

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ BLIDA-1-
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme
De Master en Biologie
Option : Microbiologie/Bactériologie

Thème

Septicémie : Etiologie bactérienne et antibiorésistance au sein du laboratoire de bactériologie à l'EPH de Boufarik

Présenté par :

Mlle LOUZRI Nesrine

Soutenu le :

26/06/2014

Devant un jury composé de :

-Mme MEKLAT A.	MCA	UB1	Présidente
-Mme AIT SAADI N.	MAA	UB1	Examinatrice
-Mme DEBIB A.	MCB	UB1	Examinatrice
-Mme KESKAS S.	MAB	UB1	Promotrice
-Mme LAZAZ k.	Maître assistante	EPH de Boufarik	Co-promotrice

Promotion
2012-2013



REMERCIEMENTS

*Je tiens tout d'abord à remercier **DIEU** le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.*

*Je remercie ma promotrice **Mme KESKAS S.**, MAB à l'Université de Blida -1-, pour l'orientation, la confiance et la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.*


*Je remercie également ma co-promotrice **Mme LAZAZ K.**, maître assistante à l'EPH de Boufarik, d'avoir accepté de m'encadrer, et pour ses précieux conseils.*

*J'exprime toute ma gratitude et mes remerciements à **Mme MEKLAT A.**, MCB à l'Université de Blida -1-, qui m'a fait l'honneur de présider mon jury.*

*J'exprime également mes vifs remerciements à **Mme AIT SAADI N.**, MAA à l'Université de Blida -1-, et **Mme DEBIB A.**, MAA aussi à l'Université de Blida -1-, d'avoir accepté d'évaluer ce travail.*

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous les enseignants du département de Biologie qui m'ont enseigné et qui par leurs compétences m'ont soutenu dans la poursuite de mes études.

Je témoigne ma gratitude à l'ensemble de l'équipe du laboratoire de Bactériologie à l'EPH de Boufarik et à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.



DEDICACES

Je remercie DIEU tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience pour réaliser un de mes rêves. C'est avec très grand honneur que je dédie le fruit de ce travail comme un geste de reconnaissance à :

■ *Mes parents qui m'auraient permis de poursuivre mes études jusqu'à aujourd'hui et qui m'ont guidé depuis mon enfance vers le chemin du savoir et j'espère que Dieu leur accorde une longue vie afin qu'ils puissent assister à d'autres succès.*

■ *Mes belles sœurs : Nacéra, Sakina, Nassima, Saliha, Souad et Fatima et à mes chers frères : Hakim, Abd-elatif et Reddouan à qui je souhaite beaucoup de bonheur et réussite dans leurs vie.*

■ *Mes neveux et mes nièces.*

■ *Ma chère amie Zahra que Dieu me la garde pour toute la vie.*

■ *Toutes mes amies de l'Université.*

■ *Toutes les personnes du laboratoire de bactériologie de Boufarik.*

■ *Je tiens à dédier ce travail à tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à l'Université, auxquels j'exprime ma sincère gratitude.*

■ *En fin, à tous ceux que j'aime et m'aiment.*

NESRINE

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Caractères biochimiques d' <i>Escherichia Coli</i>	05
Tableau II. Caractères biochimiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>Klebsiella oxytoca</i>	06
Tableau III. Caractères biochimiques d' <i>Enterobacter aerogenes</i> et <i>Enterobacter cloacae</i>	07
Tableau IV. Caractères biochimiques de <i>Serratia liquefaciens</i> et <i>Serratia marcescens</i>	08
Tableau V. Caractères biochimiques de <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Proteus vulgaris</i>	09
Tableau VI. Caractères biochimiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
Tableau VII. Les caractères biochimiques et la sensibilité aux ATB de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> et <i>S. saprophyticus</i>	12
Tableau VIII. Les familles des antibiotiques	16-18
Tableau IX. Composition des milieux de culture	Annexe II
Tableau X. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Entérobactéries</i>	Annexe VI
Tableau XI. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Staphylococcus sp</i>	Annexe VI
Tableau XII. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Annexe VI
Tableau XIII. Liste des antibiotiques testés pour les bactéries non exigeantes	Annexe VII
Tableau XIV. Fréquence des résultats globaux des hémocultures	Annexe VIII
Tableau XV. Répartition des résultats positifs selon les services	Annexe VIII
Tableau XVI. Fréquence des hémocultures positives selon le sexe	Annexe VIII
Tableau XVII. Répartition des résultats selon les tranches d'âge et le sexe	Annexe VIII
Tableau XVIII. Répartition des résultats selon les souches isolées	Annexe VIII
Tableau XIX. Résultats de l'antibiogramme des souches d' <i>Escherichia coli</i>	Annexe VIII

