reçus au niveau de l'Établissement Public Hospitalier (EPH) de Boufarik, la wilaya de Blida. Durant notre pratique du 04 mars 2019 au 31 mai 2019, un total de 348 hospitalisations ont été enregistrées (dont une minorité était d'une provenance externe). Au cours de cette période, 50 épisodes septicémiques ont été diagnostiqués sur une population, incluant différentes tranches d'âge.

I. La place de l'hémoculture parmi les prélèvements bactériologiques

Les résultats montrent un taux élevé de (46 %, 37 %) pour le prélèvement du liquide céphalo-rachidien (LCR) et de prélèvement urinaire respectivement, et d'un faible taux de (10%) pour le prélèvement d'hémoculture, (5%) représente le prélèvement de pus et uniquement un taux de 1% du prélèvement de parasitologie et coproculture. La figure suivante représente les différents taux obtenus.

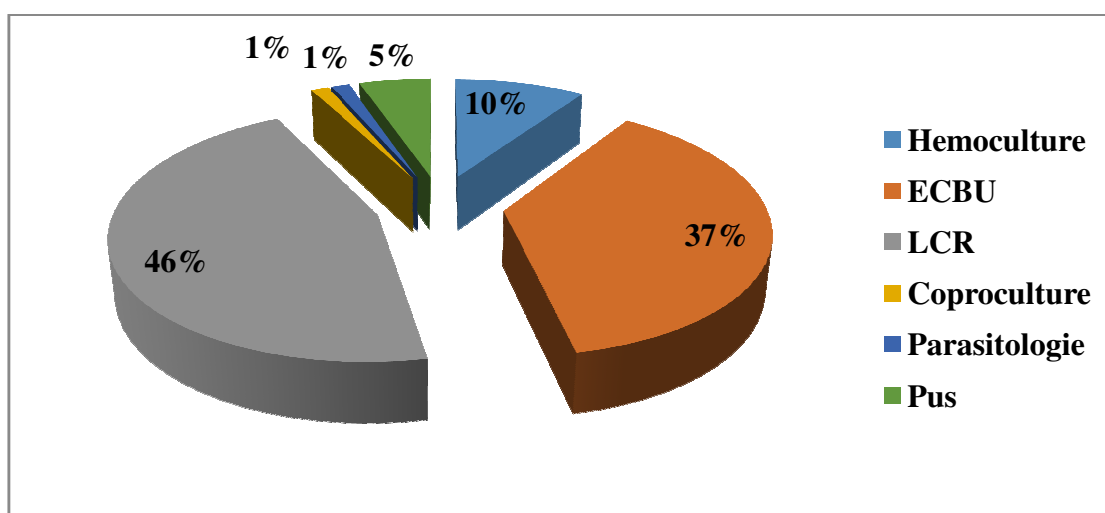


Figure 10 : La place de l'hémoculture parmi les prélèvements bactériologiques.

Le faible taux de prélèvement d'hémoculture est logiquement dû à l'absence de critères motivant la prescription des hémocultures (critères de SRIS, Sepsis et de choc septic). L'hémoculture est l'examen du dernier recours ; elle est indiquée uniquement lorsque les symptômes, comme la fièvre, sont prolongés et inexplicables (absence de porte d'entrée ou bien d'infection apparente) [56].

Ce constat est différent de celui de l'étude réalisée au Centre Hospitalier Régional Universitaire de Nancy qui a montré que l'hémoculture est le prélèvement le plus fréquent en milieu hospitalier avec un pourcentage de 37% [57]. En effet, Les hémocultures font partie des examens les plus prescrits dans la pratique hospitalière des pays développés, environ

30.000 par année aux Hôpitaux Universitaires de Genève, bien que leur rendement soit faible ; seulement 4 à 7 % des hémocultures reviennent positives, pour un coût de prélèvement non négligeable [58]. A celui-ci s'ajoutent les conséquences liées aux contaminants (examens complémentaires, jours d'hospitalisation supplémentaires), pouvant accroître les coûts d'un séjour hospitalier [58]. Cette surprescription de l'hémoculture est probablement due à la surestimation des cliniciens sur la probabilité que le patient ait une bactériémie :

En pratique clinique hospitalière, il est d'usage de réaliser des hémocultures pour tout patient présentant une température supérieure à 38° ou 38,3° C selon les centres. La littérature Pourtant ne permet pas d'appuyer cette stratégie : en effet, l'élévation de la température (37,8° à > 40° C) n'est pas proportionnellement corrélée à un risque de bactériémie plus important. Selon l'étude de Coburn (2012), la présence ou l'absence d'état fébrile ne permet pas d'augmenter ou de diminuer la probabilité qu'un patient soit bactériémique. En revanche, les frissons et particulièrement les frissons solennels semblent plus prédictifs [59]. A noter que la sensation subjective de fièvre, souvent rapportée par les patients, est également peu suggestive. Dans l'optique de la pratique d'une médecine la plus *cost-effective* possible, l'habitude consistant à réaliser d'emblée une hémoculture chez tout patient fébrile pourrait être remise en question, ou en tout cas devrait être intégrée au contexte clinique plus global du patient [58].

En outre, L'invasion du sang par un pathogène provient le plus souvent d'une source infectieuse focale s'étant disséminée, moins souvent d'une source primaire non identifiable. Si une endocardite mène toujours à une bactériémie, certains autres types d'infections restent localisés dans la plupart des cas. Coburn et coll. montrent en 2012 que la source de l'infection nous permet de stratifier les patients en trois groupes : ceux à bas risque (< 14 %), à moyen risque (19-25 %) et à haut risque (38-69 %) de bactériémie [59]. Ainsi, les patients atteints de cellulite ou encore de pneumonie acquise en communauté ont un faible risque d'être bactériémiques, contrairement au patient en choc septique ou souffrant de méningite bactérienne aiguë. De façon intéressante, on note qu'un patient susceptible d'être traité en ambulatoire n'a que peu de risque d'être bactériémiques.

Comme paramètre augmentant les chances de positivité d'une hémoculture, on retient le choc septique, les frissons ou la suspicion de bactériémie à *Staphylococcus aureus*. L'état fébrile est peu indicatif. Il existe aussi des scores permettant de déterminer la probabilité

qu'une hémoculture revienne positive ; ils sont peu spécifiques, permettant principalement d'éviter le prélèvement de certaines hémocultures ayant un haut risque de revenir négatives [60,61]. Actuellement, Prédire une bactériémie à germe résistant fait partie des nouveautés en infectiologie [62].

II. Résultats des hémocultures

1. Interprétation des résultats

Le problème de la subjectivité dans l'interprétation d'une hémoculture positive joue certainement un rôle dans les différences de résultats observés dans la littérature et il faut ainsi relever la difficulté d'établir la signification clinique des isolats de faible virulence. La surévaluation de résultats positifs peut entraîner des problèmes de santé publique et économiques, puisqu'elle conduit à l'utilisation excessive des antibiotiques, favorisant secondairement le développement de résistances [63].

Des critères microbiologiques d'évaluation ont été développés pour aider le clinicien à déterminer la signification d'une hémoculture positive, notamment pour les staphylocoques coagulase-négative. Tel que l'analyse quantitative de la croissance des germes (CFU/ml), la rapidité de croissance en culture et le nombre d'hémocultures positives sur le nombre total effectué [63], qui est le critère d'évaluation utilisé au sein de l'unité de bactériologie de Boufarik. Schématiquement, ce critère permet de distinguer 3 types de résultats :

1^{er} cas : plusieurs des hémocultures pratiquées chez un malade sont positives et contiennent la même bactérie. Le diagnostic de septicémie peut alors être considéré comme posé et la bactérie isolée est considérée comme responsable. La plupart du temps les hémocultures sont mono microbienne. Cependant, dans certains cas (foyer poly microbien, origine digestive, immunodépression, brûlures tendues,...), plusieurs bactéries peuvent être retrouvées dans la même hémoculture ou dans des hémocultures défèrent pratiquées successivement chez le même patient. Les problèmes d'interprétation qui se posent alors sont en général réglés quand le foyer est localisé [49].

2^{ème} cas : sur l'ensemble des hémocultures pratiquées. Une seule est positive dans ce cas, l'interprétation se réduit à démontrer que le germe isolé est, ou non, une contamination. En effet, 10à15% des hémocultures positives sont des hémocultures souillées au moment du prélèvement [49].

- S'il s'agit d'une bactérie au pouvoir pathogène indiscutable (salmonelles, brucelles, etc.), elle peut être considérée comme responsable [49].
- S'il s'agit d'une bactérie peut fréquemment retrouvés comme germe de souillure (entérobactéries, streptocoques). Elle pourra être considérée comme responsable si elle est par ailleurs découverte dans un foyer infectieux ou si le contexte clinique est en faveur de sa responsabilité [49].
- S'il s'agit d'une bactérie fréquemment responsable de contamination (*Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus sp.*, *corynebactérie*), le même germe devra être découvert au niveau du foyer infectieux ou de la porte d'entrée pour être considéré comme responsable. Des arguments de fréquence pourront également être retenus (par exemple septicémie à *S. epidermidis* chez les porteurs de matériel étranger intravasculaire comme un cathéter ou une valve cardiaque). Une bactériémie après manipulation chirurgicale pourra également être évoquée (avulsion dentaire, cathétérisme urinaire, etc.) [49].

3^{ème} cas : toutes les hémocultures prélevées sont négatives. Un tel résultat est un bon argument pour éliminer une cause infectieuse à une fièvre, à condition que les hémocultures aient été correctement prélevées aux bons moments et en nombre suffisant [49].

2. Répartition des résultats des hémocultures

Sur les 348 hémocultures réalisées, 50 non répétitives sont positives, soit 14% (les germes isolés ont été considérés comme ayant une potentialité pathogène) et 298 sont négatives, soit 86%. La figure suivante représente les différents taux enregistrés.

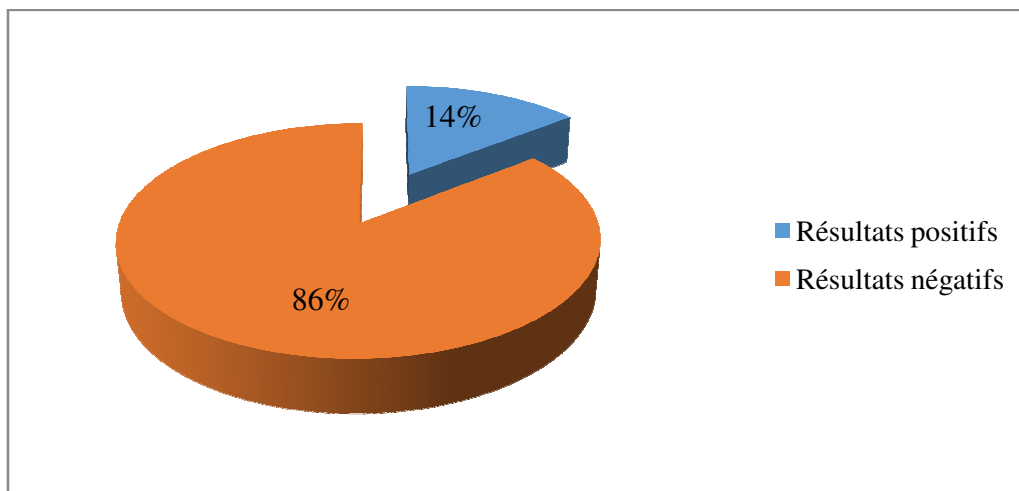


Figure 11 : Répartition des résultats des hémocultures.

Dans la présente étude, les fréquences révèlent un faible taux de résultats positifs (14%). Ce qui rejoint les données d'une autre étude faite en France qui a porté sur la description de l'épidémiologie et des facteurs de risque des bactériémies acquises chez les patients sous oxygénation par membrane extracorporelle (ECMO) [64].

Ce faible rendement est probablement dû à la difficulté de détection de bactériémies. Un état bactériémique se caractérise par le passage répété de micro organismes dans le sang, chez l'adulte bactériémique, la densité bactérienne est généralement très faible (la charge bactérienne du sang excède rarement quelques bactéries par millilitre de sang et cette proportion peut s'abaisser jusqu'à une bactérie pour dix millilitres). Lors de bactériémies chez l'enfant, le nombre de bactéries dans le sang, généralement plus élevé, se situe entre 100 à 1000 UFC.ml⁻¹. Cette différence peut s'expliquer par l'immaturation du système immunitaire chez les jeunes enfants qui élimine donc moins efficacement les bactéries de la circulation sanguine. Le sang constitue donc un environnement extrêmement inhospitalier pour les bactéries, exposées aux cellules du système immunitaire et à diverses protéines de défenses (anticorps, peptides antimicrobiens) dont l'action conjointe a pour effet de lyser les bactéries. La très faible charge bactérienne sanguine en est la conséquence [65].

De plus le Moment optimal pour prélever est difficile à déterminer ; La plupart des lignes directrices indiquent que les échantillons de sang doivent être prélevés au moment du pic fébrile et de frissons, mais ses signes sont non spécifiques et non discriminants [66].

En dehors de l'absence de bactériémie ou de fongémie, le taux élevé de résultats négatifs est peut être due à des facteurs qui ont faussé les résultats d'hémocultures [67] :

En effet, un traitement antibiotique préalable peut en être la cause. Dans ce cas, il faut renouveler les prélèvements d'hémocultures à distance de toute antibiothérapie (après une fenêtre thérapeutique) lorsqu'il n'existe pas d'indication à une antibiothérapie immédiate (signes de gravité, immunodépression) [67].

