

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE « SAAD DAHLAB » BLIDA



FACULTE DE SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

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

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : MICROBIOLOGIE- BACTERIOLOGIE

THEME

**DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE DE SEPTICEMIE ET
ETUDES D'ANTIBIORESISTANCE AU NIVEAU DU
SERVICE INFECTIEUX A HOPITAL BOUFARIK (BLIDA)**

PRESENTE PAR

M^{ELLE} BESBACI Zouina

DEVANT LES MEMBRES DU JURY

MOHAMED SAID.R

M.A.A USDB – Blida

Président

AIT SAADI. L

M.A.A USDB- Blida

Examinatrice

BOUKHETEM .M

M.S.B USDB- Blida

Examineur

CHELGHOUH.H

M.A.A USDB- Blida

Promotrice

LASSAS.K

Médecin microbiologiste EPH Boufarik

Co-promotrice

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2013 /2014

Remerciement

A ma promotrice CHELGHOUME .H. Pour sa gentillesse, ces conseils et pour son sourire rassurant.

A Monsieur. MOHAMED SAID .R. Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury. Hommage respectueux.

A Madame. AIT SAADIL. Qui nous a fait l'honneur de juger ce travail. Sincères remerciements.

A Monsieur. BOUKHATEM.M Qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail. Sincères remerciements.

A ma Co-promotrice. Dr. LASSES.K Qui a accepté d'encadrer ce travail avec son sourire rassurant et pour la confiance dont elle a fait preuve à mon égard. Qu'elle trouve ici l'expression de ma franche reconnaissance. Sincères remerciements à l'ensemble des biologistes de laboratoire EPH de Boufarik qui ont contribué à ce travail : Madame SABABO KARIMA ; HADAFE RABIA ; GASSAME NAIMA ; MAIRI SADIA ; ZANATE BAYA

Dédicaces

A ma Maman, Si tu étais un astre, tu serais l'étoile polaire : unique, reconnaissable entre toutes, infallible point de repère, toujours là pour éclairer nos chemins quels qu'ils soient.

Heureusement, tu es là, tout près, pour veiller sur nous chaque jour, et nous apprendre à voler de nos propres ailes, mais toujours indispensable à notre équilibre. Avec toute mon admiration et tout mon amour, merci.

A mon père Avec toute ma tendresse un grand merci, pour ton soutien.

A mon frère Mohamed et ma sœur Feriel. Je n'ai pas toujours su vous dire très adroitement comme vous m'êtes indispensables et comme je vous aime..... et pourtant..... Parce que l'union fait la force, et quelle FORCE !!!!

A mes chers cousins M'hamed, Yassine, Khalil, Assia, Karima, Farah ,Habibe, Sadradinne, Redouane Et Riade.

A tous mes amis(e) Yacine ,Habibe, Ismail, Hanane ,Souad, Loubena, Roumaïssa, Asma, Radia , Imane, Asma, Soumai, Khadija ,Roumaïssa , Baya, Rima , Pour tous les bons moments qu'on a passés ensemble , je vous aime. A toute la promotion de master bactériologie 2014 pour les beaux moments que nous avons passés ensemble durant l'année théorique.

A tous Les membres de l'association culturelle de la musique arabo-andalouse el WIDADIA. De Blida. Et El Djenadia de Boufarik A toute la famille BESBACI, AADI et HADJI. . À tous ceux qui ont contribué à mon savoir et mon bonheur

Table des matières

| | |
|---|----|
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des abréviations | |
| Résumé | |
| Summary | |
| Introduction..... | 1 |
| CHAPITRE I: PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE | |
| I.1.Généralités sur le sang..... | 2 |
| I.1.1. Plasma | 2 |
| I.1.2. Cellules sanguines | 2 |
| I.2.Septicémie..... | 3 |
| I.2.1.Différents types de septicémies..... | 3 |
| I.2.2.Facteur favorisant..... | 4 |
| I.2.3.Epidémiologie..... | 5 |
| I.3.Hémocultures..... | 5 |
| I.4.Principes germes isolés par les hémocultures..... | 6 |
| I.4.1.Bacille à Gram négatif..... | 6 |
| I.4.2.Cocci à Gram positif..... | 9 |
| I.4.3.les germes exigeants | 11 |
| I.5.Antibiogramme et antibioresistance..... | 12 |
| I.5.1.Définition de l'antibiogramme..... | 12 |
| I.5.2.L'antibiorésistance | 12 |
| CHAPITRE II : PARTIE EXPERIMENTALE | |
| II. Matériel et méthode..... | 12 |
| II.1.Matériel..... | 12 |
| II.1.1.Matériel biologique..... | 12 |
| II.1.2.Matériel non biologique | 13 |
| II.2.Méthode..... | 13 |
| II.2.1.Prelevement | 13 |

| | |
|--|----|
| II.2.2. milieu de culture | 13 |
| II.2.3.Nombre de prélèvement | 14 |
| II.2.4. Acheminement au laboratoire | 14 |
| II.2.5.Incubation des flacons d'hémoculture..... | 14 |
| II.3.Diagnostic bactériologique..... | 14 |
| II.3.1.Examen macroscopique..... | 14 |
| II.4.Isolement..... | 16 |
| II.5.Technique..... | 16 |
| II.6.Examen microscopique..... | 17 |
| II.7.Identification..... | 19 |
| II.8.Identification par micro méthode | 21 |
| II.9.L'antibiogramme | 22 |

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

| | |
|--|-----------|
| III.1.1.Résultat globaux des hémocultures..... | 27 |
| III.1.2.Représentation des résultats positifs selon le service..... | 28 |
| III.1.3.Représentation des résultats positifs selon l'Age des patients | 29 |
| III.1.4.Profiles des résultats positifs selon les portes entrées..... | 30 |
| III.1.5.Représentation des résultats positifs selon la coloration de Gram..... | 31 |
| III.1.6.Représentation des résultats positifs selon les souches isolées..... | 32 |
| III.1.8.Résultats antibiogramme des souches identifié..... | 33 |
| Conclusion..... | 38 |

Référence bibliographique

Annexe

Liste des Figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Nombre d'hémoculture reçue par les trois services..... | 22 |
| Figure 2: Figure représente cas positif d'hémoculture positif | 25 |
| Figure 3 : Les différentes étapes de traitement des hémocultures au laboratoire | 36 |
| Figure 4 : Figure représente les résultats totaux des hémocultures | 38 |
| Figure 5: Répartition des résultats positifs selon les services | 39 |
| Figure 6 : Répartition des résultats positifs selon l'âge | 40 |
| Figure 7: Répartition des portes d'entrée des germes | 41 |
| Figure 8: répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram | 42 |
| Figure 9 : Répartition des germes isolés | 43 |
| Figure 10 : Profil résistance et de sensibilité d' <i>E. Coli</i> aux antibiotiques..... | 44 |
| Figure 11 : Profil de résistance et de sensibilité de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques | 45 |
| Figure 12 : Profil de résistance et de sensibilité de <i>Salmonella typhi</i> aux antibiotiques.... | 45 |
| Figure 13 : Profil de résistance et de sensibilité de <i>K. Pneumoniae</i> aux antibiotiques..... | 46 |
| Figure 14 : Profil de résistance et de sensibilité d' <i>Enterococcus</i> aux antibiotiques..... | 47 |
| Figure 15 : Profil de résistance et de sensibilité de <i>Brucella melitensis</i> | 47 |

Liste des Tableaux

Tableau I : Différents aspects du bouillon d'hémoculture en cas de positivité24

Tableau II : Aspect macroscopique des colonies selon les différents milieux de culture...28

Liste des Abréviations

ADH : Arginine dihydrolase.

ADN : Acide désoxyribonucléique

API : Analytical profil index.

ARNm : Acide ribonucléaire messenger.

ATB : Antibiotique

BGN : Bactéries gram négatif

CMB : Concentration Minimale Des Bactéries

CMI : Concentration Minimale D'inhibitrice

CO₂ : Dioxyde De Carbone

CSF : Gélose Au Sang Cuit

DNase : Désoxyribonucléase

I: Intermédiaire

IND: Indol

INO : Inositol.

KES : *Klebsiella, Enterobacter, Serratia*

LDC: Lysine Décarboxylase.

MAN: Mannitol

MH: Muller –Hinton.

MIF : Maladies infectieuse femme

MIH : Maladies infectieuse homme

MIP : Maladie infectieuse pédiatrie

Mm : Millimètres

NCCLS: National Committee for Clinical Standards.

NR: Nitrate Réductase

OMS : Organisation Mondiale De La Sante.

R : Résistant.

PLAN DE TRAVAIL

S : Sensible.

TDA : Tryptophane Désaminase.

TSI : Triple SugarIron

Um : Micromètre

URE : Urée

VIH: Virus De L'immunodéficience Humaine

VP : Voges-Proskauer.

Résumé

La septicémie est une infection bactérienne sévère, parfois mortelle. Dans le but d'identifier les principales bactéries responsables et leurs sensibilités aux antibiotiques nous avons fait des prélèvements sanguins, sur 340 patients repartis en 3 services :

- Service des maladies infectieuses homme présente un pourcentage de 38.52%
- Service des maladies infectieuses femme présente un pourcentage de 31.76%
- Service des maladies infectieuses pédiatrie présente un pourcentage de 29.70%

Les 340 d'hémocultures qui ont été réalisées au niveau du laboratoire de bactériologie de Boufarik, 14.41% étaient positives, 76.76% étaient négatives alors que 8.82% étaient des hémocultures contaminées. Les 3 principales bactéries isolées avec un pourcentage élevé étaient : *Escherichia.coli* (26.53%), Ce qui confirme que la porte d'entrée la plus fréquente est la porte urinaire avec un pourcentage très élevé (34,69%) et que les femmes sont les plus touchées.

(42,85 %), *Staphylococcus.aureus*(12,24%), *Salmonellatyphi*(12,24%), Toutes les bactéries isolées étaient sensibles à la plupart des antibiotiques et peu résistantes aux bêta-lactamines.

Mot clés:

Septicémie, Hémoculture, Résistance, Maladies infectieuses, antibiotique.

Summary

Septicemia is a severe bacterial infection, sometimes mortal. In the aim to identifier the principal responsible bacteria and their sensitivities to antibiotics we made blood samples, on 340 patients divided into 3 services:

- Service of the infectious Diseases man presents a percentage of 38.52%
- Service of the infectious Diseases woman presents a percentage of 31.76%
- Service of the infectious Diseases pediatri presents a percentage of 29.70%

The 340 samples of blood cultures were performed at the laboratory of bacteriology of Boufarik, 14.41% were positive, 76.76% were negative while 8.82% were contaminated. The 3 principal bacteria isolated with an high percentage were: *Escherichia.coli* (26.53%), Which confirms that the most frequent main door is the urinary door with a very high percentage (34,69%) and that the women are the most touched. (42,85%), *Staphylococcus .aureus* (12,24%), *Salmonella typhi* (12,24%), All the isolated bacteria were sensitive to the most of the antibiotics and little resistant to the bétalactamines.

Key word:

Septicaemia, Hémoculture, Resistance, Infectious illness, antibiotic.

Introduction

Les maladies infectieuses restent une cause majeure de mortalité dans le monde. Elles sont responsables de 17 millions de décès dans le monde par année, ce qui représente un tiers de la mortalité. Les maladies infectieuses représentent 43% des décès dans les pays en voie de développement, contre 1% dans les pays industrialisés (**Falhaut et Zylberman, 2008**).

La septicémie se définit comme une maladie infectieuse causée par un micro-organisme (**Carpentier, 2001**). Elle est caractérisée par la présence de germes dans un site de l'organisme, elle peut se généraliser lorsque l'organisme se défend mal contre un germe particulièrement virulent (**Boulahbal, 2006**).

Le diagnostic de la bactériémie et de la septicémie repose sur la mise en évidence de germes causals par l'hémoculture (**Carpentier, 2001**.)

L'hémoculture est le seul examen de toutes les analyses bactériologiques réalisé au laboratoire, qui a pour but de détecter la présence de bactérie dans le sang, leur isolement, leur identification, et la détermination de leur sensibilité aux antibiotiques, ce qui va permettre de choisir une thérapeutique efficace (**Rahal, 2008**).

L'objectif de notre étude est de déterminer le profil épidémiologique d'une maladie et la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées par les hémocultures dans le service des maladies infectieuses et cela pour optimiser l'antibiothérapie probabiliste aux bactériémies et septicémies dans ces services. L'hémoculture se donne pour objectif de rechercher dans le sang des germes qui témoignent d'une bactériémie lorsque ceux-ci s'accompagnent d'un syndrome infectieux ou d'autres syndromes qui sont responsables d'une septicémie dont la forme la plus grave est le choc septique.

Toutes ces raisons nous ont motivés à réaliser une étude sur les infections d'origine bactérienne chez les patients internes issus des différents services infectieux de l'hôpital de Boufarik. Notre démarche expérimentale s'articule autour des principaux points suivants :

Déterminer le profil épidémiologique de bactériémie, septicémie et la mise en évidence des germes dans le sang par hémoculture.

L'identification de ces germes et leur sensibilité aux antibiotiques.

I.1.Généralités sur le sang

Le sang est la plus importante partie du corps humain car il est l'élément essentiel qui sert à relier tous les autres organes du corps humain entre eux .Il constitue environ 80% du poids du corps humain et son volume est en moyenne de 5 litres chez la femme et de 5,5 litres chez l'homme (**Shewood, 2006**).

Il se compose de deux grandes parties :

- ❖ Le plasma
- ❖ Les éléments figurés.

Les éléments figurés que l'on appelle également cellules sanguines comprennent :

- ❖ Les globules rouges (ou hématies)
- ❖ Les globules blancs
- ❖ Les plaquettes ou thrombocytes(**Bariety, 2003**).

I.1.1. Le plasma

Le plasma est un liquide de couleur jaune pâle légèrement sale constitue de 95% d'eau (Servant au transport), et de sels minéraux (à l'équilibre osmotique). Il y a aussi la présence de protéines plasmatiques telles que l'albumine, le fibrinogène et les immunoglobulines et les lipoprotéines (**Campbell et al., 2006**).

I.1.2. Les cellules sanguines

Les érythrocytes

Les globules rouges sont des cellules qui ont la forme d'un disque aplati dont les deux faces forment des disques biconcaves, ce qui leur avantage pour leur fonction : le transport de l'oxygène, chaque millilitre de sang contient environ 5milliards d'érythrocytes, ce qui exprime en pratique clinique en 5 millions / mm³(**Dee unglanaud, 2007**).

Les globules blancs ou leucocytes

Les leucocytes sont les cellules mobiles du système de défense immunitaire de l'organisme .Par immunité, on entend la capacité de l'organisme à résister à des substances étrangères potentiellement dangereuses ou des cellules anormales à éliminer (**Sherwood, 2006**).

Les plaquettes

Les thrombocytes ne sont pas des cellules à proprement parler mais des fragments cellulaires, qui se sont détachés par bourgeonnement de très grandes cellules résidentes de la moelle osseuse appelées, mégacaryocytes. Les plaquettes sont schématiquement des vésicules contenant un peu de cytoplasme de ce mégacaryocyte et entourées par un morceau de sa membrane, il y a normalement 150.000 à 350.000 plaquettes / mm³(Dee unglaud, 2007).

Le sang est normalement stérile et ne contient pas de micro-organismes. Quand les bactéries passent dans la circulation sanguine il y a développement d'une bactériémie ou d'une septicémie (Skurnik, 2008).

I.3. Septicémie

Une septicémie se définit comme le passage répété des bactéries dans le sang, à partir d'un foyer tissulaire de multiplication microbienne. Ce foyer s'est constitué lors de la pénétration de bactéries exogènes par une porte d'entrée muqueuse ou tégumentaire. Au cours d'une septicémie, les bactéries régulièrement véhiculées par le sang peuvent aller ensemençer d'autres tissus, créant alors des foyers secondaires ou métastases infectieuses qui peuvent, à leur tour, ensemençer le sang circulant.