Tableau XX. Résultats de l'antibiogramme des souches de *Klebsiella pneumoniae*
.....Annexe VIII

Tableau XXI. Résultats de l'antibiogramme des souches de *Serratia marcescens*
.....Annexe VIII

Tableau XXII. Résultats de l'antibiogramme des souches de *Staphylococcus coagulase négative* Annexe VIII

Tableau XXIII. Résultats de l'antibiogramme des souches de *Streptococcus pneumoniae*
.....Annexe VIII

LISTE DES FIGURES

Figure I. Résultats globaux des hémocultures	38
Figure II. Répartition des résultats positifs selon les services	38
Figure III. Répartition des résultats selon le sexe	39
Figure IV. Répartition des résultats selon les tranches d'âge	39
Figure V. Répartition des résultats selon les germes isolés	40
Figure VI. Profil de résistance d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques	41
Figure VII. Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques	42
Figure VIII. Profil de résistance de <i>Serratia marcescens</i>	42
Figure IX. Profil de résistance des souches de <i>BGN oxydatifs</i>	43
Figure X. Profil de résistance des souches de <i>Proteus sp</i>	43
Figure XI. Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus coagulase négative</i>	44
Figure XII. Profil de résistance des souches de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	44
Figure XIII. Profil de résistance des souches de <i>Streptococcus sp</i>	45
Figure XIV. Profil de résistance des souches d' <i>Enterococcus sp</i>	45
Figure XV. Flacon d'hémoculture	Annexe I
Figure XVI. Mini-galerie biochimique	Annexe I
Figure XVII. La galerie API 20 E	Annexe I
Figure XVIII. Antibiogramme sur Gélose Mueller-Hinton	Annexe I

LISTE DES ABREVIATIONS

ADH : Arginine Dihydrolase

API : Analytical Profil Index

ATB : Antibiotique

BGN : Bacilles à Gram négatif

BLSE : beta-lactamase à Spectre Elargi

CIT : Citrate de sodium

H₂S : acide sulfhydrique

I : Intermédiaire

LDC : Lysine Décarboxylase

NaCl : Chlorure de sodium

NR : Nitrate Réductase

ODC : Ornithine Décarboxylase

ONPG : Ortho-Nitro-Phénol-Galactosidase

PLP : Protéine Liant à la Pénicilline

R : Résistant

RM : Rouge de Méthyle

S : Sensible

TDA : Tryptophane Désaminase

TSI : Tripl Sugar Iron

VP : Voges-proskauer.

GLOSSAIRE

ADN-gyrase : est une enzyme de la famille des ADN topoisomérases de classe II. L'ADN gyrase est une protéine spécifique des bactéries, qui est essentielle à la réplication de leur chromosome circulaire.

Cathétérisme : un acte médical consistant à introduire un dispositif médical, le cathéter, dans la lumière d'un organe tubulaire creux.

Cystite : inflammation de la vessie.

Dermatose : affections de la peau, et par extension, celles des ongles ou des cheveux.

Dysfonctionnement d'organes : fonctionnement anormal d'un organe, conduisant parfois à l'insuffisance.

Examen endoscopique : technique d'exploration consistant à introduire un tube optique à l'intérieur de l'organisme.