D'une autre part, la Sensibilité de détection augmente avec le volume total de sang mis en culture. Pour un adulte, idéalement entre 8 à 10 millilitres de sang doivent être introduits dans chaque bouteille, mais le sous-remplissage est fréquent, parfois au détriment de la sensibilité. Chez l'enfant, la mise en culture de trois millilitres de sang par bouteille est préconisée, d'une part car la charge bactérienne plus élevée ne justifie pas un volume aussi

important que chez l'adulte, et d'autre part car le volume total de sang prélevé ne doit pas excéder 1% du total de l'organisme pour ne pas provoquer d'anémie [65].

La négativité peut être encore due à Une infection par un micro-organisme à croissance lente ou difficile [champignon, bactérie HACEK (Haemophilus, Actinobacillus , Cardiobacterium , Eikenella, Kingella), streptocoque déficient, brucella] nécessitant des milieux de culture spécifiques et /ou une mise en culture prolongée des prélèvements ou bien l'infection à un micro-organisme ne cultivant pas en hémoculture (*Coxiella burnetti*, Chlamydia, Legionella) [67].

3. Le taux de faux positifs

La répartition détaillée des résultats des hémocultures indique que 44(13%) des prélèvements ont été considérés comme des faux positifs liées à la souillure lors du prélèvement (contaminants), Seulement 6 SCN (soit 2%) ont été pris en considération. Par ailleurs, des Faux positifs liées au bactalert ont été notés d'un pourcentage de 19 (5%). Le diagramme circulaire suivant représente les différents taux.

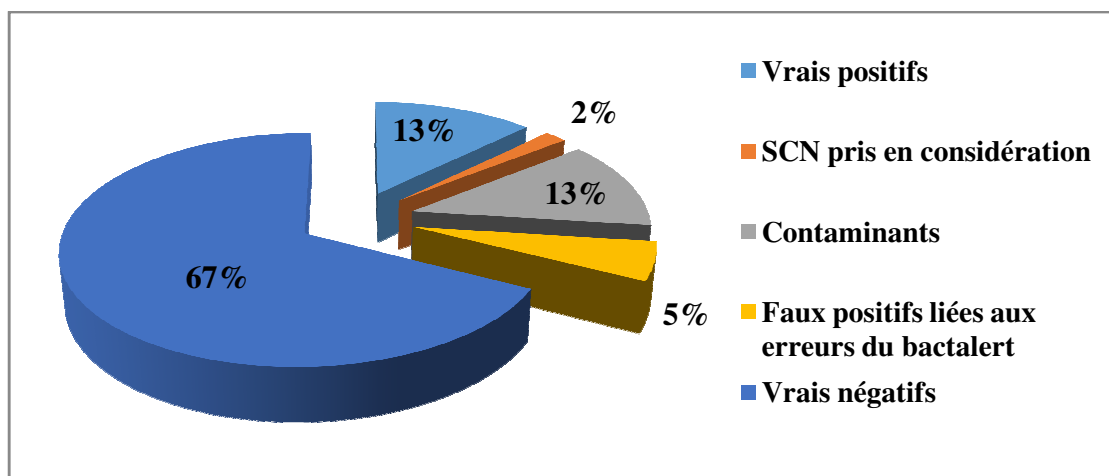


Figure 12 : Répartition détaillée des résultats des hémocultures.

➤ Faux positifs liées au bactalert

Si un flacon d'hémoculture est détecté positif par le bactalert et on n'observe aucun germe ni à la coloration de Gram, ni au repiquage sur géloses-chocolat incubé sous CO₂, il peut donc s'agir d'un faux-positif [6]. Ce type de phénomène peut être expliqué par trois causes principales :

La technologie de détection de positivité étant basée sur le taux de dégagement de CO₂ des bactéries, tout autre facteur modifiant la concentration de ce gaz perturbe le seuil d'alerte. Ainsi, un relargage de CO₂ plus important peut se rencontrer chez les patients à insuffisance respiratoire placés sous oxygénothérapie. Dans le cas d'hyperleucocytose, c'est une élévation de CO₂ liée à la forte densité de cellules qui faussera la détection. En effet les leucocytes consomment de l'oxygène et produisent en retour du CO₂ pouvant tromper l'automate. Enfin, en cas d'alimentation parentérale riche en lipides, la décarboxylation des lipides peut augmenter la production d'ions H⁺, lesquels sont tamponnés par les ions HCO₃⁻ avec relargage de CO₂. La détection de volume de sang optimal, pour les flacons, est de 8 à 10 ml. Des volumes supérieurs à 10 ml peuvent entraîner des faux-positifs [68].

La température, en effet, le système de détection par fluorescence est très sensible à la température ; un flacon trop froid peut entraîner une fausse positivité (mais les flacons prélevés ne sont en principe pas placés au réfrigérateur avant d'être acheminés vers le service, quoiqu'il faille parfois le rappeler aux services...). La température de la pièce, où est situé l'automate, doit être la plus stable possible, en particulier lors de l'ouverture de l'appareil [6].

La troisième cause peut être la mauvaise utilisation; Un chargement incorrect des flacons dans l'automate par l'utilisateur pourrait être la conséquence d'un résultat négatif pour un patient dont le résultat aurait pu être positif, ou d'aucun résultat pour des flacons qui ne sont pas reconnus comme étant chargés dans l'instrument [6].

➤ Les contaminants

Les contaminations ne sont pas rares et réduisent la spécificité des hémocultures. La littérature scientifique fait état de taux de contamination pouvant aller jusqu'à 50% de l'ensemble des hémocultures positives (correspondant à jusqu'à 8% de l'ensemble des hémocultures prélevées). Au sein de l'Hôpital universitaire de Bâle, une étude récente a révélé que, sur un an, 20% de l'ensemble des hémocultures positives ont été évaluées par l'équipe d'infectiologie comme contaminées. Les conséquences d'hémocultures faussement positives (contaminants) ne doivent pas être sous-estimées. Elles sont d'une part associées à des coûts supplémentaires qui ne sont pas engendrés par le seul laboratoire, mais surtout par la nécessité de réaliser d'autres examens (nouvelles hémocultures, recherche de foyer, etc.), à un allongement du séjour hospitalier et des traitements antibiotiques inutiles, et au remplacement des cathéters veineux central (CVC). D'autre part, les hémocultures contaminées provoquent l'incertitude des cliniciens, car il est à première vue nécessaire

d'envisager une réelle bactériémie. Une évaluation rapide du résultat positif est nécessaire car, en cas de bactériémie, la durée avant l'administration d'un antibiotique adéquat est positivement corrélée à la mortalité [69].

Dans cette étude les résultats montrent un taux de contamination considérable (13%) des hémocultures prélevées (soit 21 *Staphylococcus* coagulase négative (SCN) (48%), 8 *Corynebacterium* sp (18%), 3 *Bacillus* sp (7%) et 27% non déterminés, par rapport au total des contaminants). Ce taux de contamination est probablement liés au mode de prélèvement, la ponction veineuse au travers d'un dispositif invasif (cathéter) et résulte d'une asepsie incomplète. Lors de prélèvements par ponction directe (transcutané) les taux de contamination par hémocultures prélevées peuvent varier de 1 à 5 % [70]. La contamination peut se réaliser au laboratoire alors que l'échantillon est cultivé. La désinfection soigneuse du site de prélèvement, des bouchons des flacons d'hémoculture, des mains de l'opérateur ainsi que le port du masque ou la limitation de la parole lors du prélèvement sont des mesures efficaces qui permettent de réduire le taux de contamination des hémocultures [6].

➤ SCN pris en considération

Les staphylocoques coagulase négative sont considérés comme d'éventuels contaminants car ils appartiennent à la flore cutanée et sont peu pathogènes. Pour conclure à une bactériémie, le contexte clinique doit être compatible (ex : porte d'entrée cutanée [infection sur cathéter, toxicomanie..], neutropénie) et au moins deux flacons d'hémoculture doit être positives au même agent infectieux, en l'absence d'autre agent infectieux [67].

Dans cette étude 6 SCN (soit 2%) ont été pris en considération ; Les patients porteurs étaient soit immunodéprimés (en cas d'immunodépression tout germe est pris en considération), soit atteints d'endocardite. En effet une étude prospective de la collaboration internationale de l'endocardite qui a porté sur la détermination des caractéristiques cliniques et des facteurs prédictifs de résultats chez les patients avec valve native a montré que 7.8% des endocardites sur valve native sont dues à des SCN. Les staphylocoques (*S. aureus* et staphylocoques à coagulase négative) occupent désormais la première place des bactéries isolées devant les streptocoques et les entérocoques comme étant responsables d'endocardite infectieuse [71].

4. Répartition des hémocultures positives par service

Parmi les souches isolées en milieu hospitalier, le service de maladie infectieuse occupe la première place avec un pourcentage de (74.99%) des hémocultures positives, suivi par (8.33%) en médecine interne, les 15% restantes correspondent à une provenance extérieure. La figure suivante montre les différents taux enregistrés.

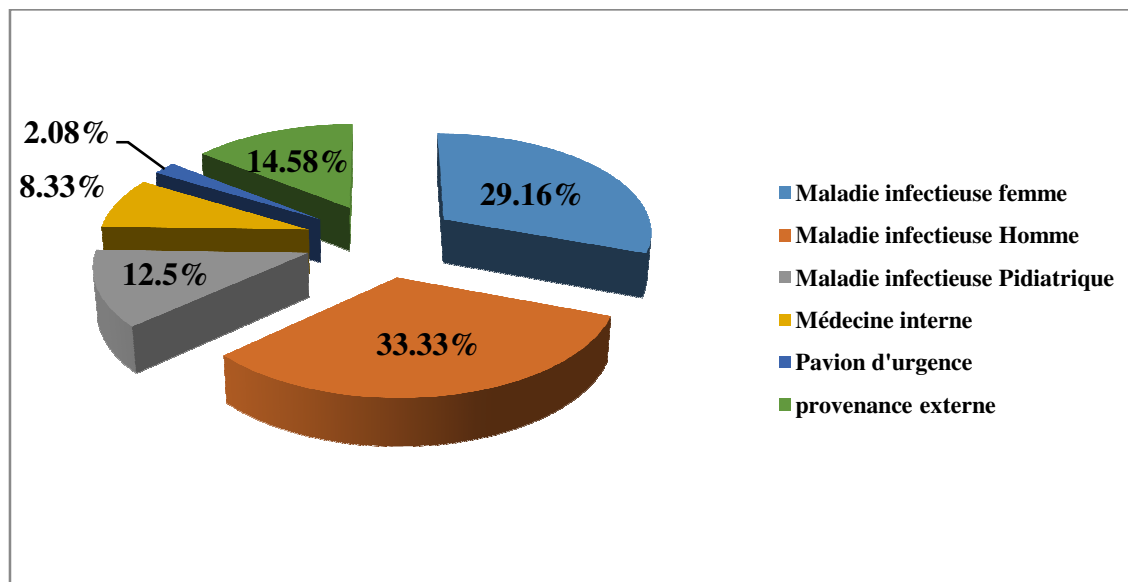


Figure 13 : Répartition des hémocultures positives par service.

Les résultats montrent que la majeure partie des hémocultures positives émane du service des maladies infectieuses (MIF : 29.16%, MIH : 33.33% et MIP : 12.5%); chose qui est due au fait que les malades présentant un syndrome infectieux sérieux sont orientés automatiquement vers ce service. Alors que le service qui a le plus faible pourcentage de positivité des hémocultures est celui de la médecine interne (MI : 8%) et des urgences (PU : 2%). Ces résultats concordent avec ceux d'une étude rétrospective menée à DAKAR de KIZERBO et coll. (1996), qui a porté sur la description du profil épidémiologique des isolats d'hémocultures du CHU de Fann, qui a eu un taux de 95,25% pour le service des maladies infectieuses Fann, 1,50% à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer et 0,5 % en pneumologie [72].

Par contre une autre étude d'ANKOANDE H. à Burkina Faso en 2002, a montré que les services qui ont le plus fort pourcentage de positivité des hémocultures sont ceux de la médecine interne avec 60,3%, de la pédiatrie avec 23% et de la pneumologie avec 6,3 % [73]. Aussi, celle d'ANAGONOU et coll. (1993) à Cotonou ont cité des taux intermédiaires dont 27,8 % dans le service de Médecine et 43,2 % dans le service de pédiatrie [74].

Tous ces résultats sont disparates d'une étude à l'autre. Ces différences peuvent être expliquées par la différence de recrutement dans les structures (il y a pas de médecine interne

au C.H.U de Fann mais plutôt un service de neurologie associé à celui des maladies infectieuses), les retards à l'acheminement des prélèvements mais aussi et surtout par l'utilisation abusive des antibiotiques en automédication [72].

5. Répartition des hémocultures positives par sexe

Parmi les souches isolées d'hémocultures positives, (60%) proviennent des hommes et (40%) de femmes. On remarque qu'il ya une prédominance de sexe masculin par rapport au sexe féminin. La figure suivante montre les différents taux obtenus.