Les septicémies traduisent l'extension d'une infection tissulaire. L'entité pathologique infectieuse est constituée par le foyer initial et le foyer secondaires éventuels.

La symptomatologie clinique des septicémies est dominée par :

- ✓ la 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. (Jean-Louis Fauchere, 1997)

I.3.1. Différents types des septicémies

Selon les localisations de la porte d'entrée et du foyer, on distingue trois schémas physiologiques principaux :

Septicémie endocarditique

Ce type de septicémie survient surtout dans le cas de lésions cardiaques préexistantes (valvulopathie par exemple) ou chez les porteurs de prothèses cardiaques ou vasculaires.

A l'occasion d'une bactériémie (le plus souvent l'origine tégumentaire ou dentaire), quelques bactéries viennent coloniser sur petit coagulum de fibrine de plaquettes au niveau de l'endocarde lésé ou de matériel étranger intravasculaire. Ce coagulum colonisé par les bactéries augmente progressivement qui constitue le foyer de la septicémie. Les bactéries responsables sont fréquemment des *Streptocoques*.

(Faucher et Avril, 2002)

Septicémie thrombophlébitique

La porte d'entrée est souvent tégumentaire (brèche cutanée traumatique, chirurgicale, ou corps étranger). Le foyer se constitue au voisinage de la porte d'entrée et consiste en un coagulum de fibrine de cellules sanguines et immunitaires et colonisé par les bactéries (thrombus infecté). De ce thrombus se détachent irrégulièrement des fragments (micro-embolus septiques), qui ensemencent massivement le sang. Les métastases sont fréquentes et intéressent surtout les tissus pulmonaires, nerveux, rénaux, et le système réticulo-endothélial. L'aspect de la courbe thermique est irrégulier (fièvre désarticulée), les germes en cause sont surtout des *Staphylocoques* et des *Streptocoques*. **(Faucher et Avril, 2002)**

Septicémie a point de départ lymphatique

La porte d'entrée est souvent digestive. Les bactéries pathogènes de la muqueuse intestinale se multiplient au niveau des ganglions mésentériques qui constituent le foyer. A partir de ces foyers mésentériques, quelques bactéries peuvent gagner le sang par le canal thoracique, les bactéries restent dans les ganglions ou leur lyse libère de grandes quantités d'endotoxines qui passent dans le sang. Il s'ensuit des chocs endotoxiques fréquents et une fièvre rythmée ou en plateaux de plus en plus élevées. Les bactéries impliquées sont souvent des bactéries dites intracellulaires, notamment des *Salmonelles* (fièvre typhoïde), les *Brucelles* (brucellose). **(Fauchere et Avril 2002)**.

I.3.2. Facteurs favorisants

L'extrémité d'âge est un facteur favorisant de manifestation des septicémies, les sujets les plus âgés (65 ans), les nouveau-nés ainsi que les petits poids de naissance, et les prématurés.

Immunodépression

Les personnes immunodéprimées telles que les diabétiques, les cancéreux, les personnes atteints de sida et d'autres facteurs peuvent être une cause de l'immunodépression comme drépanocytose.

Micro-organismes et porte d'entrée

Les micro-organismes ont des différentes portes d'entrées:

- Au niveau cutané: *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp*
- Au niveau digestif: *Entérobactéries*, anaérobies
- Au niveau urinaire: *Escherichia coli*
- Au niveau du cathéter (intraveineuse): *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp*, *Entérobactéries*, *Candida*
- Au niveau génital: *Clostridium*, *Entérobactéries*, germes anaérobies.

. Les Porteurs de matériel prothétique :(Cathéter veineux, sondes, etc.), les germes en cause sont souvent des *Staphylococcus aureus* ou non aureus qui ont colonisé le matériel étranger.

(Le tableau V) explique les différents portes entrées voir annexe II

(Christla et Tattevin ,2007).

I.3.3. Épidémiologie

Chaque année plus de 18 millions de cas de septicémies sont recensés dans le monde. Selon des études épidémiologiques cette infection grave cause annuellement près de 135000 décès. En Europe et près de 21500 aux Etats Unis soit 200 et 300 pour 100000 habitants/an

(Christla et Tattevin ,2007).

Depuis le début des années 1990, ce sont les bactéries à Gram positif (+) qui sont le plus

Souvent incriminés (50% des septicémies), suivies des bactéries à Gram négatif (-), (35%)

Puis des champignons (5%). En termes de gravité, l'ordre est inversé: champignons; bactéries

À Gram négatif; bactéries à Gram positif **(Christla et Tattevin ,2007).**

Les principales défaillances d'organes constatées au cours des septicémies sont rénales

(Insuffisance rénale aiguë) ou respiratoires (syndrome de détresse respiratoire aiguë).

La mortalité est globalement de 20% très dépendante du nombre d'organe défaillants et du terrain sur lequel la septicémie survient **(Christla et Tattevin ,2007).**

I.4. Hémoculture

L'hémoculture consiste à mettre en culture du sang circulant qui est normalement stérile, afin de pouvoir rapidement diagnostiquer une bactériémie et aussi de détecter et identifier l'agent infectieux responsable d'une septicémie (Denis *et al.*, 2007).

L'hémoculture est la technique permettant la recherche des bactéries dans le sang par un examen bactériologique, qui consiste à l'ensemencement sur milieu de culture approprié avec une certaine quantité de sang dans le but de rechercher des germes (Kamoun, 2002).

Les hémocultures positives

L'hémoculture positive a été jugée macroscopiquement au fond des flacons par l'apparition des colonies blanchâtres puis un trouble ou une hémolyse dans le bouillon, ou par un examen microscopique et par des repiquages sur des milieux gélosés (gélose de chocolat, Drigalski, gélose Columbia contenant du sang de mouton (5 %), de l'acide nalidixique et de l'acolistine) (Maïga *et al.*, 2004).

Les hémocultures négatives

Les hémocultures négatives ont été gardées à 37° C pendant au moins 10 jours (Maïga *et al.*, 2004).

I.5. Les principaux germes isolés par les hémocultures

I.5.1. Bacilles à Gram négatif (BGN)

I.5.1.1. Les Entérobactéries

La famille des Enterobacteriaceae est constituée de genres bactériens qui sont rassemblés en raison de caractères bactériologiques communs.

- ✓ Ce sont des bacilles à Gram négatif dont les dimensions varient de 1 à 6 µ de long et 0.3 à 1 µ de large.
 - ✓ Mobiles par une ciliature péritriche ou immobiles.
 - ✓ Se développant en aéro-anaérobiose et sur gélose nutritive ordinaire.
 - ✓ Acidifiant le glucose par voie fermentative (à la différence des *Pseudomonas*) avec souvent production de gaz.
 - ✓ Ne possédant pas d'oxydase (à la différence des *Vibrio* et *Pasteurella*).
 - ✓ Réduisant les nitrates en nitrites.

- ✓ Commensaux de l'intestin.
- ✓ Trouvé dans l'environnement hospitalisé.

Trouvé beaucoup plus dans les infections urinaires et nosocomiales. (Avril et al., 2000).

Classification phylogénique

Genre : *Escherichia* , *Klebsiella* , *Enterobacter* , *Proteus* , *Citrobacter* , *Serratia* , *Salmonella* , *Shigella* , *Azizona* , *Hafnia* , *Providencia* , *Edwardsiella* .

Espèces les plus rencontrées : *E.coli* , *K.pneumoniae* , *E. cloacae* , *P.mirabilis* , *P.vulgaris* , *p.morganis* , *S. marcescens* , et d'autres espèces (Larpen, 2000).

(Le tableau V) explique la Représentation des caractères biochimiques chez les Entérobactéries voir annexe II

Escherichia coli

Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire. Au cours des dernières décennies, le rôle de certaines catégories d'*E. Coli* dans les syndromes diarrhéiques a été précisé et les mécanismes de ce pouvoir pathogène ont été analysés.

E. coli est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. Dans l'intestin on trouve l'espèce aérobique quantitativement, la plus importante est une Infection urinaires (impliquée dans 80% des infections urinaires), elle est responsable de 40% des septicémies et des méningites néonatales et les Infections intestinales (gastroentérites)

(Avril et al ., 2000 ; Nauciel ,2000 ; Grosjean ,2009).

Les souches d'*E. Coli* sont généralement sensibles aux antibiotiques. Néanmoins cette sensibilité doit toujours être vérifiée par un antibiogramme.

(Avril et al.,1992)

(Le tableau VI) explique la Représentation des caractères biochimiques chez *E. coli* voir annexe II

***Klebsiella-Enterobacter-Serratia*(K.E.S)**

Dans le groupe *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* dit K.E.S. Sont rassemblées des *Enterobacteriaceae* qui ont en commun les caractères suivants :

- La réaction de voges –Proskauer(Vp) est généralement positive. Cette réaction consiste à mettre en évidence la production d'acétylméthylcarbinol(ou acétoine) par la bactérie.
- Ce sont des Bactéries pathogènes opportunistes.
- Ces espèces sont souvent multi résistantes aux antibiotiques (**Avril et al., 2000**).

Klebsiella

Sont des Enterobacteriaceae toujours immobiles, possédant généralement une capsule et fermentant de nombreux glucides. Elles ne possèdent ni ODC, ni ADH, ni TDA, ni d'H₂S. Quatre espèces ont un pathogène pour l'homme *K.pneumoniae* (espace type), *K.oxytaca*, *K.rhinoscheromatis*. (**Avril et al., 2000**).

Elles sont fréquemment isolées des eaux, du sol et des végétaux. Elles sont présentes dans la flore fécale de l'homme et sont souvent commensales de la peau, des muqueuses et de la voie respiratoire.

K.pneumoniae, la plus souvent rencontrée, et *K. oxytaca* sont principalement de broncho-pneumopathies aiguës ou subaiguës, mais aussi d'infection urinaires, hépatobiliaires ou de pus divers.

En raison du terrain débilite sur lequel elle se développe, les septicémies à *Klebsiella* ont un pronostic très sévère.

K.ozanae n'est pratiquement isolée que d'infections respiratoires chroniques. Elles sont rarement isolée d'urines ou d'hémoculture(**L.avril. et al., 2000**).

(Le tableau V) sont représentés des caractères biochimiques de différentes espèces de *Klebsiella* voir annexe II

Enterobacter

Sont des *Enterobacter* VP(+), voisines des *Klebsiella* dont elles se distinguent par leur mobilité (à rechercher à 37°C et à 22°C), par la présence d'une ODC, parfois d'une ADH et par l'absence d'uréase. La TDA, la DNase, la production indole et d'H₂S sont négatives.

Les *Enterobacter* sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. On les trouve dans les eaux, sur la peau et les muqueuses. Ce sont des bactéries de l'hospitalisme.

Ces bactéries pathogènes opportunistes peuvent être responsables des septicémies, des méningites, d'infections urinaires, d'infections néonatales et des suppurations diverses (**Avril et al., 2000**).

Le tableau VI explique Représentation des caractères biochimiques de différentes espèces d'*Enterobacter* voir annexe II

Serratiamarcescens

Famille des Enterobacteriaceae, qui peut produire des pigments.

Les souches de *Serratiamarcescens* sont souvent retrouvées lors d'infections nosocomiales (Avril et al., 2000).

Genre *Providencia*

Ce sont des Bacilles à Gram négatifs appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Le genre *Providencia* comprend de nombreuses espèces dont *Providenciastuartii*, *Providenciarettgeri*, *P.stuartii* et *P. rettgeri* responsables d'infections urinaires et autres infections chez l'homme (Sougakoff et Trystram, 2003).

Genre *Edwardsilla*

Genre *Citrobacter*

Salmonella fait partie de la famille des Enterobacteriaceae. C'est une Bactérie pathogène, à transmission oro-fécale, agent des fièvres typhoïde et paratyphoïde, et d'infection intestinales.

Les *Salmonelles* sont des bacilles mobiles aéro-anaérobies, à Gram négatif, oxydase négatif, nitrate positif, fermente le glucose (Herold, 2004).

Les *Salmonelles* sont des *Entérobactéries* virulentes à tropisme digestif, pathogènes pour l'homme et pour nombreux animaux vertèbres. Il est différent pour les *Salmonelles* majeures (que l'on ne trouve que chez l'Homme) et les *Salmonelles* mineures (ubiquistes).

❖ ***Salmonelles* majeures**

Salmonella typhi, *S. paratyphi*, respectivement responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdiques. La transmission se fait par les selles des malades. Après infection, l'hémoculture est positive avant la coproculture (passage dans le sang, puis retour dans l'intestin grêle).

❖ ***Salmonelles* mineures**

Salmonella responsables de gastroentérites (bactéries Enteropathogènes invasives).

Ces germes sont portés par l'homme et l'animal. Les *Salmonelles* mineures sont impliquées dans 30 à 60 % des infections alimentaires. Un manque d'hygiène est très souvent à l'origine de la transmission. La plupart des bactériémies à *Salmonella*, notamment mineures, ont été observées chez les sujets infectés par le virus immunodéficience humain (VIH). (Sougakoff et Trystram, 2003).

I.5.2. Cocci à Gram positif

Les cocci à Gram positif comprennent les *Staphylocoques* et les *Streptocoques*

I.5.2.1. Les *Staphylocoques*

D'après **Euzeby (2002)**, la nouvelle classification des *Streptocoques* est la suivant :

Le genre *Staphylococcus* comprend actuellement 44 espèces et sous espèces, dont les plus importantes sont :

- *S. aureus* : dont la virulence est reconnue.
- *Staphylococcus* à *coagulase négatives* : dont la virulence est globalement plus faible, une quinzaine d'espèces ont été décrites en pathologie humaine mais les plus fréquemment isolés sont :
- *S. epidermidis* .

(Le tableau VII) explique les caractères d'identification des trois principales espèces du genre *Staphylococcus* voir annexe II

Les *Staphylococcus sp* sont de plus en plus responsables de septicémie .le *S.aures* est le plus sévère. Est une espèce de *Staphylococcus sp*, qui en culture présente des colonies rondes, lisses dorées qui sont bien distinguées sur la gélose Chapman, cette espèces secrètent une exotoxine parfois une *Enterotoxine*. Par rapport aux autres espèces de *Staphylococcus sp*, elles produisent de la coagulase dans le sérum de lapin en coagulant le fibrinogène en fibrine. (**Manuilz, 2004**).

I.5.2.2. Les *Streptocoques* et les *Enterocoques*

La famille des Streptococaceae regroupe les genres *Streptococcus* et *Enterococcus* rassemblent des cocci Gram positif souvent disposés en chaînettes, dépourvus de catalase, aéro-anaérobie facultatif (**Quevauvilliers et al., 2007**).

- La classification de *Streptococcus sp* reposait sur trois types de caractères : l'hémolyse entourée les colonies obtenues sur gélose au sang les propriétés antigéniques et les propriétés physiologiques (**Larazi, 1999**).
- Les *Streptococcus* se divisent en *Streptococcus* alpha-hémolytique et beta- hémolytique.
- Les *Streptococcus* alpha-hémolytique sont des germes commensaux de l'Homme, leur réservoir naturel est l'oropharynx.

- Les *Streptococcus* beta-hémolytiques : ne sont pas des germes commensaux mais de germes pathogènes. Deux sont trouvés principalement en clinique : Les *Streptococcus* du groupe A et les *Streptococcus* du groupe B.
- La présence normale de *Streptococcus* au niveau cutané et muqueux explique qu'ils peuvent contaminer fréquemment des prélèvements et constituer des souillures (Avril, 2000)

Pouvoir pathogène

Les *Streptococcus* sont responsables de nombreuses infections aiguës tel que l'endocardite. Infection urinaire génitale, bactériémie et abcès pulmonaires (Bonnet, 2002).

Les *Streptococcus* sont naturellement sensibles à de nombreux antibiotiques :

Bêta-lactamines, Tétracyclines, Chloramphénicol, Rifampicine et glycopeptides. Il existe une résistance à contaminer fréquemment des prélèvements et constituer des souillures (Avril, 2000).