Fièvre typhoïde : infection bactérienne transmise par la nourriture contaminée, l'eau, le lait, dû à *Salmonella typhi*.

Furoncle : infection aigue d'un follicule pilo-sébacé.

Hypoxie : diminution de la quantité d'oxygène apportée aux organes par le sang.

Iatrogène : survient en milieu hospitalier essentiellement et sont souvent liées à des gestes thérapeutiques, sondes urinaires, canule trachéale surtout cathéter intraveineux, ou après manœuvre instrumentale.

Infection nosocomiale : infection acquise par le patient au cours d'un séjour hospitalier. Il est admis habituellement qu'une infection est nosocomiale quand elle se déclare au-delà de 48 heures après l'admission.

Lipopolysaccharide (LPS) : composant essentiel de la membrane externe des bactéries à Gram négatif.

Méningite : inflammations aiguës ou chroniques des méninges cérébrales (du cerveau) et médullaires (de la moelle épinière), ainsi que du liquide céphalo-rachidien.

Mutation : modification brusque et irréversible de matériel génétique.

Pyélite : inflammation de la muqueuse qui tapisse le bassinets, dû soit à une infection rénale, soit à une infection de la vessie.

Pyélonéphrite : infection bactérienne des voies urinaires hautes, touchant donc le bassinets (pyélite) et le parenchyme rénal (néphrite).

Toxicomanie : intoxication chronique ou périodique causée par des produits toxiques.

Toxicomane : atteint de toxicomanie.

Toxine : substance toxique et antigénique élaborée par certaines bactéries.

Ubiquitaire : qui peut se développer n'importe où.

RESUME

La septicémie est une manifestation pathologique sévère parfois mortelle, elle est causée par de multiples germes qui atteignent différents organes par décharge dans le sang à partir d'un foyer primaire infecté. L'hémoculture est l'examen primordial qui permet de détecter les germes responsables de la septicémie. Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Bactériologie à l'hôpital de Boufarik, 571 prélèvements d'hémoculture ont été analysés et ont conduit à 50 hémocultures positives avec un taux de 8,75%, 512 hémocultures négatives avec une fréquence de 89,66% et 09 hémocultures souillées (1,57%). Les 25 patients avérés atteints de septicémie étaient répartis selon les services visés par cette étude comme suit : le service des maladies infectieuses femmes présentant un pourcentage de 64% du nombre total des patients, le service des maladies infectieuses hommes représentant un taux de 20% et le service des maladies infectieuses pédiatriques avec une fréquence d'occurrence de 16%. Les résultats obtenus révèlent une dominance des bactéries à Gram négatif avec 68% et de 32% dans le cas des cocci à Gram positif. Concernant les résultats de l'antibiogramme, on a remarqué que les souches bactériennes isolées sont sensibles à 100% à la majorité des antibiotiques testés.

Mots clés : Antibiorésistance, Foyer primaire, Hémoculture, Septicémie.

SUMMARY

The septicemia is a pathological manifestation, it is severe and sometimes it can lead to death, it is caused by different types of transmitted microbes from a primer infected place to different body parts through the blood. Blood culture is a paramount consideration to detect the germs that cause septicemia. Our study was conducted at the hospital of Boufarik, 571 samples were analyzed for blood culture in the laboratory of the hospital and led to 50 positive blood cultures with a rate of 8,75%, 512 negative blood cultures with a frequency of 89,66% and 09 infected blood cultures (1,57%). 25 infected patients of septicemia were distributed by services in this study as follows: the service of women infections diseases presented 64% of the total number, the service of man infections diseases presented 20% and the service of Children infections diseases presented 16%. The results show the dominance of Gram negative (68%) and 32% for Gram positive cocci. On the results of susceptibility testing, it was found that bacterial isolates are sensitive to 100% to most antibiotics tested.

Key words: Antibiorésistance, Blood culture, Primer infected place, Septicemia.