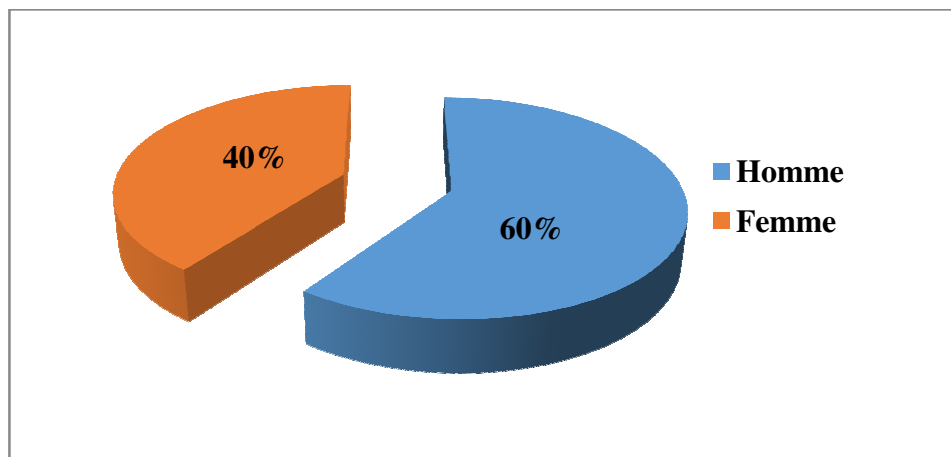


Figure 14 : Répartition des hémocultures positives par sexe.

Dans la présente étude, les fréquences révèlent une prédominance masculine, ce qui rejoint les données d'autres études qui affirment que les hommes sont plus susceptibles que les femmes de développer une septicémie [75].

Des études attribuent cette différence aux facteurs sociaux et environnementaux, à la prédisposition génétique, et les différences dans la réponse immunitaire de l'hôte à l'infection [76]:

Les hommes sont plus exposés aux dangers extérieurs (nature de travail, accident de route...) qui favorisent les portes d'entrées cutanées (plaies, blessures profondes), à la toxicomanie par voie parentérale etc. [77,78].

Une étude en Europe, mettant en évidence des inégalités entre hommes et femmes au niveau du système immunitaire, explique le rôle des œstrogènes et des androgènes dans les différences entre les deux sexes dans les résultats du sepsis [79].

6. Répartition des hémocultures positives par âge

Les tranches d'âge les plus représentées étaient celles de 60 à 104 ans (51%) suivies de 17 à 55 ans (39%). La figure suivante représente ces différents taux enregistrés.

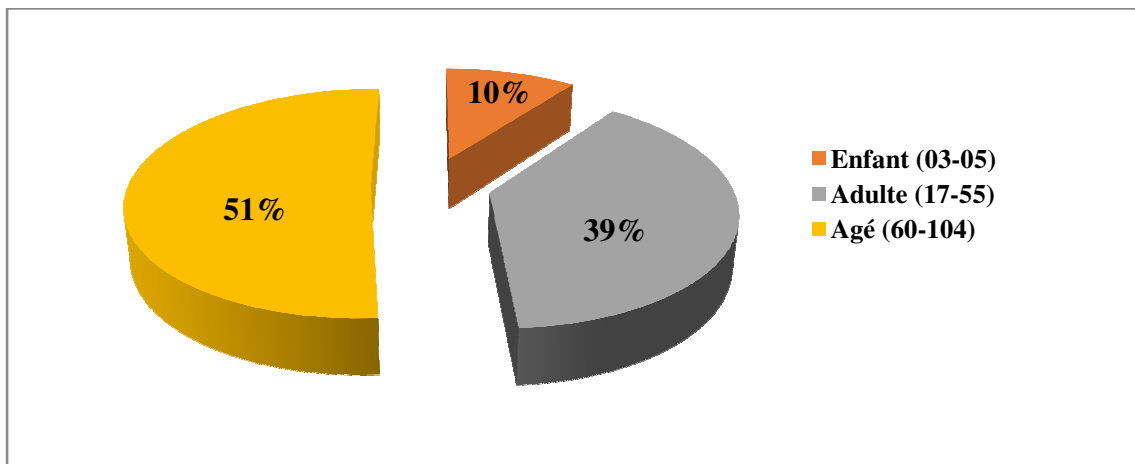


Figure 15: Répartition des hémocultures positives par âge.

Le principal facteur de risque rapporté dans la littérature semble être l'âge. La prédominance de personnes âgées concorde avec la théorie. Les sujets âgés ont non seulement une altération physiologique de leur système immunitaire, mais aussi, fréquemment différentes pathologies chroniques (insuffisances cardiaque, pulmonaire, rénale...) favorisant la survenue du sepsis ; plusieurs facteurs expliquent ce phénomène : l'altération des différentes barrières anatomiques limitant habituellement les infections (ex : barrière ciliaire de l'arbre bronchique) et l'exposition aux soins médicaux invasifs (sondage viscérale abords veineux, artérielles et sondes d'intubation), choses qui favorisent la prolifération microbienne voire bactériémie[80]. Une étude aux Etats-Unis d'Amérique a montré que le taux d'hospitalisation pour une septicémie était beaucoup plus élevé pour les personnes âgées de plus de 65 ans que pour ceux de moins de 65 ans [81]. Des études en Espagne et en France ont confirmé que les patients de plus de 70 ans restent les plus touchés par la septicémie [82, 83].

Par contre, de nombreux facteurs de risque de sepsis sont liés à l'activité de l'hôte lui-même, notamment les sujets jeunes qui sont exposés à différents facteurs toxicomanie, infection à HIV, accident de travail et de circulation (plaies). Ceci concorde avec les résultats d'une étude faite à RABAT qui montre que la tranche d'âge de 36 à 60 ans était la plus touchée (48% des cas) [80].

7. Les différentes portes d'entrée suspectées des septicémies acquises

Le tableau suivant montre les portes d'entrée suspectées les plus fréquentes selon la nature de l'infection primitive (communautaire ou nosocomiale). Les épisodes à point de départ urinaire prédomine avec (40%, soit 20/50), suivi des sources pulmonaire (12%, 6/50).

Tableau X : Répartition des différentes portes d'entrée suspectées des septicémies.

	Origine	Nombre	Taux(%)	Total(%)
Infection communautaire	Infection urinaire	13	26	64
	Maladie respiratoire	6	12	
	Endocardite	2	4	
	Digestive (Brucellose)	3	6	
	Immunodépression (HIV)	4	8	
	Plaies cutanées	4	8	
Infection liée aux soins	Infection urinaire dû aux sondes	7	14	30
	CVC / Anesthésie	2	4	
	Plaies chirurgicales	3	6	
	Toxicomanie	3	6	
Origine d'infection inconnue		3	6	6

CVC : Cathéter veineux central

D'après le tableau, les infections nosocomiales sont minoritaires (30%) par apport aux infections communautaires (64%) chose qui est bien logique du fait qu'elles sont des complications (accidents) liées aux soins invasifs (sondes, cvc..). En outre, les bactériémies secondaires à une infection urinaire représentent le foyer le plus fréquent (40 %) parmi les bactériémies déclarées. Ce qui corrobore la conclusion Formulée de deux études (l'une effectuée en Angleterre, l'autre aux états unis) qui ont approuvé que les voies urinaires constituaient le foyer d'infection le plus incriminé dans les bactériémies nosocomiales et

communautaire suivi de la porte d'entrée pulmonaire [84, 85]. Les résultats de la présente étude sont différents de ceux d'une étude, intitulée «Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study», Dont le poumon était le site d'infection le plus courant (68%) suivi de celle de l'abdomen (22%) [86].

En 2006 aux Etats-Unis, les infections du tractus urinaire ont été à l'origine de onze millions de visites médicales et 500 000 hospitalisations, et d'un coût de 3,5 milliards de dollars. Plus de 30% des femmes et environ 10% des hommes souffrent au moins une fois dans leur vie d'une infection urinaire [87, 88]. Elle se définit par la présence d'une symptomatologie clinique telle que le besoin impérieux d'uriner, dysurie, voire même hématurie, appelée plus généralement cystite ou bien infection urinaire basse. En absence de traitement ou dans certaines conditions comme l'immunodépression, résistance des souches etc., cette pathologie peut devenir aigues ou chroniques est atteindre les tissus rénales, on parle d'une infection urinaire haute (pyélonéphrite) qui se présente par un état fébrile avec douleurs à l'ébranlement de la loge rénale. C'est uniquement à ce stade, qu'une infection systémique peut en résulter ; la littérature rapporte que la pyélonéphrite est la cause la plus fréquente de bactériémie Gram négative [89].

8. Répartition des souches retrouvées dans les hémocultures positives selon le Gram et l'espèce

Les résultats illustrés ci-dessous indiquent une prédominance des bactéries à Gram négatif avec un pourcentage de (74%) par rapport aux bactéries à Gram positif (26%).

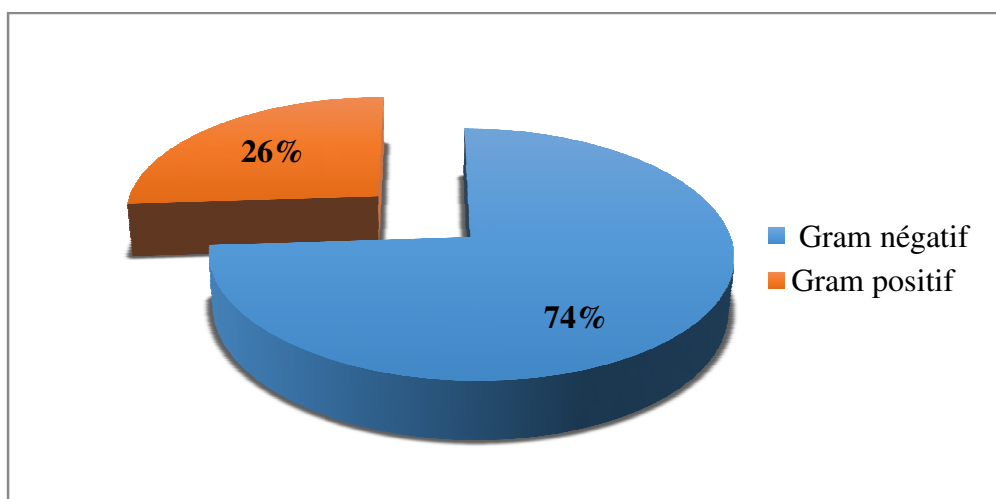


Figure 16 : Répartition des hémocultures positives selon le Gram.

En effet, Le profil bactériologique des septicémies pour notre étude était largement dominé par deux familles bactériennes : les Entérobactéries avec un taux de 54% et les Staphylocoques avec un taux de 20%. Le tableau suivant répartie les différentes espèces isolées.

Tableau n° XI: Répartition des différentes espèces isolées des hémocultures.

Gram	Groupe	Espèces	Nombre	Taux (%)	Total (%)
Gram négatif	Entérobactéries	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	12	74
		<i>Escherichia coli</i>	18	36	
		<i>Shigella flexneri</i>	1	2	
		<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	2	
	BGN non fermentaire	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	10	
	Autre BGN	<i>Brucella</i>	6	12	
Gram positif	Streptocoques	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	6	26
	Staphylocoques	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	8	
		<i>SCN</i>	6	12	

Une étude menée à RABAT a rapporté cette même prédominance des entérobactéries et des Staphylocoques, cependant à des pourcentages différents, elle rapporte que la majeure partie était pour les staphylocoques [80]. Pour ces derniers, ils sont souvent liés à des gestes invasifs ou bien des infections liées à un cathéter vasculaire.

Dans la présente étude, l'espèce la plus fréquemment isolée est *Escherichia coli* (36%). Ce constat rejoint celui d'une étude en Angleterre qui a démontrée que *Escherichia coli* a été la cause la plus fréquente de bactériémies, avec une incidence de 507 cas /million habitants en 2011 [90]. Ceci peut être interprété par l'origine urinaire et nosocomiale de l'infection, Chose qui est montrée dans le tableau X. En effet, une étude aux Etats-Unis a approuvée que les infections urinaires sont à l'origine de la majorité des bactériémies à *E. coli* et que ces dernières s'observent surtout chez les personnes âgées [85].

L'infection à *Pseudomonas aeruginosa* résulte d'une contamination par des manœuvres instrumentales endo-urinaires (sonde à demeure, uréthro-cystoscopie...) .Son opportunisme et sa virulence en font une préoccupation majeure. L'opportunisme de ce

pyocyanique est à l'origine de sepsis graves sur les terrains fragilisés: brûlures graves, immunodéprimés, malades de réanimation, ventilation assistée invasive, dispositifs invasifs (sonde, cathéters périphériques et centraux) [91].

Pour Les *Brucella*, La lenteur de croissance à l'isolement est caractéristique, ils nécessitent une conservation prolongée des prélèvements sur gélose Chocolat et incubation en aérobiose sous CO₂ pendant 48 heures à 04 jours. Cependant, ils ne posent pas de problème d'interprétation particulière, même lorsqu'ils ne sont isolés que dans un seul flacon. La bactériémie témoigne d'une situation de pathogénicité. Les *Brucella* sont responsables d'une anthroponose qui touche le monde rural et est répandue dans le monde entier. La brucellose est particulièrement fréquente sur le pourtour du bassin méditerranéen [92]. C'est est une bactérie facilement transmissible par aérosol, ce qui justifie son inscription sur la liste des agents infectieux de classe 3. Dans le contexte d'une très faible incidence de la maladie en France, les échantillons cliniques des patients brucelliques représentent une menace pour le personnel des laboratoires si les mesures de protection ne sont pas strictement appliquées. La manipulation et le traitement de prélèvements cliniques restent la première cause de brucellose autochtone dans de nombreux pays indemnes de brucellose animale [93].

III. Sensibilité des souches aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité des antibiotiques par la méthode de l'antibiogramme standard, selon les recommandations du CLSI 2014, a montré les résultats suivants :

1. Cas de *Klebsiella pneumoniae*

Les six souches de *Klebsiella pneumoniae* ont été testées et ont révélé une large sensibilité aux aminosides (Gentamicine, Amikacine), aux quinolones de 1^e génération (Acide Nalidixique NA) et 2^e génération (fluroquinolones : Ciprofloxacine), au chloramphénicol et à la colistine (CL). On a noté aussi une bonne sensibilité pour les céphalosporines de 1^e génération (céfazoline CZ) et 3^e génération (céfotaxime, CTX). Une sensibilité intermédiaire a été enregistrée pour la fosfomycine pour 3souches soit 50%. Cependant, Toutes les souches de *Klebsiella* isolées ont été résistantes à l'amoxicilline et à l'ampicilline. Ce qui est montré dans l'histogramme suivant.