Les Entérocoques du groupe D

Selon (Pily, 1997), les espèces les plus connues sont : *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. duran*

Les *Entérocoques* sont des germes commensaux de l'homme. Leur réservoir est le tube digestif. La transmission est oro-fécale (Skurnik, 2008).

I.5.3. Les germes exigeants

I.5.3.1. Neisseriaceae

Les genres *Neisseria* sont des cocci Gram négatif qui généralement se présentent en deux (diplocoques) ou de petites chaînettes ayant l'apparence d'un grain de café. Toutes les espèces du genre *Neisseria* habitent dans les surfaces des cellules muqueuses du sang chaud des hôtes, en s'aggravant ces germes provoquent des septicémies. La plupart des *Neisseria* sont oxydases positives (Win Koneman, 2006).

I.5.3.2. *Haemophilus influenzae b*

Cette espèce est un bacille Gram négatif, appartient à la famille des Pasteurellaceae. A l'époque on pensait que c'était l'agent étiologique de l'influenza. Il y a notamment différents groupes de Influenza (Mark et al., 2002).

I.5.3.3. Listeriaceae

Le genre *Listeria* se présente comme le germe responsable des affections relativement rares, les personnes immunocompétentes ne sont pas en générale malades du fait de la propagation de la *Listeria* non pathogène. La listériose concerne les personnes immunodéprimées :

personnes âgées ; par contre la femme enceinte peut transmettre au nouveau né ce germe (infection materno-foetales, pendant la naissance ou contact post natal) enclenchant une septicémie.

Il y a 7 espèces de *listeria* seul *Listeria monocytogene* est pathogène pour l'Homme
(Harold, Marenne, 2004)

I.5.3.4. Bactéries à croissance lente ou difficile

Bactéries anaérobies

La majorité des bactéries anaérobies appartiennent à la famille des bactéries qui sont à Gram négatif alors que les autres font partie du genre *Clostridium* à Gram positif, ceux à Gram négatif sont commensales de la cavité buccale (Raoult, 1998 ; Remic, 2004).

Groupe HACCEK

Ce groupe comprend les espèces bactériennes ou les genres bactériens suivant :

Haemophilis parainfluenza, *H. aphrophilus*, *H. paraphrophilus*,
Actinobacillus actinomycetemcomitans, *Cardiobacterium hominis*, *Capnocytophaga*,
Eikenellacaiiiodens et *Kingella Kingae*.

Ces bactéries appartiennent à des familles différentes mais ont en commun plusieurs caractéristiques : ce sont de petits bacilles Gram négatif pléomorphes à l'exception de *Capnocytophaga* qui est un bacille fusiforme. Ces bactéries sont présentes dans la flore commensale de l'oropharynx de l'homme. (Cohen, 2002).

I.6. Antibiogramme et antibioresistance

I.6.1. Définition de l'antibiogramme

L'antibiogramme se donne pour objet de mesurer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, un antibiogramme détermine des concentrations minimales inhibitrice ou CMI.

Le but essentiel de l'antibiogramme est l'aide à la décision thérapeutique. Il sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne et à l'identification bactérienne.
(Caquet, 2006)

I.6.2. L'antibiorésistance

La résistance d'une souche, est la capacité de se multiplier dans une concentration d'antibiotique supérieure à celle qui inhibe la majorité des souches appartenant à la même espèce (Boles et al., 2001).

II. Matériel et méthodes

L'objectif de notre travail était de diagnostiquer la septicémie bactérienne, chez des patients suspects afin d'évaluer la fréquence de cette infection après la mise en évidence de cette pathologie. L'identification des germes causals était notre second objectif pour passer finalement à faire l'antibiogramme dans le but d'utiliser l'ATB du choix pour les patients.

II.1. Matériels

II.1.1. Matériel biologique

Notre lieu d'études a été effectué au niveau du laboratoire principal de l'établissement public hospitalier de Boufarik, unité bactériologie durant une période de 5mois (à partir de février2014 jusqu'à juin2014). Notre échantillonnage est de 340 prélèvement de sang contenu dans des flacons d'hémocultures dont 131 provenant du sexe masculin est 108 provenant du sexe féminin, est 101 provenant des enfants.

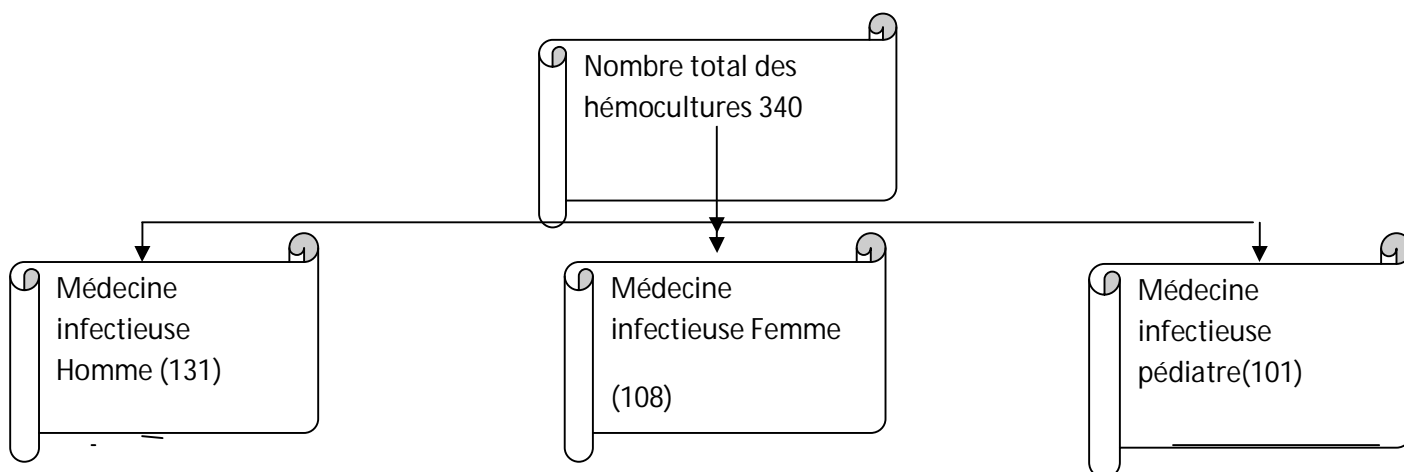


Figure 1: Nombre d'hémoculture reçue par les trois services

II.1.2. Matériels non biologique

Les produits et les appareils qui ont été utilisés durant notre stage, nous ont été fournis par le laboratoire principal de l'établissement public hospitalier de Boufarik, unité bactériologie, sont cités en annexe.

II.2.Méthodes

Le diagnostic étiologique d'une septicémie est assuré par l'hémoculture. C'est un prélèvement veineux pour étude bactériologique. L'examen s'effectue dès qu'il y a suspicion de bactériémie, de préférence au moment des pics d'hyperthermie ($>38.5^{\circ}\text{C}$) ou d'hypothermie ($<36^{\circ}\text{C}$) ou d'apparition de signes de décharge bactériennes (frissons), pour chercher et identifier un éventuel agent infectieux dans le sang (Carpentier et al., 2001).

II.2.1.Prélèvement

Le prélèvement a été effectué par les cliniciens, doit être effectué si possible au début de la maladie et avant toute administration d'antibiotique et au moment des pics fébriles.

Le volume de sang prélevé par flacon d'hémoculture doit être : 7 à 10 ml chez l'adulte et 2 ml chez le nouveau-né (Denis et al., 2007).

Le prélèvement se fait dans les conditions suivantes :

- La désinfection des mains et le port des gants sont obligatoires.
- Le site de prélèvement doit être soigneusement désinfecté avec l'alcool à 70°.
- Le prélèvement doit être réalisé soit par une seringue stérile soit par un dispositif d'aspiration à usage unique.

II.2.2.Le milieu de culture (bouillon d'hémocultures)

Le milieu pour hémoculture est classiquement un bouillon nutritif conditionné en flacon, permettant la croissance rapide de tous les microorganismes ayant une signification pathogène, permettant la culture de la plupart des bactéries rencontrées en pathologie humaine et contenant un anticoagulant comme **Le polyanéthol sulfonates de sodium (SPS)** qui est très généralement utilisé dans les bouillons pour hémoculture à une concentration de 0,025 à 0,05 %. Le SPS favorise la croissance de la plupart des bactéries car il inhibe l'activité bactéricide du sérum, il inhibe la phagocytose, il inactive le complément, neutralise le lysozyme et les antibiotiques de la famille des aminosides, que l'on inclut avec le sang du patient.

II.2.3. Nombre de prélèvement

En l'absence de traitement antibiotique dans les jours précédents, il est recommandé de réaliser une première série de deux à trois hémocultures dans un intervalle de 24 heures espaces de 30 à 60 minutes est généralement suffisant pour isoler le germe responsable de la bactériémie.

II.2.4. Acheminement au laboratoire

Le flacon d'hémocultures sont correctement étiquetés, envelopper dans le coton, et accompagnés d'une fiche de renseignement bien rempli : le nom, le prénom, la date, le service, heure, l'Age, et le numéro de flacon. (Kamoun., 2001)

II.2.5. Incubation des flacons d'hémocultures

Les flacons d'hémocultures doivent être incubés à 37°C pendant 24 à 48h dans l'étuve et inspectés quotidiennement pendant 10 jours. (Kamoun., 2001)

II.3. Diagnostic bactériologique

II.3.1. Examen macroscopique

Au laboratoire les flacons sont examinés chaque jour à partir de la 6ème heure d'incubation.

Les différents aspects du bouillon d'hémoculture en cas de positivité est représenté par le tableau ci-dessus

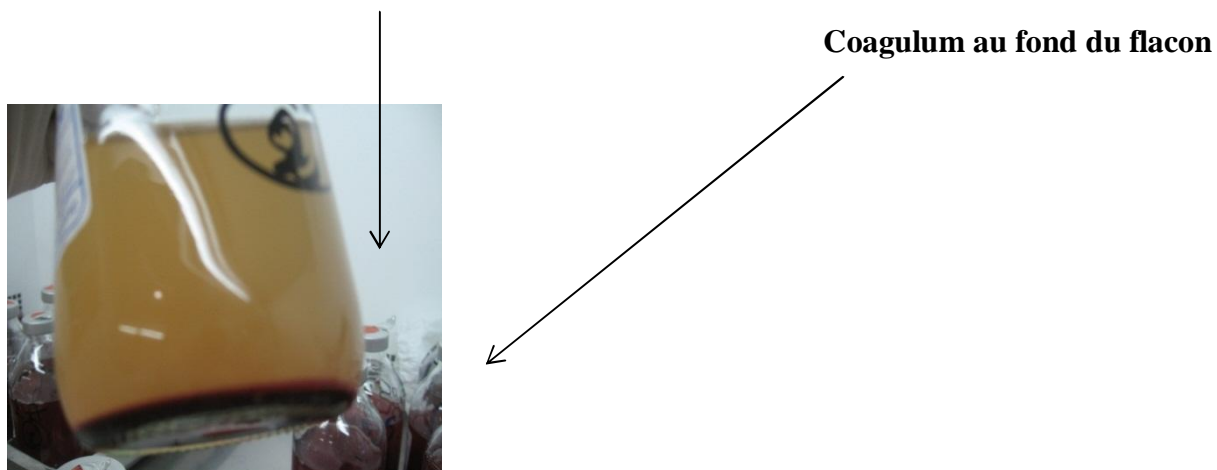
Tableau II : Différents aspects du bouillon d'hémoculture en cas de positivité

| Aspect macroscopique | Bactérie en cause |
|-----------------------------|--|
| Turbidité | Bacilles a gram (-) aérobies <i>Staphylococcus sp</i> <i>bacteroides sp.</i> |
| Hémolyse | <i>Streptococcus sp</i> <i>Staphylococcus sp</i> <i>Listeria monocytogenes</i> |

| | |
|----------------------------|---|
| | <i>Clostridium sp</i> <i>Bacillus sp</i> |
| Production de gaz | Bactéries aéro- anaérobies ou anaérobies strictes |
| Coagulum | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| Colonies au fond du flacon | <i>Streptococcus sp</i> <i>Nocardiasp</i> |

(Remic, 2004)

Bouillon d'hémoculture avec le sang de patient



La figure 2 : Représente cas positif d'hémoculture positif (Originale)

II.4. Isolement

Un examen microscopique positif ou négatif doit être complété par des repiquages, qui sont réalisées après 24h (1^{er} jour) et (3eme jour), car certain germes poussent sans signes apparent sur le flacon, ainsi que devant tout signe de positivité en dehors des jours de mise en culture après confirmation par un état frais ou coloration de Gram.

Le dernier repiquage sera effectué après 10 jours d'incubation avant de rendre un résultat négatif.

II.5. Technique

Quelques ml de sang sont prélevés à l'aide d'une seringue stérile. On dépose une à deux gouttes au point périphérique d'une boîte de gélose au sang cuit (GSC) milieu en riche pour toutes les germes exigeant et une boîte de gélose Hectoen pour les *Entérobactéries*. La technique d'ensemencement la plus habituellement appliquées est la méthode des quadrants.

Les boîtes de pétri gélosée au sang cuit (GSC) sont incubées sous une atmosphère de 5% de CO₂ dans une étuve spéciale, et les boîtes de pétri gélose Hectoen dans une étuve ordinaire à 37°C pendant 24-48h.

L'aspect macroscopique des colonies sont représentée par le tableau ce dessus

Tableau III :Aspect macroscopique des colonies selon les différents milieux de culture

| Les milieux de cultures | Aspect macroscopique des colonies | Identification |
|--------------------------------|--|---|
| Gélose nutritive | Des colonies isolées ou regroupées | Tous les germes non exigeants |
| Chapman | Colonies luxuriantes d'une couleur jaune-orange | <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcusepidermidis</i> |
| Hectoen | Colonies verts Colonies saumon Colonies saumon à centre noir | <i>Pseudomonas</i> , <i>Shigella</i> , <i>Providencia</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> <i>Proteus, Salmonella.</i> |
| Gélose au sang cuit | Colonies muqueuses Hémolyse | <i>Gonocoque</i> <i>Pneumocoque</i> |

| | | |
|--|--|-------------------------|
| | α Hémolytique verdâtres β Hémolytique claire | <i>Streptococcus sp</i> |
|--|--|-------------------------|

(Anonyme, 2010)

II.6. Examen microscopique

Les examens microscopiques ont pour intérêt d'étudier l'absence ou la présence de germes.

Examen à l'état frais

Principe

L'examen à l'état frais permet l'observation des bactéries vivantes en l'absence de toute fixation ou coloration, cet examen permet l'observation de la morphologie des bactéries, leur mode de regroupement ainsi que leur mobilité.

Technique

Une goutte de l'eau physiologique est déposée sur une lame propre dans une zone stérile devant le bec de bunsen, auquel on ajoute quelques colonies prélevées à l'aide d'une pipette de Pasteur ou avec l'anse de platine stérile. Après homogénéisation, on couvre la culture avec une lamelle puis on passe à l'observation au microscope photonique avec l'objectif X 40 (Faucher, 1997).

Coloration avec bleu de méthylène

Cette étude est réalisée par coloration avec du bleu de méthylène.

Principe

Cette coloration permet d'observer la présence des leucocytes (lymphocytes, polynucléaires altérés ou non), les globules rouges, la présence et l'aspect morphologique des bactéries (bacilles et cocci), ainsi que leur mode de regroupement (diploïdes, grappes de raisin...etc).

Technique

On recouvre un frottis fixé à la flamme avec le bleu de méthylène, qu'on laisse agir pendant 3 minutes. On rince à l'eau de robinet et puis on sèche la lame avant qu'on passe à l'observation au microscope optique objectif X100.

Lecture

Tous les éléments cellulaires ainsi que les bactéries apparaissent colorés en bleu.