ملخص

تسمم الدم هو عرض مرضي خطير و في بعض الأحيان قاتل تسببه عدة جراثيم بانتقالها من بؤرة أولية مصابة إلى مختلف الأعضاء عن طريق الدم. التحليل البكتيريولوجي للدم هو الاختبار الأول و الضروري للكشف عن الجراثيم التي تسبب تسمم الدم. لقد تمت دراستنا في مخبر البكتيريولوجيا (علم الجراثيم) بمستشفى بوفاريك، و قد تم تحليل 571 عينة في مختبر المستشفى و منه تم الحصول على 50 وسط دموي ايجابي بنسبة 8,75 %، 512 وسط دموي سلبي بنسبة 89,66% و تسعة أوساط دموية ملوثة (1,57 %). أعطت نتائج التحاليل، 25 شخص مصاب، نسبها موزعة حسب المصالح كالتالي : 64 % حالة مصابة من مصلحة الأمراض المعدية للنساء، 20% حالة مصابة من مصلحة الأمراض المعدية للرجال و 16% حالة مصابة من مصلحة الأمراض المعدية للأطفال. كما تظهر النتائج هيمنة بكتيريا ذات غرام سلبي ب 68 % و 32 % بكتيريا ذات غرام ايجابي. فيما يخص نتائج اختبار مقاومة المضادات الحيوية ، فقد لاحظنا أن الأصناف البكتيرية حساسة بنسبة 100% لمعظم المضادات الحيوية المختبرة.

الكلمات المفتاحية: مقاومة المضادات الحيوية، بؤرة أولية، تحليل بكتيريولوجي للدم، تسمم الدم.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1. Le sang	2
I.2. Notions générales sur la septicémie	2
I.2.1. Bactériémie	2
I.2.2. Septicémie	2
I.2.3. Choc septique	2
I.2.4. Types de septicémies	2
I.2.5. Portes d'entrée de la septicémie	3
I.2.6. Localisations secondaires	5
I.3. Etiologie bactérienne de la septicémie	5
I.3.1. Bacilles à Gram négatif (BGN)	5
I.3.1.1. Les Entérobactéries	5
I.3.1.2. <i>Pseudomonas (P.aeruginosa)</i>	12
I.3.2. Cocci à Gram positif	13
I.3.2.1. Les Staphylocoques	13
I.3.2.2. Les Streptocoques	14
I.3.2.3. Les entérocoques	14
I.4. Diagnostic bactériologique de la septicémie	15
I.4.1. Hémoculture	15
I.4.2. Mise en évidence des germes au niveau de la porte d'entrée et des foyers septiques secondaires	16
I.5. Antibiotiques et antibiorésistance	16
I.5.1. Les antibiotiques	16
I.5.2. Les familles des antibiotiques	16

I.5.3. L'antibiorésistance	19
I.5.4. Mécanismes de résistance aux antibiotiques	19
I.5.4.1. Inhibition enzymatique de l'antibiotique	19
I.5.4.2. Modification des sites de liaison	20
I.5.4.3. Réduction de la perméabilité cellulaire	21
I.5.4.4. Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux	21
II. MATERIEL ET METHODES	22
II.1. Matériel	22
II.1.1. Matériel biologique	22
II.1.2. Matériel non biologique	22
II.2. Méthodes	22
II.2.1. Prélèvement	22
II.2.2. Traitement des hémocultures au laboratoire	24
II.2.2.1. Incubation	24
II.2.2.2. Etude bactériologique des hémocultures	24
II.2.2.3. Examen microscopique	25
II.2.2.4. Tests biochimiques	27
1) Identification des BGN	27
2) Identification des Cocci à Gram positif	33
II.2.2.5. Antibiogramme	35
RESULTATS ET DISCUSSION	38-49
CONCLUSION	
RECOMMANDATIONS	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

Introduction

Les maladies infectieuses provoquées par les virus, les bactéries et les eucaryotes parasites, constituent un problème de santé publique majeur depuis ces dernières décennies, avec une ampleur et des caractéristiques nouvelles (**Orth et Sansonetti, 2006**).