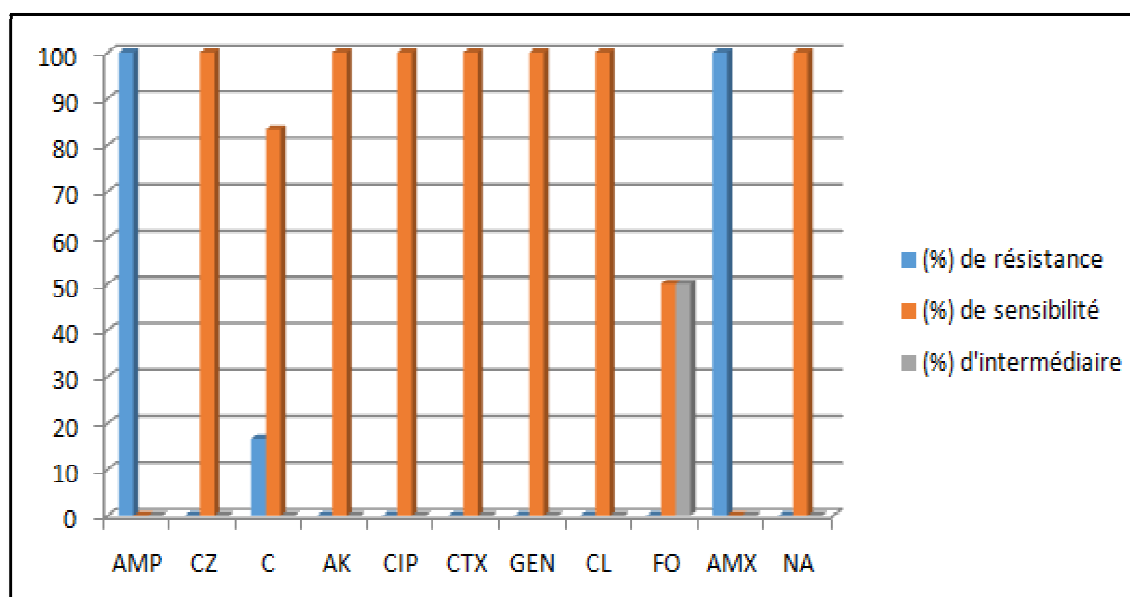


Figure 17 : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches *Klebsiella pneumoniae* isolées D'hémoculture.

Dans cette étude, les *Klebsiella* sont sensibles à la majorité des antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif, ce qui indique une forte probabilité de succès thérapeutique. Ce constat diffère de celui d'une étude menée au Cameroun qui montre une production de bêta-lactamase à spectre élargi (phénotype BLSE) chez 27 % des souches d'entérobactéries avec une prédominance pour les isolats de *Klebsiella pneumoniae* [94].

La résistance notée à l'amoxicilline et à l'ampicilline n'est pas surprenante ; puisque les *Klebsiella* ont une résistance naturelle aux amino et carboxy-pénicillines sous l'effet d'une pénicillinase chromosomique appelée SHV1 [95].

La sensibilité intermédiaire qui a été enregistrée pour la fosfomycine concorde avec la théorie qui dit que le genre *Klebsiella* a une sensibilité inconstante vis-à-vis de cet antibiotique. Dans ce genre de situation, La probabilité de succès thérapeutique est forte uniquement dans le cas d'un traitement par voie systémique avec une posologie forte ou lorsque l'antibiotique se concentre au site de l'infection [37].

2. Cas d'*Escherichia coli*

Les dix-huit souches d'*Escherichia coli* ont une large sensibilité (100%) à l'Amikacine (AK) et à la fosfomycine (FO) . Une bonne sensibilité a été aussi noté pour la Ciprofloxacine et au chloramphénicol. Il en est de même pour les céphalosporines (CZ,

CTX) ; une seule souche en était résistante. En contre partie, une résistance de (100%) a été notée pour l'amoxicilline et un faible taux de résistance pour les quinolones (NA, CIP) et l'ampicilline. Ce profil de sensibilité est montré dans l'histogramme suivant.

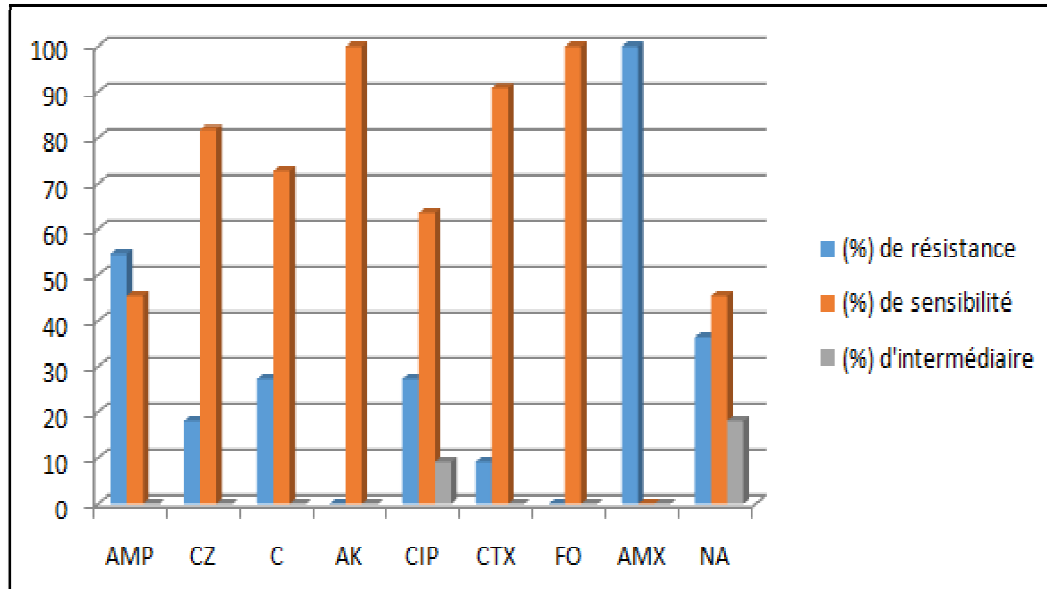


Figure 18 : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli*.

La résistance des souches d'*E. Coli* aux aminopénicillines (amoxicilline, l'ampicilline) est similaire à celle de l'étude menée à Madagascar qui a porté sur les phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* avec un taux de 94.1% [96]. Les souches d'*E. Coli* sont sensibles à toutes les bêta-lactamines, malgré la présence d'une céphalosporine chromosomique d'espèce de classe C qui est exprimée à très bas niveau (présente mais non détectable). Ce qui fait que cette résistance aux aminopénicillines est acquise et serait la conséquence de la pression de sélection liée à la consommation abusive de ces antibiotiques dans les pays en développement. Ces taux élevés de résistance à l'amoxicilline justifient que ces antibiotiques ne soient plus actuellement recommandés en traitement probabiliste des infections [96].

Une seule souche d'origine nosocomiale (attrapé lors d'une anesthésie péridurale) a été définie comme résistante au céfotaxime (céphalosporine de 3^e génération) avec un diamètre (CTX \leq 27mm). Cette diminution de l'activité du céfotaxime est due probablement à la production d'une bêta-lactamase étant donné que c'est le mécanisme le plus répandu chez les BGN. Ce ci reste à confirmer par l'analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines [96].

2. 1. Analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines d'*E. Coli*

➤ Le DD-test

Le test de synergie était positif, ce qui c'est traduit par l'apparition d'une image de synergie entre l'AMC et le Céfotaxime. La figure suivante illustre le bouchon de champagne.

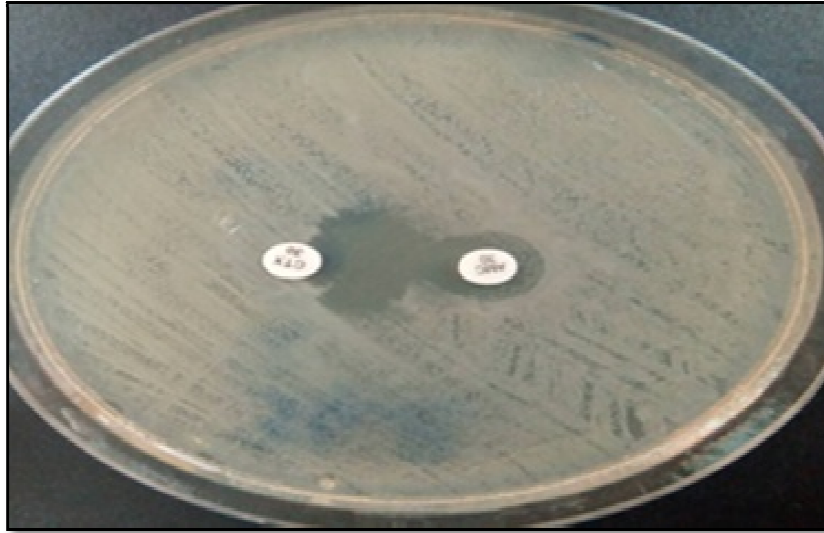


Figure 19 : Image de synergie positive sur gélose Mueller Hinton de la souche d'*Escherichia coli* (productrice d'une BLSE).

Les bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) engendrent une résistance à la majorité des bêtalactamines. Leur apparition dans les bactéries Gram négatif et leur dissémination coïncident avec l'utilisation d'antibiotiques à large spectre tels que les céphalosporines et les quinolones. Les bactéries productrices de BLSE peuvent occasionner des infections hospitalières et communautaires [97].

Chez *Escherichia coli*, les BLSE type TEM et SHV ont été décrites en premier dans le milieu hospitalier. Indépendamment, en milieu communautaire, ce sont les BLSE type CTX qui sont apparues dans *E. coli*, liées à des infections urinaires. Cependant, au cours des dernières années, on a observé une circulation des souches entre les milieux hospitalier et communautaire, ce qui rend difficile l'interprétation du type de BLSE dans ce cas [97].

Le test d'un disque d'imipénème a donné une bonne sensibilité. De ce fait les carbapénèmes restent les molécules de premier choix pour le traitement des infections par les bactéries productrices de BLSE.

La prévalence des BLSE varie selon les régions et les institutions. Elles sont les plus élevées en Europe méditerranéenne (> 20%) et en Amérique du Sud en comparaison à l'Europe du Nord et aux Etats-Unis (< 5%). En Suisse, en 2008, on estime à 3,3% le taux de prévalence de souches d'E.coli BLSE communautaires et à 4,6 % le taux des *E. coli* BLSE hospitaliers. Dans une étude espagnole, l'incidence d'infection a été estimée à 2,2 cas/100 000 personnes/an [97].

La détection d'une seule souche BLSE, est logiquement due à la prescription rationnelle d'antibiotiques à large spectre visant à diminuer la pression de sélection, pouvant favoriser l'émergence de bactéries productrices de BLSE.

3. Cas de *Pseudomonas aeruginosa*

Les cinq souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été testées. Les aminosides (Amikacine ,Tobramycine , Nétilmicine), Les quinolones (Lévofloxacine, Ciprofloxacine), les pénicillines (ticarcilline, pipéracilline) ,la céphalosporine (ceftazidime) ainsi que l'aztréonam ont eu une bonne activité (de 100%) sur les isolats de *Pseudomonas*. Ce-ci est illustré dans l'histogramme suivant (figure 20).

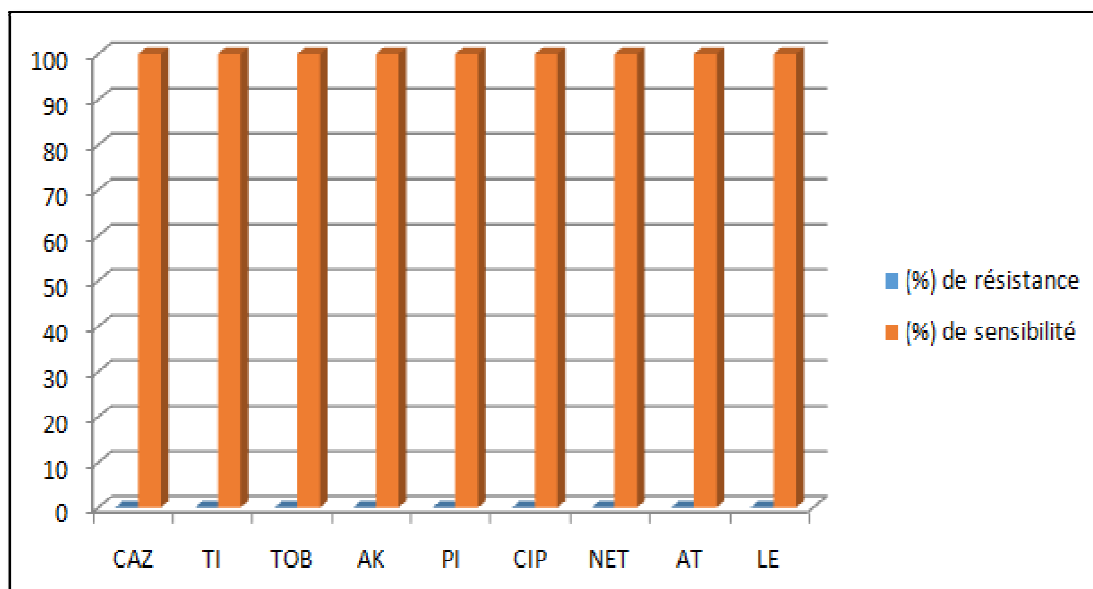


Figure 20 : Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

De nombreuses études menées sur l'épidémiologie et sur le profil de sensibilité des isolats d'hémoculture rapportent des taux de résistance à la ciprofloxacine, aux céphalosporines de troisième génération et à l'imipénème [62, 98, 94]. Ceci n'est pas

surprenant ; grâce à ses propriétés microbiologiques, le *Pseudomonas* possède des capacités d'adaptation et de mutation très rapide (l'antibiothérapie prolongée, la monothérapie et les posologies insuffisantes entraînent l'émergence de mutants tels que le *Pseudomonas aeruginosa* sérovar O.12 confirmé pour les quinolones et la ceftazidime. Certains Auteurs suggèrent de rechercher systématiquement ce sérotype. Voire envisager des mesures d'isolement en cas de confirmation. Le risque de mutation est accru pour la ciprofloxacine après une semaine de traitement) et la capacité d'acquérir très rapidement d'autres résistances soit par les mécanismes enzymatiques (protéases, bêtalactamases à spectre élargi [BLSE], type céphalosporinases, imipenèmases) soit par les mécanismes non enzymatiques (impermeabilité) [91].