Nous apprécions aussi la morphologie (bacilles ou cocci). (**Faucher., 1997**)

Coloration de Gram

Principe

Coloration basée sur la perméabilité de la paroi des bactéries à l'alcool, cet examen permet l'observation de la morphologie des bactéries, leur mode de groupement et le type de leur paroi.

Technique

La technique de coloration de Gram est présentée comme suit :

Le frottis sur la lame est préparé, et doit être mince et homogène. Ce dernier est séché puis fixé à la chaleur.

1^{er} temps : on couvre le frottis avec une solution de violet de Gentiane, et on laisse agir pendant une minute.

2^{eme} temps : on couvre le frottis par le lugoldurant une minute.

3^{eme} temps : on effectue une décoloration par l'alcool (20 secondes) puis on rince à l'eau du robinet.

4^{eme} temps : une recoloration par la fushine est effectuée pendant une minute puis on rince à l'eau du robinet.

La lame est séchée à l'étuve pendant quelques minutes, on ajoute une goutte d'huile immersion sur la lame, puis on passe au microscope photonique avec un objectif X100.

Résultat

Ce caractère est essentiel pour classer les bactéries en deux catégories :

Bactéries ou cocci à Gram positif : celle qui garde la coloration primaire et qui apparaissent violettes après décoloration par l'alcool.

Bactéries ou bacille à Gram négatif : celle qui apparaît rose teintées par la fushine.

La coloration de Gram ne permet pas une identification mais une orientation.

La présence (ou absence) de bactéries leur forme (cocci ou bacille, cocobacille, fusiforme)

Leur groupement (amas, chainettes, diplocoques)

Leur Gram (+ou-)

Très utile car oriente l'antibiothérapie (**Faucher., 1997**).

II.7. Identification

Après repiquage et incubation, la croissance bactérienne peut révéler un seul type de colonie ou plusieurs types de colonies. Dans ce dernier cas, il faut les purifier et réisoler.

L'identification bactériologique, se fait à partir d'une culture pure en deux étapes :

Test d'orientation

Il comprend la coloration de Gram, le test de catalase.

Test de confirmation

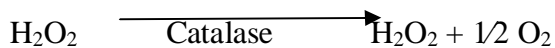
Il comprend la galerie biochimique spécifique pour chaque group de bactérie pour déterminer le genre et l'espèce. L'identification est complétée par un antibiogramme spécifique.

Teste d' catalase

Le but pour avoir les différences entre *les Streptocoques* et *Staphylocoque*

Principe

Cette enzyme empêche l'accumulation de l'eau oxygénée (H₂O₂) dont l'action serait létale pour la cellule bactérienne, H₂O₂ provient de la respiration oxydative des bactéries. Cette technique est représenté par la réaction suivant :



Ce test est effectué pour différencier les cocci à Gram positif.

Technique

Sur une lame de verre propre, déposer une goutte de H₂O₂, puis la mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette Pasteur boutonnée ou une anse plastique.

Lecture

Si des bulles se forment, la bactérie possède la (catalase +), des genres *Staphylococcus* et *Micrococcus*

Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme, des genres *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc* (catalase -).

Test spécifique au *Staphylococcus aureus* (doré)

La recherche de coagulase

Principe

La coagulase libre est une enzyme capable de coaguler in vitro le plasma, pour déterminer la pathogénicité et de différencier des *Staphylocoques*.

On dépose 0.5 ml du plasma de lapin dans les trois tubes sec :

Le 1^{er} tube témoins : on ajoute quelques colonies de souche de référence (**ATCC25 923, ATCC6538P**)

Le 2^{ème} tube : on n'ajoute rien,

Le 3^{ème} tube : on ajoute quelques colonies bactériennes de notre souche, on laisse dans un bain marie à 37°C pendant 3h ou bien on incube dans l'étuve à 37°C pendant 18-24h.

Lecture

Réaction positive : la formation d'un coagulum indique la présence de *S aureus*.

Réaction négative : pas de coagulation, ce sont des *Staphylococcus* à coagulase négative : *S.epidermidis*, *S. saprophyticus*.

Tests appliqués pour l'identification *Streptococcus pneumoniae*

La recherche du pouvoir hémolytique

Principe

Le pouvoir hémolytique est la lyse de globules rouges, observé sur gélose au sang frais, qui permet de déterminer le type d'hémolyse :

β hémolyse

α hémolyse ou absence d'hémolyse.

Technique

Ensemencement sur gélose au sang frais, puis incubation à 37°C pendant 24 heures

Lecture

Une zone verdâtre autour des colonies : *Streptococcus* *α*hémolytique

Une zone claire autour des colonies : *Streptococcus* *β*hémolytique

Test de l'esculine

Principe

Ce test permet d'identifier le *Streptocoque* du groupe D.

Technique

A partir de pipette stérile on prélève quelques colonies qui on ensemencer par piquer centrale dans un tube contient de la bille esculine, puis on incubé pendant 18-24 heures à 37°C

Lecture

Le noircissement de milieu indique que la bactérie est esculine positive

II.8. Identification par micro méthode

La galerie biochimique AP20E est composé de 20 micro tubes surmontés de cupules, contenant des substrats déshydratés, qui permettent de réaliser 20 tests biochimiques du métabolisme respiratoire, glucidique, protéique. Le test d'oxydase constitue le 21^{ème} test d'identification à effectuer hors galeries, des autres tests complémentaires peuvent être réalisés. (Biomerieux, 2006)

Technique

Après la préparation de la suspension bactérienne, nous commençons le remplissage des tubules de la galerie en suivant les étapes suivantes :

La galerie était sortie de son emballage, placée dans la boîte d'incubation et remplie d'eau pour former une chambre humide. Nous avons commencée de remplir les tubules puis mentionner la référence de la souche sur la boîte pour éviter de mélanger avec les autres lors de manipulation. Une culture bactérienne pure était prise, pour son identification sur la galerie API20E, nous avons préparé une suspension bactérienne homogène dans un tube contenant 10ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension bactérienne était introduite dans les tubes de la galerie à l'aide d'une pipette pour éviter la formation des bulles au fond des tubes poser la pointe sur les côtes de la cupule en incluant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant .

les cupules doivent être remplis complètement avec la suspension sauf Pour les tests **CIT, VP, GEL** puis les tests **ADH, ODC, LDC, H₂S**, et **URE** sont couvertes d'huile de vaseline afin d'obtenir une anaérobiose puis nous avons passé à l'incubation à 37°C pendant 18-24h.

Pour les tests **TDA, IND, VP** on ajoute des réactifs après incubation pendant 18-24h ou moment de lecture (**Biomerieux ,2006**)

TDA → réactif **TDA**

IND → réactif **KOVACS**

VP → réactif **VPI, VPII**

Lecture

Après incubation, la lecture se fait immédiatement pour certaines substrats par le virage de couleur, mais pour d'autre il faut ajouter des réactifs et attendre quelques minutes puis on interprète les résultats et obtenues en un profil numérique et se référer au catalogue analytique AP20E pour l'identification totale du germe en cause.

II.9.L'antibiogramme

L'antibiogramme est une méthode qui permet de définir in vitro la sensibilité ou la résistance des bactéries pathogène vis –à vis des antibiotiques .On utilise largement la méthode des disques sur gélose, en suivant une recommandation du réseau algérien de surveillance aux ATB en collaboration avec l'institut Pasteur d'Alger.

Technique

La technique de l'antibiogramme est basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration de l'antibiotique, obtenu après sa diffusion à partir du disque, qui est initialement chargé d'une quantité connue d'ATB (**Cheilala, 1996**).

Cas des bactéries non exigeantes

Principe

A partir d'une culture jeune. On racle à l'aide d'une pipette de Pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Puis on décharge la pipette dans 10ml d'eau physiologie stérile, on homogénéise la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5Mc Ferland.on passe à L'ensemencement sur le milieu MH (Mueller Hinton). Puis on Trempe un écouvillon stérile dans la suspension. Puis on Frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosé en stries très serrées. Finalement on Répété l'opération 02 fois en tournant la boîte 60°à chaque fois sans oublier la périphérie de la gélose.

Application des disques d'antibiotique

Il est préférable de ne pas mettre plus de 06 disques d'antibiotiques sur une seule boîte, les disques doivent être espacés de 24mm (centre à centre)

On applique les disques d'antibiotiques en pressant chacun à l'aide d'une pince de bactériologie stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé

Les disques antibiotiques sont différents selon le type de bactérie isolée, la liste des antibiotiques est indiquée dans l'annexe II

Incubation

L'incubation se fait pendant 18-24h à 37°C dans une étuve.

Lecture

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse métallique à l'extérieur de la boîte fermée.

Les résultats sont comparés avec des tableaux de lecture spécifiques à chaque groupe de bactéries (voir annexe II).

Les bactéries sont classées dans trois catégories : S, R, I

Cas des bactéries exigeantes

Dans ce cas nous avons les *Streptococcus*, dont l'antibiogramme est effectué sur gélose sang frais qui permet de voir le diamètre d'inhibition de la croissance autour des disques imprégnés d'antibiotiques, en permettant de classer les bactéries dans trois catégories : S, R, I

Test de sensibilité à l'optochine

Principe

Ce test permet de voir la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* à l'optochine et de conclure que le germe test est *S.pneumoniae*, (car il est 95% sensible à l'optochine).

Technique

On ensemence sur le milieu de culture gélosé au sang cuit la culture bactérienne *S.pneumoniae* (α hémolytique) à l'aide d'une pipette de Pasteur stérile, on ensemence des stries très serrées. Puis on dépose le disque d'optochine à 15mm du bord de la boîte. A l'aide d'une pince flambée et refroidie. On incube les boîtes dans l'étuve CO₂ à 37°C pendant 18-24 h

Lecture

Nous avons mesurés le diamètre d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle, Un diamètre d'inhibition supérieur ou égale à 12mm indique la présence d'un *Pneumocoque*. Certaines souches de *Pneumocoque* peuvent donner un petit diamètre d'inhibition avec l'optochine. S'il y'a pas une zone d'inhibition ou si son diamètre es inferieur a12mm, la bactérie est résistance à l'optochine.

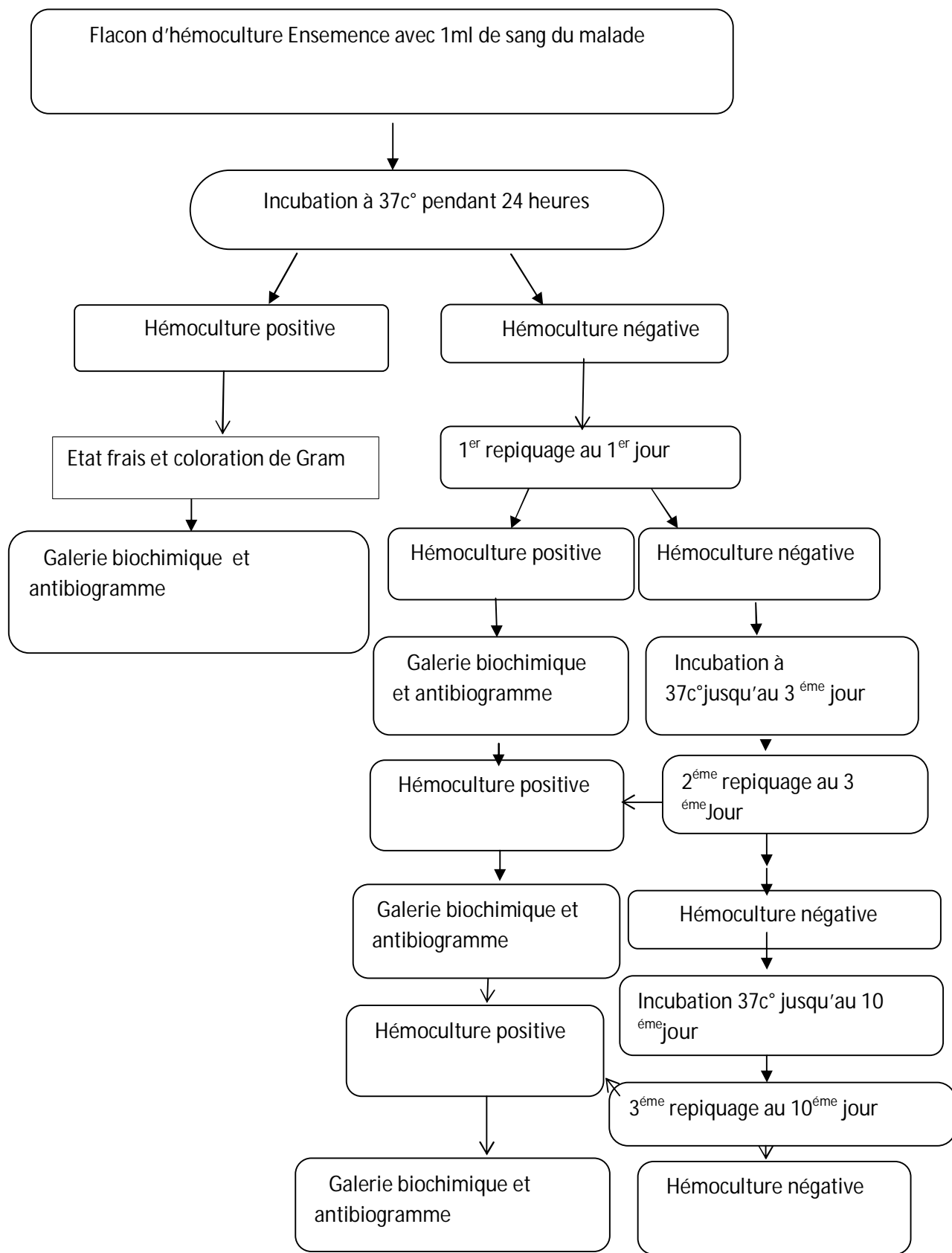


Figure 3 : Les différentes étapes de traitement des hémocultures au laboratoire

III.1.1. Résultats globaux des hémocultures

La fréquence des hémocultures positive et négative est représentée dans la figure 4

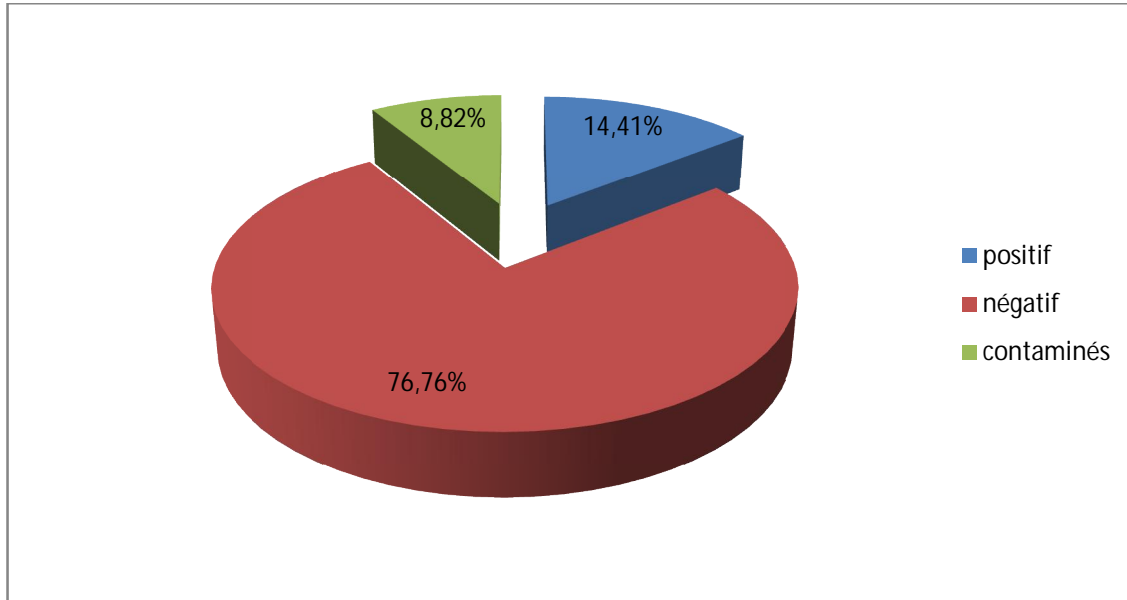


Figure 4 : Représente les résultats totaux des hémocultures

Les résultats totaux des hémocultures révèlent que le nombre des prélèvements négatifs est très élevé et remarquable 261 (soit 76,76%) par rapport le nombre des prélèvements positif 49 (soit 14,41%) et les prélèvements contaminés et plus faibles 30 (soit 8,82%).