Dans la présente étude, Cette large sensibilité détectée chez les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* est liée aux règles de prescription strictes des traitements de première intention dans les infections en attendant les résultats de l'antibiogramme. Qui imposent une association d'antibiotiques impérativement synergique et assurant une bactéricidie la plus efficace pour prévenir la survenue de mutants résistants (où la part des aminosides est essentielle. Les aminosides et les fluoroquinolones renforcent l'action des bêtalactamines) [91].

4. Cas de *Staphylococcus aureus*

L'analyse du profil de la sensibilité des 4 souches de *Staphylococcus aureus* montre des taux de sensibilité très élevés pour la plupart des antibiotiques utilisés ; avec un pourcentage de 100% : pour les β -lactamines (Céfoxitine), les glycopeptides (Vancomycine, Téricoplanine) les aminosides (Kanamycine, Amikacine Gentamicine), les macrolides (Erythromycine, Clindamycine), les quinolones (Ofloxacine, Lévofoxacine, Ciprofloxacine) et autres (Tétracycline et Rifampicine). En revanche nous remarquons une résistance de 75 % vis-à-vis de la Pénicilline et l'Oxacilline et une résistance de 25 % pour Chloramphénicol et l'acide fusidique. Ce qui est montré dans l'histogramme suivant (figure21).

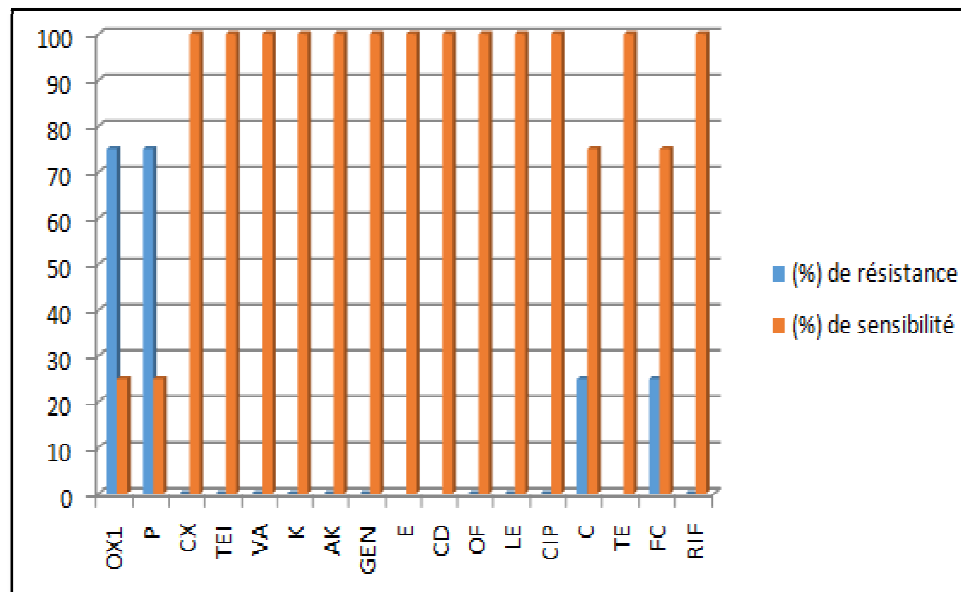


Figure 21: Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches *Staphylococcus aureus*.

L'étude de la sensibilité des *Staphylococcus aureus* montre des taux de sensibilité à la majorité des antibiotiques actifs, ce qui indique une forte probabilité de succès thérapeutique. Ce constat diffère de celui d'une étude menée au Maroc qui montre une résistance croisée à différentes classes d'antibiotiques, aminosides (59 %) et fluoroquinolones (38,7 %), ce qui complique la prise en charge thérapeutique des bactériémies à *Staphylococcus aureus* aboutissant à la prescription des glycopeptides avec toutes les conséquences que cela comporte en termes de coût et en termes d'émergence de souche de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides [98].

La résistance notée aux pénicillines n'est pas surprenante puisque les *Staphylococcus aureus* sont résistants à la pénicilline dès 1947, soit seulement quatre ans après l'utilisation à grande échelle de cet antibiotique [99].

En raison de la grande plasticité de *S. aureus* vis-à-vis des antibiotiques, il n'y a pas de recettes thérapeutiques régulièrement actives, d'où la nécessité de recourir toujours à l'antibiogramme et de tenir compte de la vitesse de bactéricide qui conduit à la prudence dans le traitement des bactériémies à staphylocoques et plaide pour une association avec un aminoside ou la rifampicine [100].

La durée du traitement des bactériémies à *S. aureus* dépend de la présence ou non de complications, de l'origine de la bactériémie (cathéter intraveineux), de la présence chez les patients d'un matériel prothétique. Elle fait l'objet de nombreuses controverses, Ces différences entre les études traitant l'ensemble des bactériémies d'un hôpital à un autre

témoignent de la difficulté d'interpréter les hémocultures positives à bactéries commensales [101].

5. Cas de *Staphylococcus non aureus* (SCN)

Les six souches identifiées de *Staphylococcus non aureus* (SCN) présentent des taux de sensibilité très élevés pour la plupart des antibiotiques utilisés ; avec un pourcentage de 100% : pour les glycopeptides (Téicoplanine), les aminosides (Amikacine), les quinolones (Ofloxacine, Lévofoxacine, Chloramphénicol) et autre (Rifampicine). Concernant les macrolides, une bonne activité de 83.33% a été remarquée pour la clindamycine.

En revanche, une résistance de 100 % a été notée vis-à-vis de la Pénicilline et de 83.33% vis-à-vis de l'Oxacilline et de la Céfexotime. En outre, un faible taux de résistance a été enregistré pour la kanamycine, la Tétracycline et l'Erythromycine. Le Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches *Staphylococcus non aureus* (SCN) est représenté dans l'histogramme suivant.

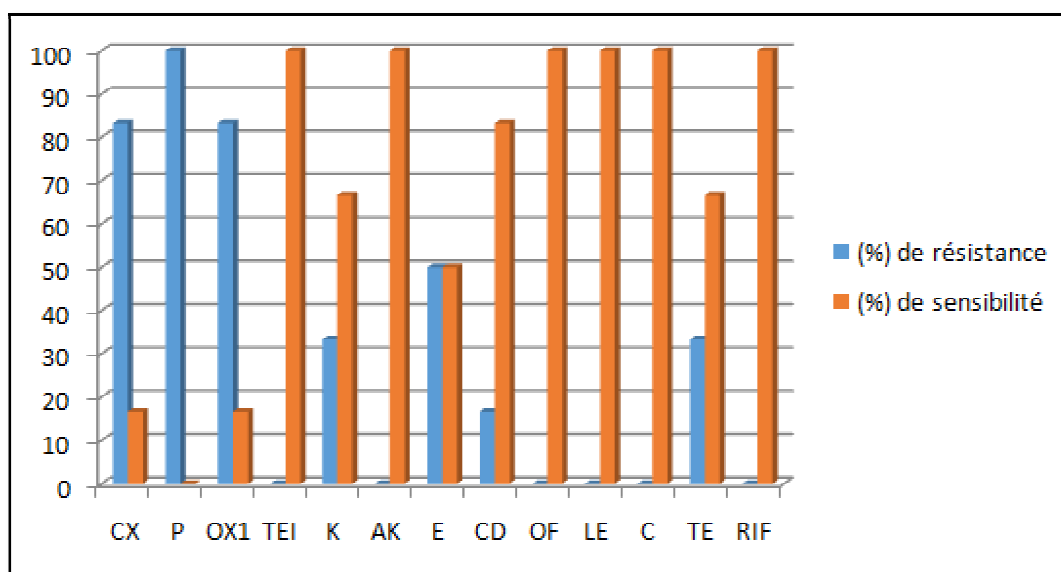


Figure 22: Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches *Staphylococcus non aureus*.

La fréquence d'isolement des (SCN) s'est accrue considérablement au cours des deux dernières décennies, selon une étude menée à DAKAR seulement 10 à 20 % de ces isolats ont une signification clinique [102]. Les *Staphylococcus non aureus*, souvent identifiés comme espèces non productrices de coagulase, sont les principaux commensaux de la peau et engendrent une sensibilité à un grand nombre d'antibiotique. Ce constat a été approuvé par l'étude présente.

Le problème lié à la résistance au β -lactamine (Pénicilline, l'Oxacilline et Céfoxitine) repose sur deux grands types de mécanismes: un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP [103].

6. Autres antibiogrammes

Pour les bactéries ayant un seul isolat, les résultats d'antibiogrammes sont notés dans le tableau suivant :

Tableau XII: Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches *Enterobacter aerogenes*, *Shigella flexneri* et *Streptococcus pneumoniae*.

Antibiogramme standard									
Antibiotiques / souches	AMP	CTX	CZ	AMX	AMC	AK	CIP	NA	FO
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R	R	R	S	S	S	S	S
<i>Shigella flexneri</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Antibiogramme standard de <i>S. pneumoniae</i>									
Antibiotiques / souches	RIF	LE	C	VA	E	CD	LE	OX ₁	
Profil de sensibilité	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CMI de <i>S. pneumoniae</i>									
Antibiotiques / souches	P		IPM			AC			
Profil de sensibilité	I		S			S			

R : Résistant S : Sensible I : Intermédiaire

L'antibiogramme a montré une bonne sensibilité de la souche *S. flexneri*. La théorie rapporte que cette bactérie est naturellement sensible à la plupart des antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif (Ampicilline, les tétracyclines, la colistine, aminosides et aux quinolones etc.). Cependant, cette sensibilité est irrégulière, rappelons que c'est au cours d'une

épidémie de shigellose que les plasmides de résistance multiple transférable ont été découverts au Japon. Aussi, aujourd'hui, le traitement doit être guidé par les résultats d'un antibiogramme [104].

L'antibiogramme et la CMI de la souche de *S. pneumoniae* ont montré une très bonne sensibilité pour tous les antibiotiques testés à l'exception de la pénicilline G qui a été d'une sensibilité intermédiaire.

Au niveau mondial, la répartition des souches *S. pneumoniae* résistantes à la pénicilline est irrégulière en France cette résistance à la pénicilline G est en progression, l'ensemble des souches à sensibilité anormale (CMI =0,1 mg/1) approche 5 % , ces souches anormales se répartissent entre souches de moyenne sensibilité (4,5 %) et souches réellement résistantes (0,5 %). la résistance à la Pénicilline est non transférable, non liée à la production d'une bêta-lactamase est d'origine chromosomique et due à des modifications des PLP. *S. pneumoniae* reste, malgré sa sensibilité aux antibiotiques, à la première place parmi les causes de mortalité par maladie infectieuse dans les pays développés [105].

D'après le tableau XII, La souche d'*Enterobacter aerogenes* est sensible à l'Amikacine, à la fosfomycine, à la Ciprofloxacine et à l'acide nalidixique. En contre partie une résistance est notée pour l'amoxicilline, l'ampicilline et aux céphalosporines (CZ, CTX).

La diminution de l'activité du céfotaxime (diamètre : CTX=20 ≤27mm), est due à la production d'une (BLSE) qu'on a confirmé par l'analyse des phénotypes de résistance aux β-lactamines.

6.1. Analyse des phénotypes de résistance aux β-lactamines d'*Enterobacter aerogenes*

➤ Le DD-test

Le test de synergie était négatif. La figure n° 23 illustre l'absence d'image de synergie (absence de bouchon de champagne). Ce qui a nécessité un test de confirmation

➤ Double disque (Test de confirmation)

Pour les souches qui ne présentent pas une image de synergie, un double disque est effectué pour trancher s'il ya production d'une BLSE. la figure suivante montre un test de double disque positif.

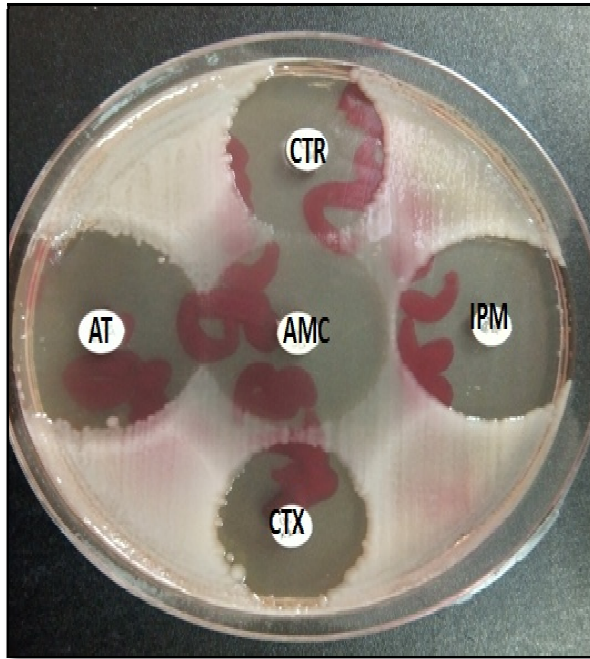


Figure 23: Test de synergie négatif sur gélose MH chez la souche d'*Enterobacter aerogenes* (absence de synergie).



Figure 24: Test de confirmation positif sur gélose MH chez la souche d'*Enterobacter aerogenes*.

L'absence de synergie et la positivité du test de confirmation est probablement due à la présence d'autres mécanismes de résistances surajoutés (céphalosporinases constitutives) qui peuvent masquer l'effet d'inhibition de l'acide clavulanique et interférer avec les tests de détection par synergie [106,107].

L'augmentation du nombre de bactériémies à *Enterobacter* spp. Et l'acquisition d'une résistance aux bêta-lactamines sous traitement antibiotique curatif sont des phénomènes de plus en plus connus. *Enterobacter aerogenes* est un germe commensal du tube digestif responsable de bactériémies, dont l'origine est nosocomiale la plupart du temps. Parmi les bactériémies nosocomiales à bacille à Gram négatif, celles à *Enterobacter* spp. sont actuellement en troisième position derrière celles à *Escherichia coli* et *Klebsiella* spp. La caractéristique principale du genre *Enterobacter* est sa propension à sélectionner des variants résistants, par hyperproduction d'une céphalosporinase dérégulée, sous traitement par céphalosporine de 2^e ou plus fréquemment de 3^e génération. Cette situation incite la plupart des prescripteurs à éviter une monothérapie par céphalosporine de 3^e génération lors du traitement d'infections dues à cette espèce bactérienne. Il apparaît qu'une simple antibioprophylaxie par céphalosporine de 2^e génération place les patients à risque d'avoir dans les suites un isolat résistant [108].

Il est à signaler que, vue le risque de transmission par aérosol, une fois isolées (isolats suspecte : petites colonies (0,5 mm de diamètre), lisses, translucides et à bords réguliers + oxydase positive), les souches de *Brucella* sont envoyées vers l'institut Pasteur pour la poursuite de l'identification voire même l'antibiogramme, ce qui nous a empêché d'étudier leur profil de leur sensibilité.

Il en est de même pour *Streptococcus pneumoniae*, vue leur exigence et fragilité en milieu extérieur. La bactérie se perd rapidement lors du diagnostic bactériologique ; 3 souches ont été isolées et une souche seulement a survécu au repiquage. Ce qui fait qu'on a eu un antibiogramme et une CMI pour une seule souche.



Conclusion



Dans ce présent travail, une étude prospective des hémocultures est réalisée au sein de l'unité de Bactériologie à l'EPH de Boufarik du 04 mars au 31 mai 2019. Cette dernière a révélé que ces hémocultures représentent un taux de 10% des analyses bactériologiques effectuées dans cette unité, dont le taux de positivité est de 14%.

Les résultats d'identification des isolats obtenus ont montré que les septicémies à *E.coli* représentent à elles seules 1/3 des hémocultures positives, suivies par les staphylococcémies. En outre, les hommes présentent un taux d'infections (60%) plus élevé que celui des femmes. Il est à signaler aussi que la tranche d'âge allant de 60 à 104 ans est la catégorie la plus touchée par ces infections avec un taux de 51%.

Par ailleurs, l'étude de la sensibilité de ces germes infectieux isolés vis-à-vis des antibiotiques nous a permis de constater principalement leur sensibilité. Néanmoins, 2 souches seulement d'origine nosocomiale se sont révélées productrices de β -lactamases à spectre étendu, parmi les 50 souches isolées.

Une surveillance régulière du spectre de sensibilité des principaux germes incriminés dans les septicémies s'impose afin de trouver un consensus sur l'antibiothérapie initiale probabiliste des infections générales les plus prévalentes.


L'étude présente s'est limitée à la détection de bactériémies. L'absence de fongémies serait peut être liée à des faux négatifs. En effet, le diagnostic de fongémie serait facilité par la mise en place de moyens matériels supplémentaires (tel que des milieux spécifiques).

Il importe de conserver à l'hémoculture, première étape indispensable à l'identification des bactéries, toute sa place dans la panoplie des examens décisifs en infectiologie, en évitant d'en limiter les indications. La réussite de l'hémoculture est conditionnée par plusieurs éléments susceptibles de nuire à son bon déroulement et d'en diminuer les chances de positivité. Le respect de recommandations précises permet de maximiser les chances de détection d'un pathogène.


Une éducation sanitaire basée sur l'hygiène individuelle et collective et le traitement des portes d'entrées potentielles de septicémies doit être conduite pour diminuer l'incidence des septicémies acquises en communauté.

Les résultats obtenus au cours de cette étude restent préliminaires et méritent d'être complétés par :

- Une étude des facteurs clefs d'une hémoculture de qualité, pour optimiser le diagnostic (tel que l'impact du volume prélevé sur la sensibilité de détection, le prélèvement unique .etc.).
- l'utilisation de la biologie moléculaire serait nécessaire pour identifier les gènes qui codent pour les β -lactamases détectées.
- Enfin, l'étude s'est intéressée à l'échelle régionale et pour une durée restreinte, l'idéale serait de faire une étude à l'échelle nationale pour évaluer l'impact réelle du sepsis en Algérie.



*Références
bibliographiques*



- [1]. COLLEGE DES UNIVERSITAIRES DE MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES (2018). *E. pily maladies infectieuses et tropicales*, 26^e éd. Alinéa Plus, Paris. 129P.
- [2]. PRESCOTT, H. C., & ANGUS, D. C. (2018). Enhancing recovery from sepsis: a review. *Jama*, 319(1), 62-75.
- [3]. BAUDAT, V., CHUARD, C., & REGAMEY, C. (2005). Revue des hémocultures positives sur deux ans à l'Hôpital cantonal de Fribourg. *Revue médicale suisse*, 1(36), 2338-2345.
- [4]. LABID, A. (2015). *Etude fréquentielle des bactéries responsables des Infections septicémiques chez les enfants dans la Région d'Annaba* [En ligne]. Thèse de doctorat en microbiologie : Annaba : Université Badji Mokhtar. 170P. Format PDF. [Consulté le 01/05/2019]. Disponible sur : <<http://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads.pdf>>
- [5]. MULLER, A., THOUVEREZ, M., TALON, D., & BERTRAND, X. (2003). Contribution de la pression de sélection antibiotique dans l'acquisition de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) dans un centre hospitalier universitaire. *Pathologie Biologie*, 51(8-9), 454-459.
- [6]. BERREZZOUK, M. (2008). *Hémocultures : profile bactériologique et sensibilité aux antibiotiques* [En ligne] .Thèse de doctorat en pharmacie .Rabat : Université Mohamed V. 123P. Format PDF [consulté le 01/05/2019]. Disponible sur : <http://ao.um5s.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/14717/P0142008.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [7]. CAVAILLON, J. M., & CHRETIEN, F. (2019). From septicemia to sepsis 3.0—from Ignaz Semmelweis to Louis Pasteur. *Genes & Immunity*, 1.
- [8]. APPIT (1996). *Bacteriémie, Sepsis et Choc septique*, 15^e éd. E. PILLY, Montmorency: 2M2 : 19-25.). In. Thèse : [SEKOU KONE, M.]
- [9]. MIRA J. P. & VALLET, B. (2004). *Sepsis: mécanismes immunitaires, prédispositions génétiques, nouvelles*, éd. Elsevier Masson, Paris. 5-6 P.

- [10]. BAUDAT, V. (2002). “*Hémocultures positives à l’Hôpital Cantonal de Fribourg, 1997-1998 : signification clinique, microbiologie, épidémiologie, traitement et pronostic*”. Lausanne. .10248: 06-09. **In. Thèse** : [LABID, A.]
- [11]. HART, T. & SHEARS, P. (1997) *Atlas de poche de microbiologie*, éd. Flammarion Médecine Science, Paris. 93-99 P.
- [12]. DENIS, F., BINGEN, E., MARTIN C. & al. (2007). *Bactériologie médicale*, 2^e éd. Elsevier MASSON, Paris.268-273 P.
- [13]. HUSSEIN, A.I.A., AHMED, A.M., SATO, M., & SHIMAMOTO, T. (2009). Characterization of integrons and antimicrobial resistance genes in clinical isolates of Gram-negative bacteria from Palestinian hospitals. *Microbiol. Immunol.* 53, 595–602. **In .Thèse**: [LABID, A.]
- [14]. MEYER, A., JOSE, D., & ALAIN, B. (2004) *Cours de microbiologie générale: avec problèmes et exercices Corrigés*, 2^e éd. Doin, Paris .80 P.
- [15]. JOLY, B. & REYNAUD, A. (2007). *Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic*. Edition Techniques et Documentation. **In. Thèse** : [LABID, A.]
- [16]. AVRIL, J. L., DABERNAT, H., DENIS, F., & MONTEIL H. (2000). *Bactériologie clinique*, 3^e éd. Ellipses édition marketing S.A., Paris. 171-229 P.
- [17]. WILLEY, SHERWOOD & WOOLVERTON, traduction de COYETTE, J., JOSELEAU, J. P. & PERRAUD, R. (2018). *Microbiologie de Prescott*, 5^e éd. De Boeck, New York. 530-531 P.
- [18]. FAUCHERE, J. L. (1997). *Bactéριο-fiches*, éd. Ellipses, Paris.72-73 P.
- [19]. BELMIN, J., CHASSAGNE, P., FRIOCOURT, P. & al. (2019). *Gériatrie: pour le Praticien*, 3^eéd. Elsevier Masson, France.437P.

[20]. BERNARD, G.R., WHEELER, A.P., RUSSELL, J.A., SCHEIN, R., SUMMER, W.R., STEINBERG, K.P., FULKERSON, W.J., WRIGHT, P.E., CHRISTMAN, B.W., DUPONT, W.D., & *al.* (1997). The effects of ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. The Ibuprofen in Sepsis Study Group. *N. Engl. J. Med.* 336, 912–918. **In. These:** [LABID, A.]

[21]. BERKOWITZ, D.M., & MARTIN, G.S. (2007). Sepsis and sex: can we look beyond our hormones? *Chest* 132, 1725–1727. **In. These:** [LABID, A.]

[22]. JOOST WIERSINGA, W., & CHRISTOPHER, W. (2018). *Seymour Handbook of Sepsis*, Springer, Switzerland .10 P.

[23]. BARLOW, P., CEYSENS, G., & EMONTS, P. (2016). *Guide du post-partum*, éd. De Boeck Supérieur, Belgique. 96 P.

[24]. ESPER, A. M., MOSS, M., LEWIS, C. A., NISBET, R., MANNINO, D. M., & MARTIN, G. S. (2006). The role of infection and comorbidity: Factors that influence disparities in sepsis. *Critical care medicine*, 34(10), 2576.

[25]. BERARDI, L. D., BOURDAIN, J. L., CHATELAIN, R., & RIOU, J. Y. (1984). Diagnostic bactériologique de *Pasteurella ureae*: à propos d'un cas de septicémie humaine. *Médecine et maladies infectieuses*, 14(1), 36-40.

[26]. DEMBELE N. (2008). *Etude des septicémies au cours du sida en milieu hospitalier de Bamako* [En ligne]. Thèse de doctorat en médecine : Bamako. 73P. Format PDF. [Consulté le 01 Mai 2019]. Disponible sur : <www.keneya.net/fmpos/theses/2008/med/pdf/08M298.pdf>

[27]. ANNANE, D., AEGERTER, P., JARS-GUINCESTRE, M.C., & GUIDET, B., (2003). Current epidemiology of septic shock: the CUB-Réa Network. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 168, 165–172. **In. Thèse :** [LABID.A]

[28]. FAUCHERE J. L. (1997). *Techniques de bactériologie clinique*, éd. Marketing SA, Paris. 77-79 P.

[29]. LEVER, A., & MACKENZIE, I. (2007). Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis. *Bmj*, 335(7625), 879-883.

[30]. LEMAITRE, L., PUECH, P., FAUQUET, I., DELOMEZ, J., LEROY, C., FANTONI, J. C., & BISERTE, J. (2005, October). Apport de l'imagerie dans la prise en charge des infections de l'appareil urinaire. In *Annales d'urologie* (Vol. 39, No. 5, pp. 170-196). Elsevier Masson.

[31]. PEBRET F. (2003). *Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales*, éd. Heures de France, Paris. 53 P.

[32]. MEYER A., DEIANA J. & BERNARD A. (2004). *Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés*, 2^e éd. Doin, Biosciences et techniques, Paris. 218 - 247P.

[33]. PERRY JJ. , STALEY JT. & LORY S. (2004). *Microbiologie : cours et questions de révision*. DUNOD, Paris. 161-164 P.

[34]. PRESCOTT L. M., WILLEY J. M., SHERWOOD L. M., & WOOLVERTON C. J., traduction de COYETTE J. & MERGEAY M. (2013). *Microbiologie de Prescott*, 4^e éd. De Boeck Supérieur, New York. 826-845P.