L'hémoculture n'est pas toujours demandée sauf si le malade a une fièvre supérieure ou inférieure à 38°C, des frissons ou une hypothermie. Elle a été pratiquée la plupart du temps plusieurs fois durant l'hospitalisation du malade. Le taux important d'hémoculture, 261 (76,76%) a été considéré négatifs, ceci peut être dû à :

-L'origine de fièvre n'est pas infectieuse

-Cependant ces hémocultures peuvent être faussement négatives pour plusieurs raisons :

- ❖ Prise préalable d'antibiotique, ce qui entraîne l'inhibition bactérienne.
- ❖ Le prélèvement a été en dehors des pics thermiques ou la décharge bactérienne n'est pas importante dans le sang
- ❖ Quantité de sang prélevée non respectée, insuffisante ou trop importante.
- ❖ Cas d'un germe très exigeant nécessitant des facteurs de croissance, donc il serait préalable d'améliorer les techniques d'hémocultures pour les Selon

(M. Archambaud et al., 2008).

30 cas (8.82%) sont des cultures contaminées, c'est-à-dire présence de 2 à 3 types des germes différents dans le même flacon , ou bien la présence des germes de l'environnement ou des germes saprophytes de la peau comme , *Bacillus sp* , *Micrococcus sp* , *corynebacterium sp* et *propionibacterium sp* , pour cela les hémocultures doivent être prélevées a des moment différents .

Le nombre de 3 à 4 hémocultures échelonnées sur 48 heures est suffisant lors de fièvre typhoïde ou paratyphoïde ou de brucellose. Dans l'endocardite, 3 hémocultures sont demandées sur une période d'une à deux heures le premier jour.Selon PHILIPPON et al.(1983).

III.1.2.Répartition des résultats positifs selon les services

La fréquence de l'hémoculture positive selon les services est représentée par la figure 5

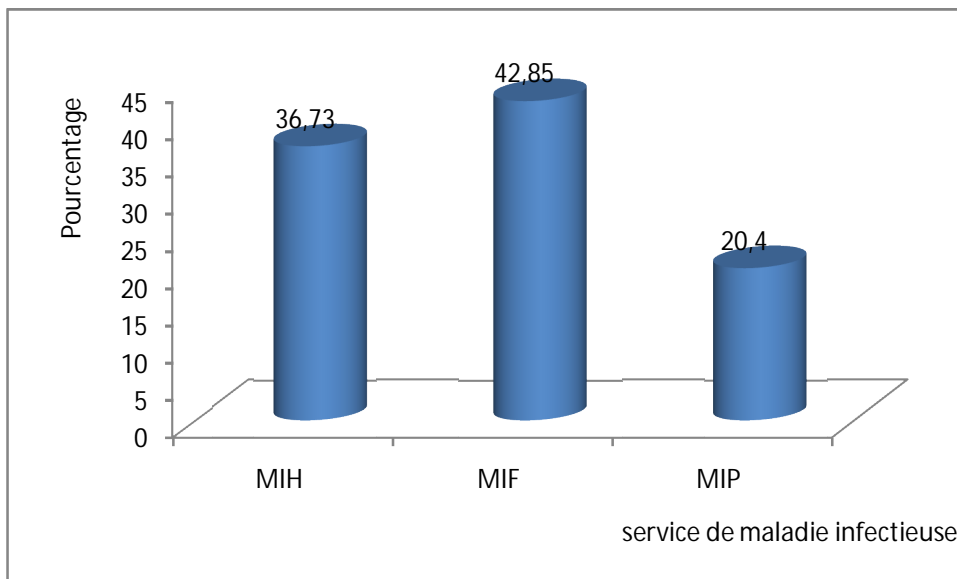


Figure 5 : Répartition des résultats positifs selon les services

Cette figure montre que le taux des hémocultures provenant de service MIF (42,85%), est plus élevé que celui provenant du service MIH (36,73%), alors que celui provenant de service MIP est de (20.49%). Notre résultats est comparable avec DEMBELE 2008 Le taux élevé des hémocultures positives chez les femmes pourrait être expliquée par le fait que les femmes possèdent plus de portes d'entrée que les hommes.

III.1.3.Répartition des résultats positifs selon l'Age des patients

La fréquence de l'hémoculture positive selon l'âge est représentée par la figure 6

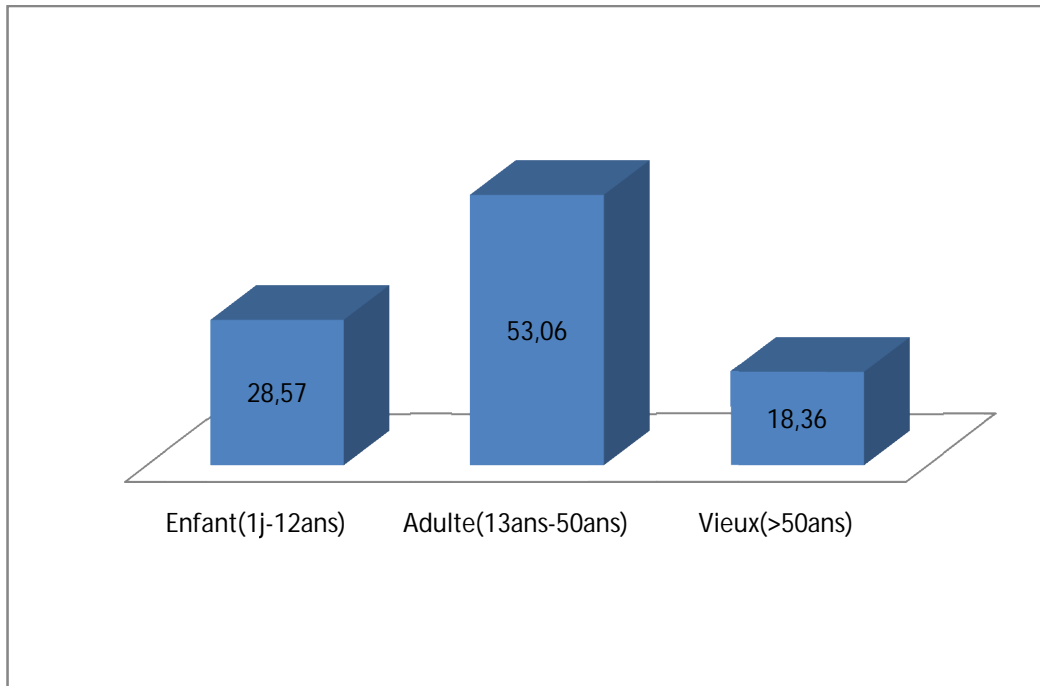


Figure 6 : Répartition des résultats positifs selon l'âge

Les tranches d'Age des 340 patients étudiés, se divisent par trois catégories entre enfant (1j-12ans) adultes(13ans-50ans) et vieux (>50ans), la tranche d'Age la plus touchée par les septicémies dans nôtres études est la tranche d'Age la plus touchée par les septicémies dans nôtres études est la tranche d'adulte avec un taux très élevé 53,06%, suivie par le tranche d'enfant avec un taux de 28,57%, et la tranche d'Age des vieux avec un taux de 18,36%. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par DEMBELE 2008.

III.1.4.profiles des résultats positives selon les portes d'entrées

Les portes d'entrée des germes isolés par hémoculture sont représentées par la figure 7.

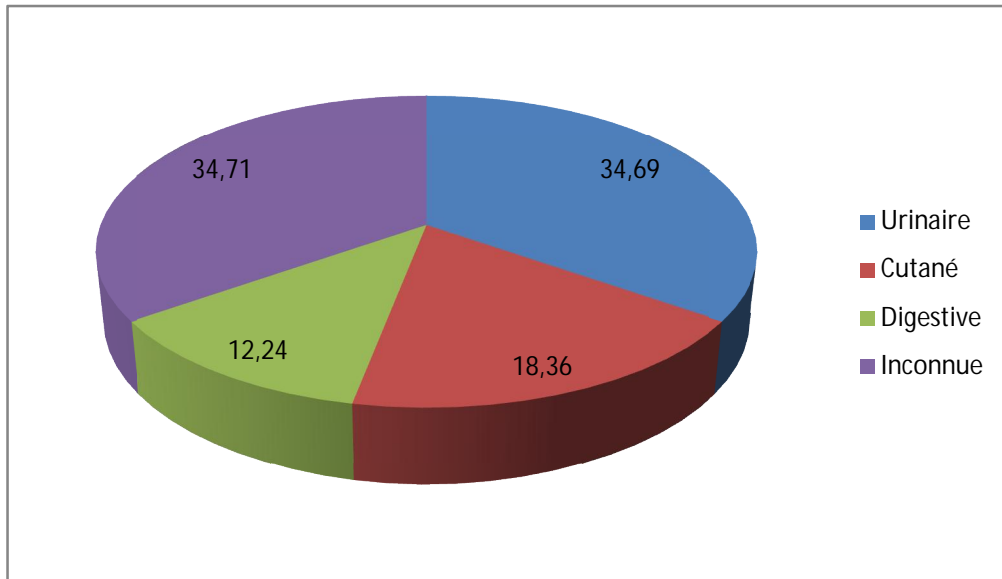


Figure 7: Répartition des portes d'entrées des germes

D'après cette figure , nous remarquons que la porte entrée la plus fréquente est urinaire avec un taux de (34,69%) ,le taux de la septicémie dont la porte d'entrée est inconnue, est élevée similaire à la porte d'entrée urinaire , suivie par la porte entrée cutanée avec un taux de (18,36%) , puis par la porte entrée digestive avec un taux de (12,24%).

Les portes entrées la plus fréquente est inconnu avec un taux de 34,71%, qui peut être lie à la flore endogène et saprophyte du malade ou à une origine nosocomiale, suivie par la porte entrée urinaire avec un taux de 34,49%, cela peut être explique par influence d'un ensemble de facteur l'infection :

- Le sondage vésical, qui est le facteur principal responsable des infections urinaires lies au soin
- L'hospitalisation à longue durée
- manque d'hygiène (désinfection incomplète de matériel réutilisable selon **(Bonnet JMet al ., 2002)**).

III.1.5.Représentation des bactéries isolées selon la coloration Gram

Les bactéries isoler selon la coloration de Gram est représenté par la figure 8

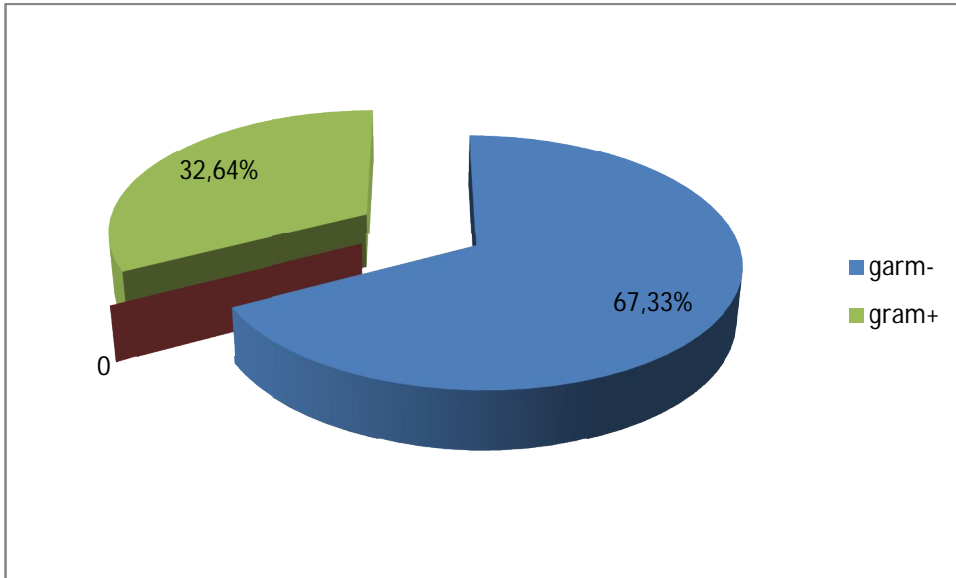


Figure 8: Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram

D'après cette figure, nous avons remarqués que le taux des bacilles Gram négatif ou BGN est plus élevé par rapport au taux des cocci Gram positif obtenu. Nos résultats sont confirmés par les résultats de KI-ZERBO GA et al .1996, DOSSO M, et al 1988, NKURIKIYINFURA JB et al 1985 qui ont travaillé sur plusieurs régions au niveau du Mali (Abidjan, Dakar, Kinshasa et Bamako).

III.1.6.Répartition des résultats selon les souches isolées

Les différents germes identifiés sont représenté par la figure 9

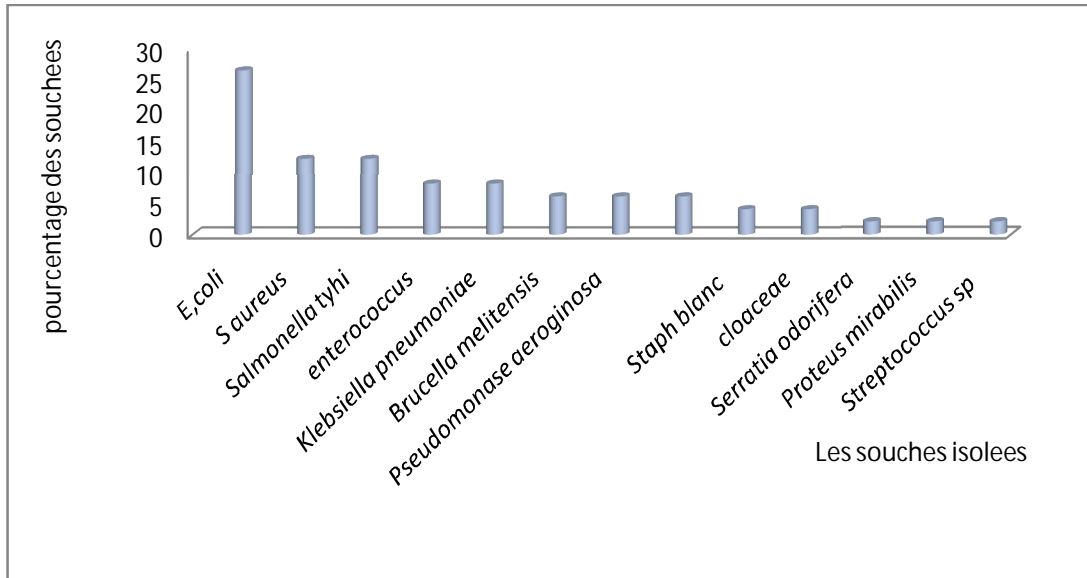


Figure 9: Répartition des germes isolées

A partir de 49 germes identifiés, nous avons remarqués que *E. coli* occupe la 1^{er} classe avec une fréquence de 26.53% suivie par *S. aureus* et *Salmonella typhi* avec un taux de 12.24%, suivie par *Enterococcus* et *K. pneumoniae* avec un taux de 8.16% , suivie par *Brucella melitensis* et *Streptococcus a hemolytique* et *Pseudomonase aeruginosa* avec une fréquence de 6.12%

Les plus faibles taux sont ceux des *Cloaceae* avec un taux de 4.08%, suivie par *Proteus mirabilis*, *Serratia odorifera* , *Streptococcus sp*.

Nous avons aussi constaté que les *Enterobacteries* prédominent par rapport les autres bactéries à Gram positif nos hémocultures confirme les résultats de DOSSO et al ,1988 de KI-ZERBO et al 1996, et de NKURIKIYINFURA et al 1985.