[35]. BOUSSEBOUA H. (2005). *Eléments de microbiologie générale*, éd. Campus club, Constantine. 167-172 P.

[36]. NAUCIEL C., & VILDE J. L. (2005). *Bactériologie médicale*, 2^e éd. Elsevier Masson, Abrégés connaissances et pratique, Paris. 49-58 P.

[37]. DOROSZ , PH. (2003). *Guide pratique des médicaments*, 23^e éd. Maloine, Paris. 90-180P.

- [38]. **COCITO, C., & Di GIMBATTISTA, M. (1990).** Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique.
- [39]. **JAWETZ, E., MELNICK, J. L., & ADELBERG, E. A. (1973).** *Microbiologie médicale*, éd. Maloin, Paris.157 P.
- [40]. **MUYLAERT, A., & MAINIL, J. (2013).** Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur " contagiosité". In *Annales de Médecine Vétérinaire* (Vol. 156, pp. 109-123). Université de Liège.
- [41]. **CARLE, S. (2009).** La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important! *Pharmactuel*, 42.
- [42]. **MICHEL, B. (2009).** *Une histoire de la résistance aux antibiotiques A propos de six bactéries*, éd. l'Harmattan. France.350 p.
- [43]. **CANU, A. & BETER, F. (2001).** La préparation sur pharmacie. Dossier 4 microbiologie-immunologie. **In. Thèse : [LAZOUL KH.]**
- [44]. **FAUCHERE, L. & AVRIL, J. (2002).** Microbiologie général et médicale. Edition ellipses paris. P 141-319. **In. Thèse : [LAZOUL KH.]**
- [45]. **LABID, A., GACEMI-KIRANE, D., TIMINOUNI, M., AMOURA, K., & ROLAIN, J. M. (2014).** High prevalence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producers in fatal cases of pediatric septicemia among the Enterobacteriaceae in the pediatric hospital of Annaba, Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 8(9), 947-954.
- [46]. **CAVALLO, J.D., FABRER., JEHL F., RAPP, C. ET GARRABE, E. (2004).** Bêta-lactamines. *EMC-Maladies Infectieuses* . 1: 129-202.
- [47]. **BECIS & ZITANI (2005).** Lecture interprétative des l'antibiogramme « Résistance des entérobactéries aux B-lactamines ».Mém DES en biologie option Microbiologie.UKM Ouargla **.In. Thèse : [LAZOUL KH.]**

[48]. NAUCIEL, C., VILDE, J. L. (2005). *Bactériologie médicale*, 2^e éd. Elsevier Masson, Abrégés connaissances et pratique, Paris. 59-64 P.

[49]. FAUCHERE, J.L. (1997). *Bactério-fiches*, éd. Ellipses, Paris. 73-79 P.

[50]. COLLEGE DES UNIVERSITAIRES DE MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES (2018). *E. pilly maladies infectieuses et tropicales*, 26^e éd. Alinéa Plus, Paris. 22P.

[51]. THORPE, T. C., WILSON, M. L., TURNER, J. E., DIGUISEPPI, J. L., WILLERT, M., MIRRETT, S., & RELLER, L. B. (1990). BacT/Alert: an automated colorimetric microbial detection system. *Journal of clinical microbiology*, 28(7), 1608-1612.

[52]. DENIS, F., BINGEN, E., MARTIN, C. & al. (2007). *Bactériologie médicale*, 2^e éd. Elsevier MASSON, Paris. 268-273 P.

[53]. fiche technique. www.bio-rad.com . PASTOREX™ STREP 60 TESTS.

[54]. fiche technique. www.bio-rad.com . PASTOREX™ STAPH-PLUS.

[55]. RAHAL, K. (2014). *Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale : médecine humaine et vétérinaire*, 7^e éd, Institut Pasteur d'Alger. 24-53P.

[56]. BENZRIOUIL, B. (2010). *Hémoculture: Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques a l'hôpital Ibn Sina de Rabat* (Doctoral dissertation).

[57]. AISSA, N., JEANMAIRE, E. (2015). *Bonnes pratiques de prélèvements - Les hémocultures - 16^{es} journées nationales d'infectiologie* [en ligne]. Document scientifique : Centre Hospitalier, France. [Consulté le 01 aout 2019]. Disponible à l'adresse : <http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/JNI/JNI15/2015-JNI-IDE-Hemocultures-jeanmaire.pdf>

- [58]. SCIOTTO, L., ABBAS, M., & SERRATRICE, J. (2017). Détection d'une bactériémie par des hémocultures: qui en bénéficie?. *Revue médicale suisse*, 13(579), 1774-1778.
- [59]. COBURN, B., MORRIS, A. M., TOMLINSON, G., & DETSKY, A. S. (2012). Does this adult patient with suspected bacteremia require blood cultures?. *Jama*, 308(5), 502-511.
- [60]. SHAPIRO, N. I., WOLFE, R. E., WRIGHT, S. B., MOORE, R., & BATES, D. W. (2008). Who needs a blood culture? A prospectively derived and validated prediction rule. *The Journal of emergency medicine*, 35(3), 255-264.
- [61]. JONES, G. R., & LOWES, J. A. (1996). The systemic inflammatory response syndrome as a predictor of bacteraemia and outcome from sepsis. *QJM: An International Journal of Medicine*, 89(7), 515-522.
- [62]. GOODMAN, K. E., LESSLER, J., COSGROVE, S. E., HARRIS, A. D., LAUTENBACH, E., HAN, J. H., & TAMMA, P. D. (2016). A clinical decision tree to predict whether a Bacteremic patient is infected with an extended-Spectrum β -lactamase-producing organism. *Clinical Infectious Diseases*, 63(7), 896-903.
- [63]. BAUDAT, V. (2002). *Hémocultures positives à l'Hôpital Cantonal de Fribourg, 1997-1998: signification clinique, microbiologie, épidémiologie, traitement et pronostic* (Doctoral dissertation, University of Geneva).
- [64]. DE MÉDECINE, F. A. C. U. L. T. É. S. (2017). *Bactériémies acquises chez les patients sous ECMO: épidémiologie et facteurs de risque* (Doctoral dissertation, UNIVERSITÉ TOULOUSE III).
- [65]. TEMPLIER, V. (2016). *Exploration de méthodes alternatives pour la détection de bactéries dans le sang* (Doctoral dissertation, Grenoble Alpes).

- [66]. LAMY, B., DARGERÉ, S., ARENDRUP, M. C., PARIENTI, J. J., & TATTEVIN, P. (2016). How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the art. *Frontiers in microbiology*, 7, 697. In. Thèse: [TEMPLIER V.]
- [67]. COLLEGE DES UNIVERSITAIRES DE MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES (2018). E. pily maladies infectieuses et tropicales, 26^e éd. Alinéa Plus, Paris. 133-135P.
- [68]. LANGERON, V. (2010). *Validation du système automatisé BacT/ALERT® 3D pour la détection des contaminations microbiologiques des milieux de culture de cellules épithéliales* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- [69]. OSTHOFF, M., KHANNA, N., GOLDENBERGER, D., WÜSCHER, V., & FLÜCKIGER, U. (2016, JANUARY). Hémocultures positives: interprétation et prise en charge initiale. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 16, No. 03, pp. 59-67). EMH Media.
- [70]. NORBERG, A., CHRISTOPHER, N. C., RAMUNDO, M. L., BOWER, J. R., & BERMAN, S. A. (2003). Contamination rates of blood cultures obtained by dedicated phlebotomy vs intravenous catheter. *Jama*, 289(6), 726-729.
- [71]. CHU, V. H., WOODS, C. W., MIRÓ, J. M., HOEN, B., CABELL, C. H., PAPPAS, P. A., ... & MARCO, F. (2008). International Collaboration on Endocarditis–Prospective Cohort Study Group. Emergence of coagulase-negative staphylococci as a cause of native valve endocarditis. *Clin Infect Dis*, 46(2), 232-242.
- [72]. KI-ZERBO, G. A., THIOUB, B., DIOP, B. M., BADIANE, S., COLL-SECK, A. M., & SAMB, A. (1996). Étude des hémocultures positives au CHU de Fann Dakar: bilan de trois années du laboratoire de bactériologie. *Médecine d'Afrique Noire*, 43(6).
- [73]. LANKOANDE, H. (2002). Aspects épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques et pronostiques des septicémies au C.H.N.S.S de Bobo-Dioulasso [en ligne]. Thèse docteur en médecine: Université de Ouagadougou, Burkina Faso. 152 P. [Consulté le 05 aout 2019].

Disponible à l'adresse :
<http://www.beep.ird.fr/collect/uouaga/index/assoc/M08500.dir/M08500.pdf>

[74]. ANAGONOU, S. Y., AKPONA, S., JOSSE, R., MASSOUGBODJI, A., & SADELER, B. C. (1993). Les isolements de bactéries dans les hémocultures au laboratoire de bactériologie du CNHU-COTONOU (1987-1990). *Médecine d'Afrique Noire*, 40(10), 614-9.

[75]. SAKR, Y., ELIA, C., MASCIA, L., BARBERIS, B., CARDELLINO, S., LIVIGNI, S., ... & RANIERI, V. M. (2013). The influence of gender on the epidemiology of and outcome from severe sepsis. *Critical Care*, 17(2), R50.

[76]. MAYR, F. B., YENDE, S., & ANGUS, D. C. (2014). Epidemiology of severe sepsis. *Virulence*, 5(1), 4-11.

[77]. ARJI, S. (2013). *Aspects bactériologiques des prélèvements cutanés, hémocultures et cathéters chez les brûlés. Etude rétrospective sur 4ans (2007-2010) à l'HMIMV* (Doctoral dissertation).

[78]. DIAKITE, O. K. (2010). *Etude de la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés dans les infections ostéo-articulaires* (Doctoral dissertation).

[79]. ANGELE, M. K., PRATSCHKE, S., HUBBARD, W. J., & CHAUDRY, I. H. (2014). Gender differences in sepsis: cardiovascular and immunological aspects. *Virulence*, 5(1), 12-19.

[80]. MAMAN, R. (2015). *Profil épidémiologique des bactériémies à l'hôpital militaire My Ismaïl de Meknès. Etude rétrospective sur trois ans (2011-2013)* (Doctoral dissertation).

[81]. Hall, M. J., Williams, S. N., DeFrances, C. J., & Golosinskiy, A. (2011). Inpatient care for septicemia or sepsis: a challenge for patients and hospitals. In. Thèse: [MAMAN R.]

- [82]. ARTERO, A., ZARAGOZA, R., & NOGUEIRA, J. M. (2012). Epidemiology of severe sepsis and septic shock. In *Severe sepsis and septic shock-understanding a serious killer*. IntechOpen. In. Thèse: [MAMAN R.]
- [83]. JARNO P. & TAVENARD A. (2010). Surveillance des Bactériémies. In. Thèse: [MAMAN R.]
- [84]. GRANSDEN, W. R., EYKYN, S. J., PHILLIPS, I., & ROWE, B. (1990). Bacteremia due to *Escherichia coli*: a study of 861 episodes. *Reviews of infectious diseases*, 12(6), 1008-1018.
- [85]. MCBEAN, M., & RAJAMANI, S. (2001). Increasing rates of hospitalization due to septicemia in the US elderly population, 1986–1997. *The Journal of infectious diseases*, 183(4), 596-603.
- [86]. VINCENT, J. L., SAKR, Y., SPRUNG, C. L., RANIERI, V. M., REINHART, K., GERLACH, H., ... & PAYEN, D. (2006). Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Critical care medicine*, 34(2), 344-353.
- [87]. NIELUBOWICZ, G. R., & MOBLEY, H. L. (2010). Host–pathogen interactions in urinary tract infection. *Nature Reviews Urology*, 7(8), 430.
- [88]. TRESTIOREANU, A. Z., GREEN, H., PAUL, M., YAPHE, J., & LEIBOVICI, L. (2010). Antimicrobial agents for treating uncomplicated urinary tract infection in women. *Cochrane database of systematic reviews*, (10).
- [89]. EMONET, S., HARBARTH, S., & VAN DELDEN, C. (2011). Infection urinaire de l'adulte. *Revue médicale suisse*, 7(292), 912-916.
- [90]. ABERNETHY, J. K., JOHNSON, A. P., GUY, R., HINTON, N., SHERIDAN, E. A., & HOPE, R. J. (2015). Thirty day all-cause mortality in patients with *Escherichia coli* bacteraemia in England. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(3), 251-e1.

- [91]. CHAIBDRAA, A., MEDJELLEKH, M. S., SAOULI, A., & BENTAKOUK, M. C. (2008). Le Pseudomonas: expérience du Centre des Brûlés D'Annaba et Revue de la Littérature. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 21(4), 210.
- [92]. AVRIL, J. L., DABERNAT, H., DENIS, F., & MONTEIL, H. (2000). *Bactériologie clinique*, 3^e éd. Ellipses édition marketing S.A., Paris. 296-299 P.
- [93]. MAILLES, A., & LAVIGNE, J. P. (2017). Brucellose acquise au laboratoire: comment en finir?. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 47(4), S77-S78.
- [94]. EBONGUE, C. O., MEFO'O, J. N., DONGHO, E. N., MOUKOKO, E. E., ADIOGO, D., & BEYIHABD, G. (2014). Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des isolats d'hémoculture (2006–2011) à Douala, Cameroun. *Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie*, (2), 27-39.
- [95]. SOUGAKOFF, W., & TRYSTRAM, D. (2003). Résistances aux β -lactamines. *Service de Bactériologie-Hygiène du CHU Pitié-Salpêtrière*, 9-12.
- [96]. RAKOTOVAO-RAVAHATRA, Z. D., RANDRIATSARAFARA, F. M., RASOANANDRASANA, S., RAVEROHANTA, L., & RAKOTOVAO, A. L. (2017). Phénotypes de résistance des souches d'Escherichia coli responsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo. *The Pan African Medical Journal*, 26.
- [97]. VORA, S., & AUCKENTHALER, R. (2009). Que signifie « bêtalactamases à spectre élargi » en pratique?. *Rev Med Suisse*, 5, 1991-4.
- [98]. ELOUENNASS, M., SAHNOUN, I., ZRARA, A., BAJJOU, T., & ELHAMZAOU, S. (2008). Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002–2005). *Médecine et maladies infectieuses*, 38(1), 18-24.

- [99]. MICHEL-BRIAND, Y. (2009). *Une histoire de la résistance aux antibiotiques: A propos de six bactéries*. Editions L'Harmattan.
- [100]. MOYEN, G., NKOUA, J. L., MPEMBA, A. B., FOURCADE-PAUTY, V., & NZINGOULA, S. (1993). Septicémie à Staphylocoque aureus de L'enfant à Propos e 12 cas. *Médecine d'Afrique Noire*, 40(6), 389-392.
- [101]. LAGIER, J. C., LETRANCHANT, L., SELTON-SUTY, C., NLOGA, J., AISSA, N., ALAUZET, C., ... & DOCO-LECOMPTE, T. (2008, April). Bactériémies et endocardites à Staphylococcus aureus. In *Annales de cardiologie et d'angeiologie* (Vol. 57, No. 2, pp. 71-77). Elsevier Masson.
- [102]. KI-ZERBO, G. A., THIOUB, B., DIOP, B. M., BADIANE, S., COLL-SECK, A. M., & SAMB, A. (1996). Etude des hémocultures positives au CHU de Fann Dakar: bilan de trois années du laboratoire de bactériologie. *Médecine d'Afrique Noire*, 43(6).
- [103]. ARSALANE, L., QAMOUSS, Y., CHAFIK, A., BOUGHALEM, M., & LOUZI, L. (2010). Epidémiologie des bactéries multi résistantes dans un service de réanimation polyvalente d'un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009. *Les technologies de laboratoire*, 5(21).
- [104]. AVRIL, J. L., DABERNAT, H., DENIS, F., & MONTEIL, H. (2000). *Bactériologie clinique*, 3^e éd. Ellipses édition marketing S.A., Paris. 164 P.
- [105]. AVRIL, J. L., DABERNAT, H., DENIS, F., & MONTEIL, H. (2000). *Bactériologie clinique*, 3^e éd. Ellipses édition marketing S.A., Paris. 55-64 P.
- [106]. ELHANI, D. (2012, MARCH). Les bêta-lactamases à spectre étendu: le défi s'accentue. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 70, No. 2, pp. 117-140).
- [107]. RODRIGUEZ-VILLALOBOS, H., & STRUELENS, M. J. (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu: implications pour le réanimateur. *Réanimation*, 15(3), 205-213.

[108]. **MOHAMMEDI, I., VIEILLE, E., & BOULETREAU, P. (2000).** Bacteriémie à *Enterobacter cloacae* : émergence d'une résistance aux antibiotiques après antibioprophylaxie. In *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation* (Vol. 7, No. 19, p. 563).



Annexes



Tableau I: Composition des milieux de culture (pour 1l d'eau distillée)

Cœur cervelle		
protéose-peptone	10	g
Infusion de cervelle de veau	12,5	g
Infusion de cœur de bœuf	5	g
Glucose	2	g
Chlorure de sodium	5	g
Hydrogénophosphate de sodium	2,5	g
pH	7,4	
Gélose sang cuit		
Infusion de viande de bœuf	300	g
Hydrolysate de caséine	17,5	g
Amidon	1,5	g
Agar	17	g
pH	7.4	
Gélose Mueller Hinton		
Infusion de viande de bœuf	300	g
Hydrolysate de caséine	17,5	g
Amidon	1,5	g
Agar	17	g
pH	7.4	

Tableau II: Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour *Staphylococcus spp.* [55].

Antibiotique testé	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critique (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Pénicilline	10UI	≤28	---	≥29	≥0,25	---	≤0,12
Oxacilline (S. aureus)	---	---	---	---	≥4	---	≤2
Céfoxitine (S. aureus)	30 µg	≤21	---	≥22	≥8	---	≤4
Oxacilline (SCN)	---	---	---	---	≥0,5	---	≤0,25
Céfoxitine (SCN)	30 µg	≤24	---	≥25	---	---	---
Gentamycine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Kanamycine	30 µg	≤13	14-15	≥18	≥64	32	≤16
Amikacine	30 µg	≤14	15-16	≥17	≥64	32	≤16
Erythromycine	15 µg	≤13	14-22	≥23	≥8	1-4	≤0,5
Clindamycine	2 µg	≤14	15-20	≥21	≥416	1-2	≤0,5
Vancomycine	---	---	---	---	≥32	4-8	≤2
Vancomycine	---	---	---	---	≥32	8-16	≤4
Teicoplanine	30 µg	≤10	11-13	≥14	≥4	16	≤8
Ofloxacin	5 µg	<14	15-17	≥18	≥4	2	<1
Ciprofloxacine	5 µg	<15	16-20	≥21	≥4	2	<1
Lévofloxacine	5 µg	<15	16-20	≥21	≥4	2	<1
Rifampicine	5 µg	<16	17-19	≥20	≥16	2	<1
Tétracycline	30 µg	<14	15-18	≥19	≥32	6	<4
Chloramphénicol	30 µg	<12	13-17	≥18	---	16	≤8
Acide fusidique	15 µg	≤24	---	≥24	≥1	---	≤1
Fosfomycine	10 µg	---	---	---	≥32	---	≤32

Tableau III: Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour Entérobactéries [55].

Antibiotique testé	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critique (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10 µg	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8
Amoxicilline+Ac clavulanique	20/10 µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4
Céfazoline	30 µg	≤19	20-22	≥23	≥8	4	≤2
Céfoxitine	30 µg	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Cefotaxime	30 µg	≤22	23-25	≥26	≥4	2	≤1
Céftazidime	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥16	8	≤4
Azteronam	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥16	8	≤4
Amikacine	30 µg	≤14	14-16	≥17	≥64	32	≤16
Gentamicine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Acide nalidixique	30 µg	≤13	14-18	≥19	≥32	---	≤16
Ciprofloxacine	5 µg	<15	16-20	≥21	≥4	2	≤1
Chloramphénicol	30 µg	<12	13-17	≥18	≥32	16	≤8
Fosfomycine	200 µg	≤12	13-15	≥16	≥256	126	≤64

Tableau IV: Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa* [55].

Antibiotique testé	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critique (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ticarcilline	75 µg	≤15	15-23	≥24	≥126	32-64	≤0,12
Ticarcilline+ Ac clavulanique	75 µg	---	---	---	4	---	≤2
Céfoxitine	30 µg	≤21	---	22	8	---	≤4
Oxacilline	---	---	---	---	0,5	---	≤0,25
Céfoxitine	30 µg	≤24	---	25	---	---	---
Gentamycine	10 µg	≤12	13-14	15	16	8	≤4
Kanamycine	30 µg	≤13	14-15	18	64	32	≤16
Amikacine	30 µg	≤14	15-16	17	64	32	≤16
Erythromycine	15 µg	≤13	14-22	23	8	1-4	≤0,5
Clindamycine	2 µg	≤14	15-20	21	416	1-2	≤0,5
Vancomycine	---	---	---	---	32	4-8	≤2
Vancomycine	---	---	---	---	32	8-16	≤4
Teicoplanine	30 µg	≤10	11-13	14	4	16	≤8
Ofloxacin	5 µg	<14	15-17	18	4	2	<1
Ciprofloxacine	5 µg	<15	16-20	21	4	2	<1
Lévofloxacine	5 µg	<15	16-20	21	4	2	<1
Rifampicine	5 µg	<16	17-19	20	16	2	<1
Tétracycline	30 µg	<14	15-18	19	32	6	<4
Chloramphénicol	30 µg	<12	13-17	18		16	≤8
Acide fusidique	15 µg	≤24	---	24	1	---	≤1
Fosfomycine	10 µg	---	---	---	32	---	≤32

Tableau V: Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour *Streptococcus pneumoniae* [55].

Antibiotique testé	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critique (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Pénicilline parentérale	CMI	---	---	---	≥4	0,25-2	≤0,12
Ampicilline	CMI	---	---	---	≥8	0,5-4	≤0,25
Cefotaxime	30 µg	≤25	26-27	≥28	≥4	---	≤1
Gentamicine	CMI	---	---	---	≥500	---	≤250
Erythromycine	15 µg	≤15	16-20	≥21	≥1	---	≤0,25
Clindamycine	2 µg	≤15	16-18	≥19	≥1	---	≤0,25
Vancomycine	30 µg	---	---	≥17	---	---	≤1
Lévofloxacine	5 µg	≤13	14-16	≥17	≥8	4	≤2
Chloramphénicol	30 µg	≤17	18-20	≥21	16	---	≤4

Tableau VI: Carte aide- mémoire BACT /ALERT 3D

(Codes d'erreur opérateur).

Code	Description
901	Sélection dossier flacon corrompu
902	Données requises manquantes
909	Chargement dans une cellule non valide -CQ de la cellule en cours
910	Chargement dans une cellule non valide
911	Déchargement dans une cellule non valide
912	Rechargement dans une cellule non valide
913	ID de flacon scannée identique à celle d'un flacon déjà chargé
921	Lecteur de code barre non autorisée dans ce mode
923	Entrer de code barre non valide
930	Code barre incorrecte ou inattendu scanné après avoir déchargé un flacon
931	Algorithme de détection modifié
932	ID de flacon scannée identique à celle d'un flacon précédemment déchargé
940	Dossier flacon non trouvé
941	ID de flacon saisie correspond à celle d'un flacon chargé dans une autre cellule
942	Une modification du type de flacon exige un changement d'algorithme
943	Flacon identique changé en flacon anonyme
944	Déchargement manuel d'un flacon anonyme
945	ID de flacon entrée identique à celle d'un flacon précédemment déchargé
961	Champ vierge non valide

Tableau VII: carte aide - mémoire BACT /ALERT 3D

(Code d'erreur de l'instrument et code d'état)

Code	Description
1	Panne d'alimentation dans le module d'incubation
2	Communication interrompue avec le module d'incubation
3	Température du module d'incubation trop élevée
4	Température du module d'incubation trop basse
5	Branchement erroné du module d'incubation
6	Défaillance du moteur pas-à-pas du module d'incubation
10	Panne d'alimentation du module de contrôle
11	Onduleur insuffisamment chargé
12	Erreur de communication de l'interface SIL
14	Système redémarré automatiquement
19	Exception logiciel
20	Tiroir ouvert pendant une durée prolongée
21	Défaillance du dispositif d'agitation du tiroir
22	Agitation inattendue du tiroir
39	Erreur de température du bloc
41-47	Le ou les blocs ne répondent pas
51-57	Panne matériel de bloc
60	Erreur de QC de cellule
62	Etat de chargement de cellule erroné
71	Horodatage non valide

Le sepsis est un problème de santé majeur affectant des millions de personnes dans le monde, chaque année. Sa prise en charge s'est améliorée grâce aux progrès de la réanimation et aux antibiotiques, mais on se heurte maintenant après des années de laisser-aller, à des bactéries devenues de plus en plus résistantes aux antibiotiques. Les objectifs de cette étude est de déterminer le profil épidémiologique des septicémies et la sensibilité aux antibiotiques des germes en cause. Il s'agit d'une étude prospective de 3 mois (du 04 mars 2019 au 31 mai 2019) au niveau de l'EPH de Boufarik.

Sur le total des hémocultures réalisées, 14 % ont été considérées positives témoignant d'un état bactériémique. La moyenne d'âge des patients septicémiques était de 82ans (60 à 104ans). Le sexe masculin était le plus exposé à la septicémie 60%. Les hémocultures positives provenaient des différents services où le service des maladies infectieuses était le grand provoyeur avec 75%. Par ailleurs, Les infections urinaires étaient à l'origine de la majorité des bactériémies détectées. Cinquante (50) souches bactériennes ont été identifiées, avec une prévalence des bacilles à Gram négatif 74 % dont *E. coli* prédominait avec 36% et 2 souches d'origine nosocomiales se sont révélées productrices de β -lactamases à spectre étendu.

Mots clés : Sepsis, Bactériémie, Hémoculture, Résistance aux antibiotiques, Entérobactéries .

Sepsis is a major health problem affecting millions of people around the world each year. Its management has improved thanks to advances in resuscitation and antibiotics, but now we are faced with years of let-go, bacteria become increasingly resistant to antibiotics. The objectives of this study are to determine the epidemiological profile of septicemia and the antibiotic sensitivity of the causative organisms. This is a prospective study of 3 months (from March 04, 2019 to May 31, 2019) at the EPH of Boufarik. The collection of 348 blood cultures was made from hospitalized patients.

Of the total blood cultures carried out, 14% were considered positive indicating a bacteremic state. The average age of septicemic patients was 82 years (60 to 104 years). The male sex was the most exposed to sepsis 60%. The positive blood cultures came from the different services where the infectious diseases service was the major provider with 75%. In addition, urinary tract infections were responsible for the majority of bacteraemia detected. Fifty (50) bacterial strains were identified, with a prevalence of Gram-negative bacilli of 74%, of which *E. coli* predominated with 36%, and two strains of nosocomial origin were found to produce extended spectrum β -lactamases.

Keywords: Sepsis, Bacteremia, Blood culture, Antibiotic resistance, Enterobacteria.