Les principales *Entérobactéries* isolée dans notre travail, *E. coli*, et *Salmonella typhi* est, *K. pneumoniae*, nous confirme que nos résultats sont similaire à ceux retrouvés par l’hôpital de point G, *Escherichia coli* et *K.pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobactersp.* ont été les principales *Entérobactéries* isolées des hémocultures au C.H.U. de Cocody à Abidjan de 1982 à 1986 (DOSSO et al., 1988) .

Ces résultats peuvent s'expliquer par, le faite que les infections dues aux bacilles à gram négatif, qui sont localisé peuvent génères une septicémie.

Parmi les BGN, nous remarquons qu'*Escherichia coli* est le germe, qui a été le fréquemment isolé 26,53% surtout dans la septicémie à porte entrée urinaire. Cette fréquence est expliquée par le faite qu'*E.coli* :

- Est une espèce ubiquitaire, hôte normale de l'intestin et elle peut être également trouvée au niveau de diverses muqueuses chez l'Homme.
- Un germe facile à diagnostiquer

Concernant les cocci gram positif et *Staphylococcus aureus* occupent la perrière place suivie par *Enterococcus* et *Brucella melitensis* en deuxième place. Nous avons reçus dans notre stage des flacons pour trois patients de l'hôpital d'EL AFFROUN de la wilaya d BLIDA, ces patients âgés entre 26-35ans étaient des éleveurs qui ont consommé du lait crus (lebane) de la même vache. Les trois patients étaient hospitalisés, ils avaient les mêmes symptômes, des frissons hypothermies. Ces trois patients étaient touchés par *Brucella melitensis*.

Alors que les *Staphylococcus a hemolytique* et *Proteus mirabilis* c'est un germes hospitaliers ne présentent qu'un faible pourcentage.

II.1.7.Résultats de l'antibiogramme des souches identifié

Le taux de résistance et de sensibilité chez *E. coli* est illustré dans la figure 10

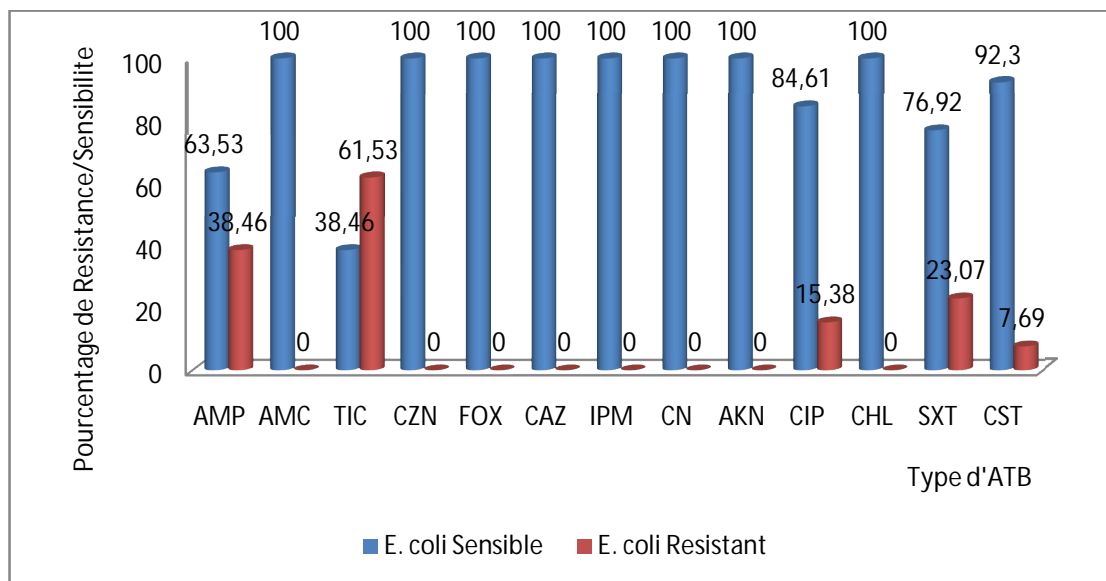


Figure 10 : Profile résistance et de sensibilité d'E. Coliaux antibiotiques

Les résultats d'antibiogramme d'*E. Coli* sont représentés dans cette figure , montrent que les souches d'*E coli* se manifestent par un taux de sensibilité 100% à AMC et la CZN , FOX, CAZ, IPM ,CN ,AKN ,CHL et un taux de la sensibilité de 92,30% à CST alors que le taux de sensibilité à la CIP est de 84,61% puis la AMP de 61,53% , puis la TIC 38,61% .

Le taux de résistance et de sensibilité chez *S.aureus* est illustré par la figure 11

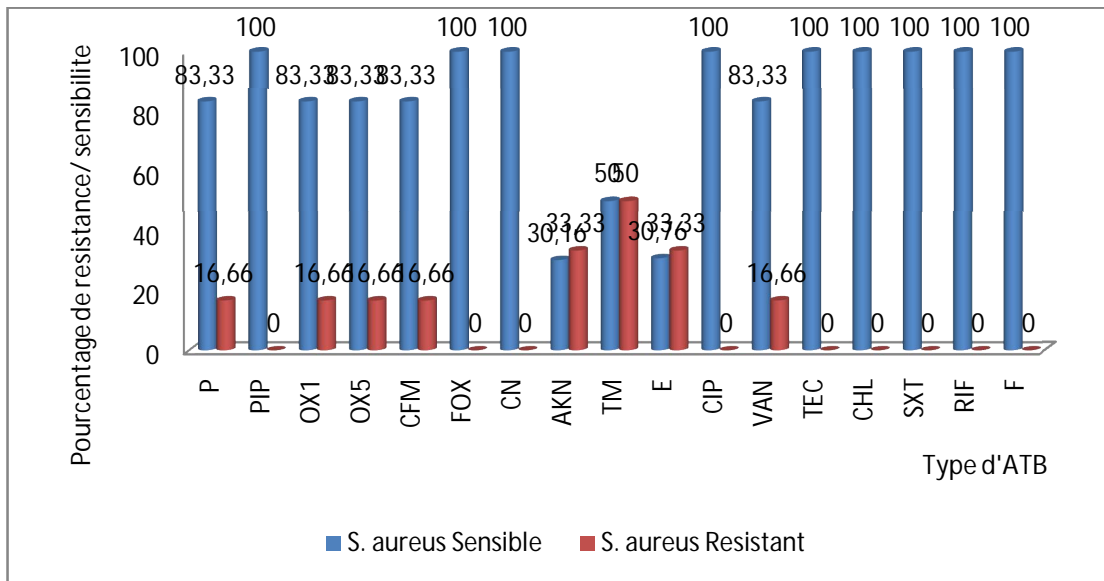


Figure 11 : Profil de résistance et de sensibilité de *S. aureus* aux antibiotiques

Les résultats d'antibiogramme de *S .aureus* sont représentés dans cette figure , montrent que les souches de *S aureus* se manifestent par un taux de la sensibilité 100% à PIP et la FOX, CN, CHL,SXT ,FAD,RIF, TEC , CIP et un taux de la sensibilité 83,33% à P 00, OX1 ,CFM ,VAN, OX5 et la TM de fréquence de 50% , puis de AKN , E , 30,76% .

Le taux de résistance et de sensibilité chez *Salmonella typhi* est illustré par la figure 12

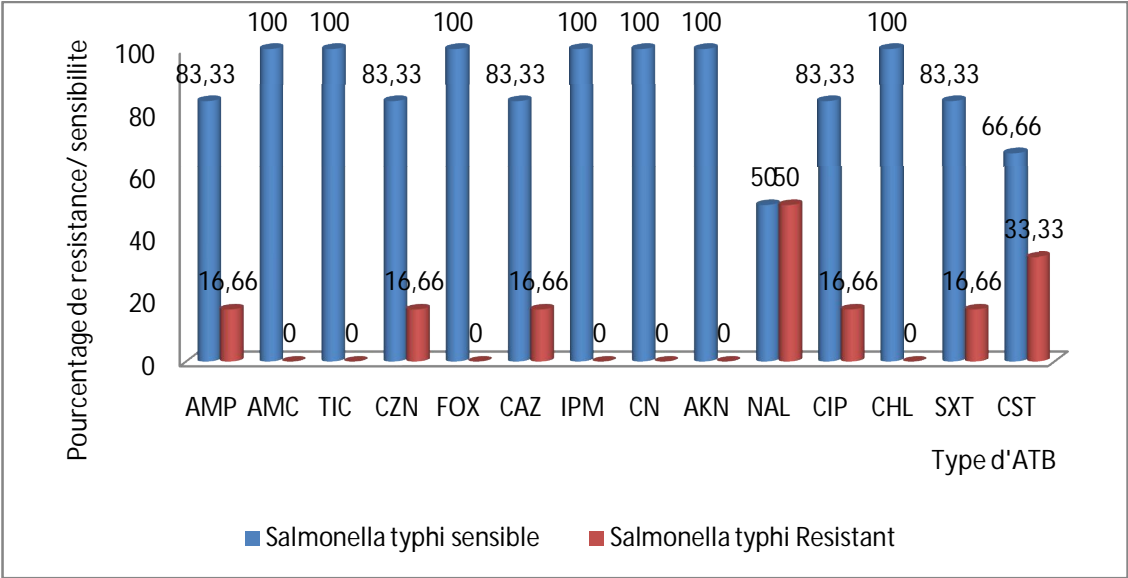


Figure 12 : Profil de résistance et de sensibilité de *Salmonella typhi* aux antibiotiques

Les résultats d'antibiogramme de *Salmonella typhi* sont représentés dans cette figure, montrent que les souches de *Salmonella typhi* se manifestent par un taux de la sensibilité de 100% à AMC et la IPM, CN, CHL, AKN et le taux de la sensibilité 83,33% à AMP, TIC, CZN, CAZ, CIP, SXT et la CST de fréquence de 66,66%, puis la 50% à la NAL.

Le taux de résistance et de sensibilité chez *K. pneumoniae* est illustré par la figure 13

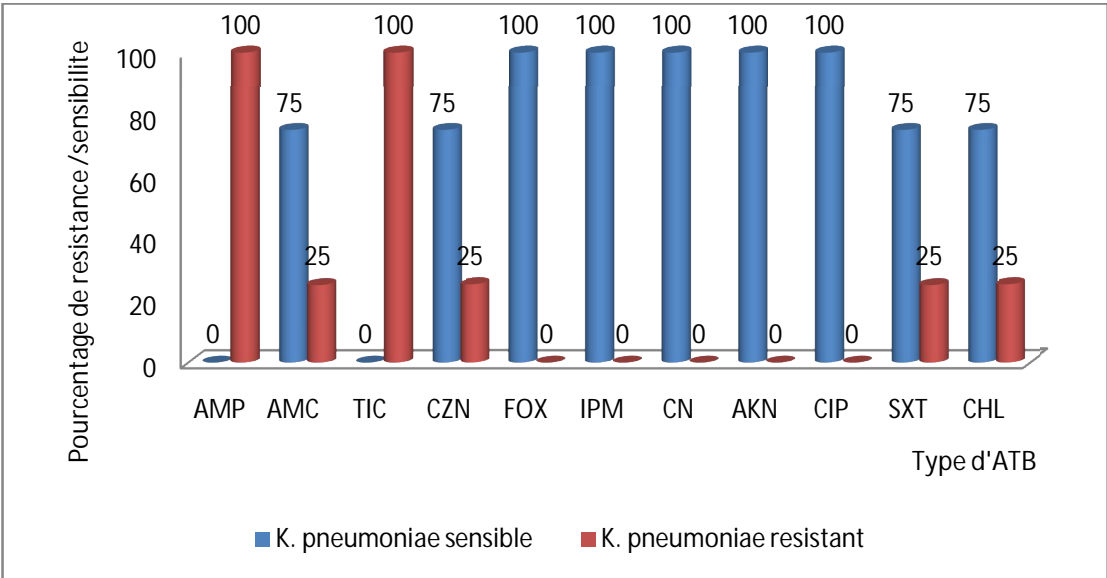


Figure 13 : Profil de résistance et de sensibilité de *K. pneumoniae* aux antibiotiques

Les résultats d'antibiogramme de *k.pneumoniae* sont représentés dans cette figure, montrent que les souches de *k. pneumoniae* se manifestent par un taux de la sensibilité de 100% à FOX et la IPM, CN, AKN ,CIP et le taux de la sensibilité 75% à AMC ,CZN,SXT, CHL

Le taux de résistance et de sensibilité chez *D'Enterococcus* est illustré par la figure 14

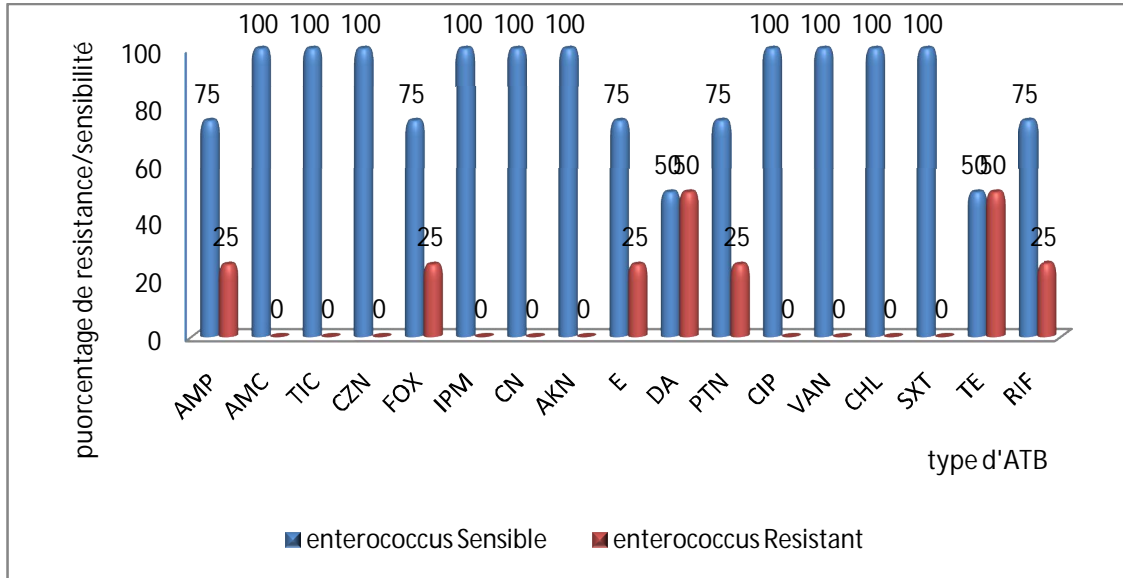


Figure 14 : Profil de résistance et de sensibilité d'Enterococcus aux antibiotiques

Les résultats d'antibiogramme d'Enterococcus sont représentés dans cette figure, montrent que les souches d'Enterococcus se manifestent par un taux de la sensibilité de 100% à P et la TIC, CZN, GN, PT ,AKN ,CIP ,SXT ,VAN, CHL, IPM ,SXT et le taux de la sensibilité 75% à AMP , FOX , E, RIF, PTN et la fréquence de 50% à la PA ,PTN ,TE .

Le taux de résistance et de sensibilité chez *Brucellamelitensis* est illustré par la figure 15

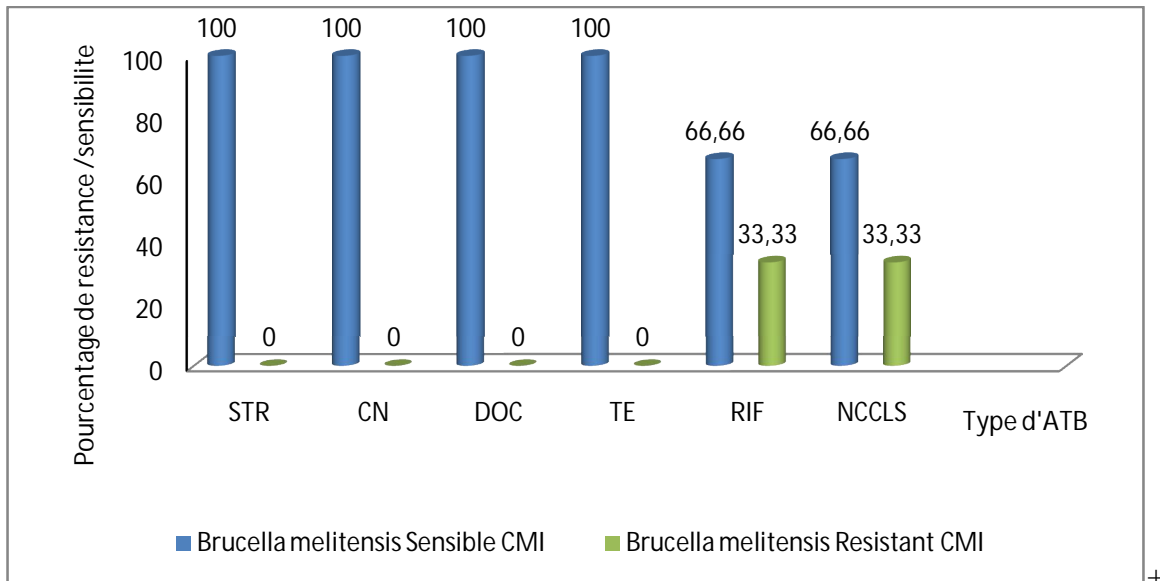


Figure 15 : Profil de résistance et de sensibilité de *Brucella melitensis*

Les résultats d'antibiogramme de *Brucella melitensis* sont représentés dans cette figure, montrent que les souches de *Brucella melitensis* se manifestent par un taux de la sensibilité de 100% à STR et la CN, DOC, TE et le taux de la sensibilité 66,66% à RIF, NCCLS.

Notre étude menée sur les tests des espèces bactériennes isolées, sensibles aux antibiotiques (antibiogramme), a mis en évidence l'existence de fréquences variable de l'antibiorésistance des différentes bactéries identifiées. Ceux-ci ont montré que les bactéries ont développées des moyens de résistance, qui leur confèrent une insensibilité aux antibiotiques, ce qui pose un problème majeur dans la thérapeutique.

Dans notre étude nous avons trouvées que la majorité des bacilles à Gram négatif, qui font parties des *Entérobactéries* qui a une forte sensibilité (100%) à les β – lactamines sauf à la pénicilline nous avons observé une forte sensibilité à 100% à l'Amoxicilline (AMC), (FOX), (IPM) et une forte sensibilité aussi à les aminosides (CN), (AKN) et autre (CHL), est une sensibilité de 80% à (SXT),(AMP). Selon Nampouzanga Anselme DEMBELE, (2008).

Nous avons observé que la majorité des cocci Gram positif, qui a une forte sensibilité (100%) à les β – lactamines (AMC) Aminoside (CN),(AKN) est les Quinolones (CIP) est les Glycopeptides (VAN) (TEC) , est une sensibilité de 80% à (CHL), (SXT), (RIF),(F) Selon Nampouzanga Anselme DEMBELE, (2008).

Conclusion

Le sang, milieu naturellement stérile, peut devenir un foyer de développement pour les germes pathogènes, opportunistes ou commensaux.

Le diagnostic de la septicémie doit être rapide et précis, alors que l'hémoculture (24h jusqu'à 10jours) reste la méthode la plus utile et la plus puissante qui permettent de réaliser ce diagnostic, dans le but d'affirmer une infection sanguine généralisée et de guider la thérapie.

Sur les 340 prélèvements d'hémoculture étudiés pendant une période de 5 mois (fevrier-juin), 261 (76,76%) étaient négatifs un taux qui est très élevé et remarquable, vue la nécessité de trouver une nouvelle méthode de diagnostic plus rapide,

Parmi les germes les plus isolés d'hémocultures, les bacilles à Gram Négatif 67,33%, *E coli* représente 26,53% des cas positif,

Ce qui confirme que la porte d'entrée la plus fréquente est la porte urinaire (34,69%) et que les femmes sont les plus touchées (42,85 %),

La plus par des hémocultures positives sont d'origine nosocomiale cela est expliqué par la fréquence élevé des bactéries multi- résistance qui sont en générale des *Entérobactéries*

L'émergence de phénomène de résistance aux antibiotiques conduits à des échecs thérapeutique et des problèmes économique due à la rareté des molécules des antibiotiques actuellement active sur les bactéries

Références bibliographiques

ANDREJ TRAMPUZ, WERNER ZIMMERLI., 2003 : Pathologie et Traitement de la septicémie CURRICULUM Forum Med Suisse No 35 27 Août 2003 : 811-15

Anonyme ., 2006 :catalogue analytique de API20E .Ed :bioMerieux ,SA.REF: 20190.1999-2005-2006.N°09264d_11/06.pp:348.

Antibiogramme

AVRIL J-L. ET FAUCHERE J-L ., 2002 : Bactériologie générale et médicale, édition ellipses, paris ;(365p)

AVRIL.J-L ; DABERNAT. F. ; DENIS F. ; MONTIEL.H ., 2000 : bactériologie clinique, Edition ellipses, 3eme Edition (paris),(179,208, 209, 210, 211, 213, 214 ,511p)

AVRIL-L., DONNIO P.Y., PERRIN M., ET BIORON P., 1999 l'hémoculture : un examen en apparence simple.

BALEDENT F., 1997 :.coloration usuelles en bactériologie. Ed: Développement et santé. n°127.

BARIETY M, JACQUES M, BARIETYC., 2003 : Sémiologie médicale, Edition Masson ,564p

BEGUË P, J.ASTRUC. ,1999 : Pathologie infectieuses de l'enfant, Edition Masson, 612p

BERAUD J., 2004 : Les techniques d'analyse biologique guide théoriques et pratique, Edition Lavoisier, 2080p

BERCHE P., 1999 : Bactériologie des infections humaines. Edition Masson, paris 276p
bobo-dioulasso (burkina faso). médecine d'afrnoire: 1999, **46** (12) 600-2

BOLES J.M, OFFENSTARDT G, CARDINAUD J.P, GILBERTC, JAEGER A ., 2001 :Réanimation médicale Edition Elsevier Masson, 1860p

BONNET JM., GANDOIS A., MARCHON B. Infection à Streptocoque. MédChéd. (Elsevier,Paris),8-009-A-10.2002. p : 18-25.

BONNET. J.M ; GANDIOS. ; MARCHON .B. ,2002 : Infection a streptocoques, Encycl. Med .Chir.(Elservier ,paris),8-009-A10

BOULAHBAL F, 2008 : microbiologie. 5eme édition (OPU), Algérie, 173p.

CAMPBELL N.A, J.B REESE, R.MATHIEU COLLABORATEUR

CAQUET R., 2001 : Le vademécum des examens de laboratoire, Edition Mimi, paris, 8eme Edition ,418p

CAQUET R., 2006 : 250 Examens de laboratoire prescription et interprétation, Edition Elsevier Masson, 437p

CARBONNELLE (B), DENIS (F) ; MARMONIER (A) ; PINON (G) ; VARGUES (R),, 1990 : Biologie, médical « techniques usuelle » paris : 330p.

CARPENTIER.J.P. ; ROLAND.P. ; MORILLON.M. ; 2001 : bactériémie, encycl. Méd. chir (Elsevier,paris),8-003-R-10.

CHEILALA L.J., 1996 ; 1997 Infection bactériennes et mycosiques chez le sujet VIH positif. Thèse Med. Abidjan.

CHEN A., 2002 : cœur et médecine interne, Edition estem , 2309p

CHRISTLA M, TATTEVIN P.,2007 :Septicémie .Maladies Infectieuses et Réanimation médicale. CHU Pontchaillou.35033 Rennes Cedex 08/02/2007 ; 1351-58p

CHU Pontchaillou.35033 Rennes Cedex 08/02/2007 ; 1351-58p

Collège des Universitaires des Maladies Infectieuses et

DEE UNGLAUD .S . ; 2007 : Physiologie humaine, Edition Pearson éducation, 4^{ème}Edition, France, 196 p

DENIS F .,M.C. POLY , C. MARTIN , E. BINGIN ,R. QUETIN. , 2007 : Bactériologie médicale Technique usuelles , Edition Elsevier Masson , 573p

DOSSO M, FAYE H, AISSI H, SYLLA DF,EHOUNOUD H et KOTCHI R .,1988 :Les du laboratoire de bactériologie. Med Afr Noire1996 ; 43 : 322-8.

Étude des hémocultures positives au CHU de Fann Dakar : bilan de trois années

FALHAUT.A.ET ZYLBERMAN.P. ,2008 : des épidémies et des hommes, Edition de la Martinière, 238p

FAUCHER (JEAN-LOUIS),, 1997 :«Bactériofiches techniques et bactériologie clinique »:Paris:Ellipses,174p.

GAUDY C ., J. BUXERAUD., 2005 : antibiotiques pharmacologie et thérapeutiques , Edition Elsevier Masson , 269p

GOUYOU. B-J ., 2003 : Diagnostique et traitement de l'infection bactérienne précoce de nouveau née, agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé (France) ,140p.

hémocultures au C.H.U. de Cocody (Abidjan) de 1982 à 1986. Publications Médicales Hémocultures aux cliniques universitaires de Kinshasa. Med Afr Noire 1985 ; 32 : 79-

HEROLD.G. , 2004 : Médecine interne, une approche systématique, Edition de Boeck, 2eme Edition, paris ,1994p

immunodéprimés au VIH /SIDA. Thèse Méd, Bamako, 2006

IMU-BAC., 2007 :A, p.26-27

JARAUDS.S ; VANDENESCH.F ET ETIENNE .J., 2000 :microbiologie des staphylocoques problèmes actuels de résistance aux antibiotiques ; in Beaucaire G ; bouscarate .F ; carcenti-ettesse.H ; floret D ; Garaffo .R : actualités sur les infections à staphylocoques ; phase 5Ed ; paris ; pp : 7-19

JEHL(F) ; GEL(F) ; ZINNER(M) ; WEBER(M) ; GERARD(A),2003 : de l'antibiogramme à la ription paris : biomerieux :134p(5)

KI-ZERBO G.A ET COLL.,1999 : septicémie à hafniaalvei:a propos d'une observation chez un patient VIHseropositif au centre hospitalier de

KI-ZERBO GA, THIOUB B, DIOP BM,BADIANE S, COLL-SECK AM ET SAMB A.,1996 :-Étude des hémocultures positives au CHU de Fann Dakar : bilan de trois années du laboratoire de bactériologie. Med AfrNoire ;**43** : 322-8.

KOUMARE B, KOUMARE AK ET SINGARE MA., 1983 : Étude bactériologique des septicémies en milieu chirurgical. Mali Med : 24-8.p

KRIEG . R ET HOLT J-G ., 1984 :bergys'manual of systematicbacteriology , vol i , the Wilkins e Co, Baltimore .

KUBAB.N., I. HAKAWATI, S.A.KUBAB .,2002 :guide des examens biologiques ,4eme Edition lamarre,521p

L'hémoculture : un examen en apparence simple.

LARAZI M ., 1999 : FICHE TECHNIQUE D'IDENTIFICATION DES STREPTOCOQUES ET ENTEROCOQUE, institut pasteur d'Algérie, pp 3-5

LAROUSSE MEDICAL. ,2005.

LARPENT J-P ., 2000 : introduction à la nouvelle classification bactérienne chez TECE DOC , 1073p

MAÏGA I.I SIDIBE M, MAÏGA A et ROCHERAU.,2004 : A Les bactéries isolées par hémocultures à l'hôpital du Point « G ».Mali Méd 2004; 19:18-23

MAIGA IA, DUFLO B, DUFLO-MOREAU B, AG RHALY A ET KOUMARE B – SYNDROMES., 1985 : fébriles en médecine interne à Bamako .Mali Méd ; **8** (1-2) : 9-15.p

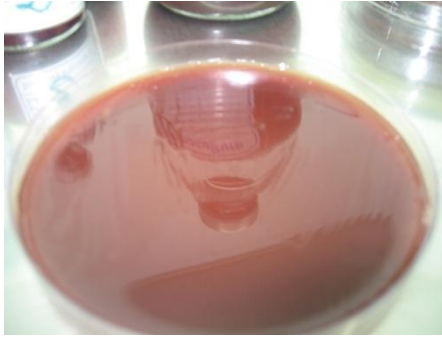
MANUILA L ., 2004 : dictionnaire médecin , Edition Masson , 676p ,

MERCIE J.C ., F .LECTERC, M. LABENNE, E. JAVOUHEY., 2006 : prise en charge du choc septique de l'enfant , Edition Elsevier

NKURIKIYINFURA JB, MUYEMBE TL, VANDEPITTE J et ODIO W., 1985 : Évaluation des hémocultures aux cliniques universitaires de Kinshasa. Med Afr Noire **32** : 79-85.

- NOUTCKDIE J L., 2006** : Etude des infections urinaires bactériennes chez les patients
- ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE., 2003** : Fiches modèles d'Information à l'usage des prescripteurs Médicaments utilisés dans les Infections bactériennes Genève : OMS, 95p(20)
- PECHERE (J-C) ; ACAR(J) ; ARMENGAUD(M) ; GRENIER (B) ; MOELLERING ® JR ; WALDVOGEL (F) ; ZINNER (S),1999** : .reconnaitre, comprendre et traiter les actions. Paris, maloine : 800p
- PHILIPPON A, PAUL G et NEVOT P., 1983** :L'hémoculture. Rev Prat 1983 ; 33 : 1929-
- PHILIPPON A., 2008** : résistance bactérienne : définitions, mécanismes, et évolution. EMC (Elsevier Masson SAS, paris) ; p8-006-N-10
- PICHARD, E ., J . BEYTOUT., 2002** : malin trop Afrique : manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique, Edition John Libby Euronext, 589p
- PILLYE., 1997** : maladies infectieuses et tropicales, Edition Elsevier, paris 736p
- PRESCOTT L.M ; HARLYE J.P. ET KLEIN D.A., 2003** : Microbiologie. 2eme Edition, 1137p
- R.MATHIEU., 2006** : Biologie de Boeck université press ,1482p
- RAHAL.K, 2008**, Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle national 5^{ème} Edition.
- RAMPUZ & ZIMMERLI, 2003, P.811**
- RAOULT. D ., 1998** : dictionnaire des maladies infectieux , Edition Elsevier Masson, 1162p
- REGNAULT J.P ., 2002** : élément de microbiologie et immunologie , Edition Decarie , 601p
- REMICJ-L. POURRIAT ET C. MARTIN ., 2004** :principes de réanimation chirurgicale, Edition Arnette , 1430p.
- SHERWOOD L ., A . LOCKHART TRADUIT PAR A. LOCKHART COLLABORATEUR S. MOLOTCHNIKOFF.,2006** : physiologie humaine, de Boeckuniversitépress, 768p.
- SKURNIK.D., 2008** : maladies infectieuses, Edition Masson, paris ,124p
- SOUGAKOFF W ET TRYSTRAM D ., 2003** : Résistances aux bêta-lactamines . Université paris – VI pierre et marie curie faculté de médecine Pitié-Salpêtrière service de bactériologie hygiène du CHU Pitié-Salpêtrière
- Tropicales le POPI. Paris: Vivactis plus, 2003** :13-18

WIN W.C, E.W. KONEMAN, S.D ALLEN, W.M. JANDA, P.C SCHRECKENBERGER, G.W. PROCOP., 2006: koneman's color atlas and text book of diagnostic microbiology, Edition lippincottwilliams e w



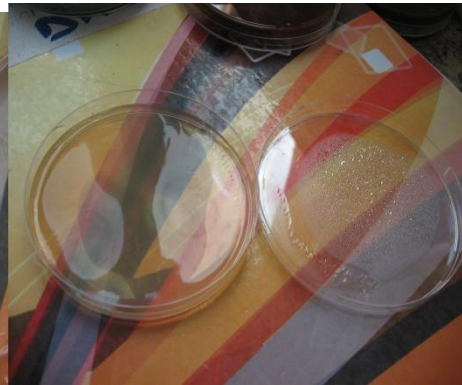
Gélose sang cuit (Originale)



Gélose Hektoen (Originale)



Gélose sang frais (Originale)



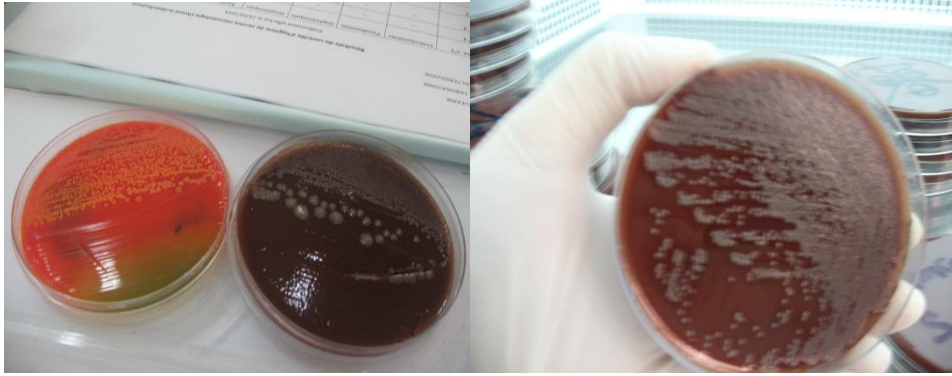
Gélose Mueller Hinton (Originale)



Souche de référence S.aureus
(ATCC25923)



Souche de référence S.aureus (ATCC6538P)



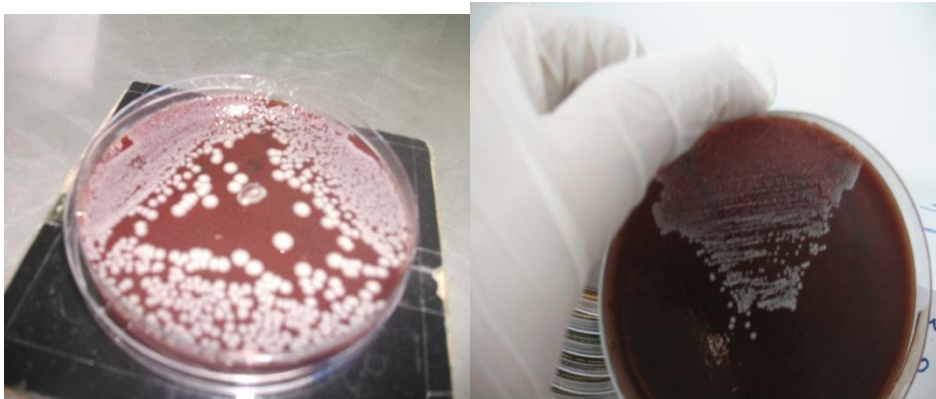
Colonie d'*E. Coli* (Originale)

Colonie de *S.aureus* (Originale)



Colonie de *Brucella* (Originale)

Colonie de *Salmonella typhi* (Originale)



Colonie de *K. pneumoniae* (Originale)

Colonie de *Staph blanc* (originale)



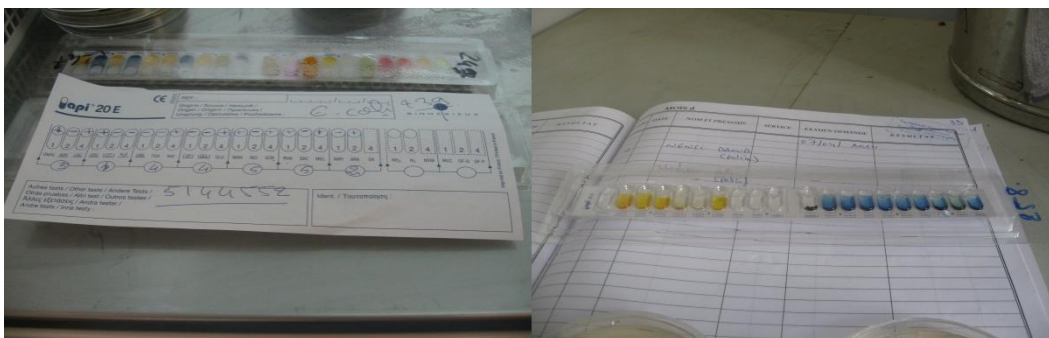
Galerie de *Proteus mirabilis* (Originale)

Galerie de *K. pneumoniae* (Originale)



Galerie de *Brucella* (Originale)

Galerie de *K. pneumoniae* (Originale)



Galerie d'*E. coli* (Originale)

Galerie après incubation (Originale)



Bactériologie (Originale)



Représente unité Bactériologie (Original

Laboratoire



Etuve pour sèche les milieux (originale)



Etuve CO₂ (Originale)



Etuve de laboratoire (Originale)



Réfrigérateur de laboratoire (Originale)



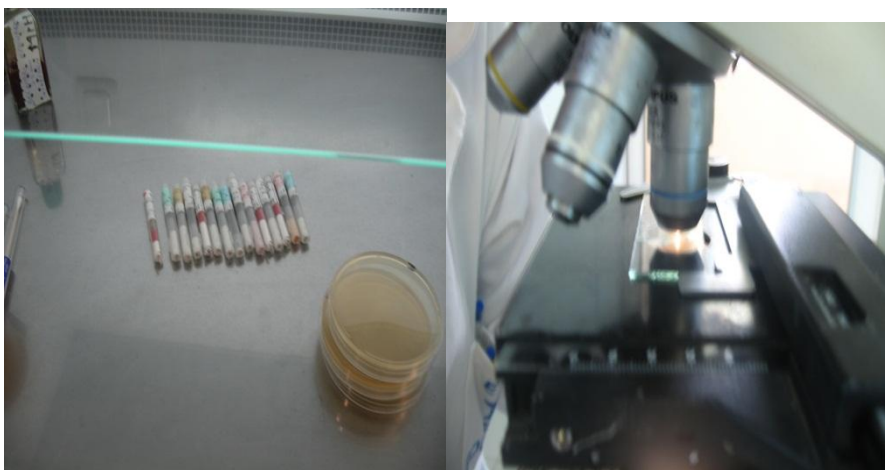
La hotte de laboratoire (Originale)

Pied à coulisse métallique (Originale)



Incubateur de laboratoire (Originale)

Agitateur de laboratoire (Originale)



Disque d'antibiotique (Originale)

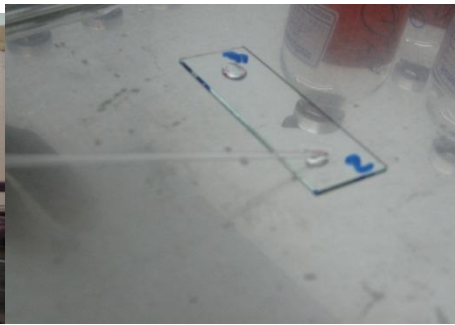
Microscope optique (Originale)



Coloration de gram (originale)



Test de coagulase (originale)



test de catalase (originale)

Les Composition des milieux

Gélose Mueller -Hinton : formule g/ml

- infusion de viande de bœuf déshydrate : 300 g
- peptone de caséine17,5 g
- amidon de maïs 1,5 g
- agar17 g
- l'eau physiologie 1000 ml

pH = 7,4

Gélose nutritif : formule

- extrait de viande.....1,0g/L
- extrait de levure..... 2.5g/L
- peptone.....5,0g/L
- chlorure de sodium.....5,0g/L
- Agar..... 15,0g/L

pH = 7,0

GéloseHektoen :formule

- Peptone.....12g
- levure.....3g
- sodium.....5g
- sodium.....5g
- **biliaires**.....9g
- **Agar**.....14g

pH final = 7,5

Gélosé Chapman : formule

- Peptone :.....11 g
- Extrait de viande de bœuf :.....1g
- Chlorure de sodium :.....75 g
- Mannitol :.....10 g
- Rouge de phénol :.....0,025 g
- Agar-Agar :.....15 g
- Eau distillée :..... 1 Litre

pH = 7,4

Les Liste des Tableaux

Tableau VI: Différents ports entrée dans le tableau ci-dessous

| <i>Port d'entrée</i> | <i>Circonstances</i> | <i>Germes les plus probables</i> |
|---------------------------|--|---|
| <i>Peau</i> | Furoncle, abcès, plaie infectée, cellulite. Cathéter. | <i>Staphylococcus aureus.</i> <i>S.Pyogènes, BGN, Clostridium, S.epidermidis, KES Acinétobacte, Pseudomonas, candida.</i> |
| <i>Broncho-pulmonaire</i> | Pneumonie, broncho-pneumonie (acquise en dehors de l'hôpital). Pneumonie par aspiration. Trachéotomie, ventilation assistée. | <i>Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Staphylococcus aureus .Anaérobies, E. coli, KES, proteus, acinetobacter.</i> |
| <i>Intestin</i> | Obstruction, perforation, cancer, diverticules, intervention chirurgicale. Diarrhées. | <i>Bactéroïdssp, E. coli, KES, proteus, anaérobies Gram positifs Salmonella.</i> |
| <i>Voie biliaires</i> | Cholécystites, cholangites, obstruction. | <i>E. coli, KE, proteus, entérocoques.</i> |
| <i>Urinaires</i> | Pyélonéphrite, chirurgie, instrumentation, sondage, obstruction. | <i>E. coli, entérocoques.</i> |
| <i>Génitale féminine</i> | Accouchement, avortement. | <i>E. coli Streptocoques (A, B, D, anaérobies), Bacteroidssp, clostridium.</i> |

| | | | |
|-------|--|--|---|
| BGN : | <i>Aucune visibau</i> <i>Aucune visible</i> | Saplyngite . Leucémie, neutropénie, cancer, immunodépression. Valvulopathie. Prothèse cardiaque. Fermier, vétérinaire. | <i>Neisseriagonorrhoeae.</i> <i>Staphylococcus aureus,</i> BGN, <i>Streptocoques.</i> <i>P.aeroginosa,</i> <i>E. coli,</i> , <i>KES.</i> <i>Streptococcus viridans,</i> <i>entérocoques, S.bovis,</i> autres <i>Streptocoques,</i> <i>S epidermidis .Brucella</i> . |
|-------|--|--|---|

Bactéries Gram Négatifs.(Pechere et al., 1992).

KES : *Klebsiella, Entérobactér, Serratia*

Tableau V:Représentation des caractères biochimiques chez les *Entérobactérie*

| | GLUC | LACT | ONPG | INDOLE | VP | CIT RATE | MOBILITE | UREE | TDA | H ₂ S |
|---------------------|------|------|------|--------|----|-------------|----------|------|-----|------------------|
| <i>Escheichia</i> | + | + | + | + | - | - | + | - | - | - |
| <i>Citrobacter</i> | + | + | + | - | - | + | + | - | - | + /- |
| <i>Klebseilla</i> | + | + | + | + /- | + | + | - | + | - | - |
| <i>Serratia V</i> | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - |
| <i>Salmonella</i> | + | - | - | - | - | + /- | + | - | - | + |
| <i>Shigella</i> | + | - | +/- | +/- | - | - | - | - | - | - |
| <i>Proteus</i> | + | - | - | +/- | - | +/- | + | + | + | +/- |
| <i>Providencia</i> | + | - | - | + | - | + | + | - | + | - |
| <i>Yersinia</i> | + | - | + | +/- | + | - | + | + | - | - |
| <i>Enterobacter</i> | + | + | + | - | + | + | + | - | - | - |

* :20C° seulement

(Krieg et al. 1984)

Tableau VI:Représente des caractères biochimiques chez *E. coli*

| | ONPG | MANITOL | INDOL | LDC | ODC | CITRATE | VP | UREE | TDA | ADH |
|---------------|------|---------|-------|-----|-----|---------|----|------|-----|-----|
| <i>E.coli</i> | + | + | + | + | + | - | - | - | - | |

*Quelques exceptions

(Berche et al. ,1999)

**90% Des souches

Tableau VII:Représentation des caractères biochimiques de différentes espèces de *Klebsiella*

| | VP | ONPG | LDC | IDOLE | UREE |
|--------------------------|----|------|-----|-------|------|
| <i>K.pneumoniae</i> | + | + | + | - | +* |
| <i>K.oxtaca</i> | + | + | + | + | + |
| <i>K.ozaenae</i> | - | + | D | - | D |
| <i>K.rhinosceromatis</i> | - | - | - | - | - |

(Fauchet et Avril.,2002)

Tableau VIII: Représentation des caractères biochimiques de différentes espèces d'*Enterobacter*

| | ADH | LDC | ODC | UREE | PIGMENT JAUNE |
|----------------------|-----|-----|-----|------|---------------|
| <i>E.cloacae</i> | + | - | + | - | - |
| <i>E.aerogenese</i> | - | + | + | - | - |
| <i>E.agglomerans</i> | - | - | - | - | D |
| <i>E.sakazakii</i> | + | - | + | - | + |
| <i>E.asburiae</i> | - | - | + | - | + |

(Fauchet et Avril., 2002)

Tableau : IX les caractères d'identification des trois principales espèces du genre *Staphylococcus*

| Caractères d'identification | <i>S.aureus</i> | <i>S.epidermidis</i> | <i>S.saprophyticus</i> |
|------------------------------|-----------------|----------------------|------------------------|
| Coagulase | + | - | - |
| Acidification | + | - | + |
| Réduction des nitrates | + | + | - |
| Production de à toxines | + | - | - |
| Protéine A | + | - | - |
| sensibilité à la novobiocine | Sensible | Sensible | Résistant |

(Fauchet et Avril.,2002)

Liste Des Antibiotiques Pour Chaque Germe**Tableau X : Les Antibiotiques spécifique Pour Les *Entérobactéries***

| ANTIBIOTIQUE | ABREVIATION |
|-------------------------|--------------------|
| Amoxicilline | AMC |
| Ampicilline | AMP |
| Cefazoline | CZN |
| Ceftazidime | CAZ |
| Colistine | CST |
| Imipenem | IPM |
| Gentamicine | CN / GN |
| Ciprofloxacine | CIP |
| Chloramphenicol | CHL |
| Cefoxitine | FOX |
| Cefotaxine/ Ceftriaxone | CTX-CRO |

Tableau XI : Les antibiotiques spécifique pour les *Staphylococcus*

| Antibiotique | Abréviation |
|-------------------------|--------------------|
| Pénicilline | P |
| Oxacilline ₅ | OXC ₅ |
| Oxacilline ₁ | OXC ₁ |
| Cefoxitine | FOX |
| Gentamicine | CN / GN |
| Amikacine | AKN |
| Erytromycine | E |
| Vancomycine | VAN |
| Teicoplanine | TEN |
| Ofloxacin | OFX |
| Chloramphenicol | CHL |
| Acide fusidique | FAD |
| Fosfomycine | FOS |
| Pristinamycine | PTN |
| Cotrimoxazole | SXT |

Tableau XII : Les antibiotiques spécifique pour les *Streptococcus Et S. Pneumoniae*

| Antibiotique | Abréviation |
|---------------------|--------------------|
| Pénicilline | P |
| Erytromycine | E |
| Ticarcilline | TIC |
| Levofloxacin | LVX |
| Vancomycine | VAN |
| Cefoxitine | FOX |
| Rifampicine | RIF |
| Imipenem | IPM |
| Streptomycine | STREP |

Tableau XIII : Les antibiotiques spécifique pour les *Brucella melitensis*

| Antibiotique | Abréviation |
|-----------------------------|--------------------|
| Streptomycin | STR |
| Gentamicin | CN |
| Doxycycline | DOC |
| Tetracycline | TE |
| Rifampim / Sulfamethoxazole | RIF |
| / | NCCLS |