Elles sont omniprésentes en médecine, représentant une des principales causes de consultation et de mortalité dans le monde (**Christian, 1999**). Elles sont responsables de 17 millions de décès par an, 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 (**François, 2003**).

Les principaux types d'infections responsables de décès sont les infections respiratoires aiguës, le sida, les maladies diarrhéiques, la tuberculose, le paludisme et la septicémie (**Orth et Sansonetti, 2006**).

La septicémie est l'ensemble de manifestations pathologiques dues à l'envahissement (par voie sanguine) de l'organisme par des germes pathogènes provenant d'un foyer infectieux (**Manuila et al., 2004**). C'est une maladie grave avec un risque de décès précoce par choc infectieux ou différé par défaillances viscérales (**François, 2003**). Les contraintes et techniques, l'itinéraire thérapeutique des patients, l'évolution de la sensibilité des germes sont autant d'aléas influençant leur diagnostic et leur prise en charge (**Ki-Zerbo et al., 1996**).

L'hémoculture est l'examen de choix à réaliser dès qu'une septicémie est suspectée. Elle permet d'affirmer l'étiologie (micro-organismes en cause) et d'orienter l'antibiothérapie (**Michel, 2007**).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés aux hémocultures pratiquées dans le laboratoire de bactériologie du service des maladies infectieuses du CHU de Boufarik. Avant d'entreprendre les hémocultures, le traitement est instauré de façon probabiliste contre les agents pathogènes les plus probables. Il dépend du germe soupçonné, de la porte d'entrée, du ou des localisations secondaires ou du terrain du malade, puis il doit être modifié lorsque l'agent étiologique a été identifié et a fait l'objet d'un test de sensibilité aux antimicrobiens (**François, 2003**).

L'objectif de notre démarche expérimentale s'articule autour des principaux points suivants :

- L'isolement des germes présents dans le sang des malades par hémoculture.
- L'identification de ces germes.
- Guider le médecin dans le choix du traitement par l'étude du profil de résistance des bactéries isolées et identifiées aux antibiotiques (l'antibiogramme).

I.1. Le sang

Le sang est un tissu liquide qui circule dans notre corps grâce aux vaisseaux sanguins. Il est composé de globules rouges, de globules blancs et de plaquettes qui baignent dans un liquide appelé plasma. Il joue un rôle essentiel dans le transport de l'oxygène, des nutriments, des anticorps et des hormones. Normalement le sang est stérile, quand il y a pénétration des bactéries dans la circulation sanguine on parle de bactériémie ou septicémie (**Kohler, 2010**).

I.2. Notions générales sur la septicémie

La définition de l'état septicémique reste confuse, il s'agit de toute infection générale conditionnée par des décharges massives, répétées dans le sang, de bactéries pathogènes et de leurs toxines.

La gravité de l'état infectieux d'un patient dépend de plusieurs paramètres en l'occurrence le germe soupçonné, le terrain du malade et les localisations secondaires, c'est pour cela qu'on distingue :

I.2.1. Bactériémie

C'est un simple passage transitoire de bactéries dans le sang avec absence de manifestation clinique (**François, 2003**).

I.2.2. Septicémie

Est une infection générale qui regroupe les manifestations cliniques et biologiques dues à des décharges massives et répétées de bactéries pathogènes dans le sang à partir d'un foyer septique initiale appelé porte d'entrée (**François, 2003**).

I.2.3. Choc septique

C'est une urgence médicale. Elle est définie par une insuffisance circulatoire aigüe en réponse à une infection identifiée.

Hormis son caractère infectieux, le choc septique est caractérisé par une hypotension persistante associée à des signes de dysfonctionnement d'organes. Dans la très grande majorité des cas l'agent infectieux est bactérien (**Patrice, 2002**).

I.2.4. Types de septicémies

On distingue trois types de septicémie :

I.2.4.1. Septicémie thrombophlébitique

La porte d'entrée est souvent tégumentaire (brèche cutanée traumatique ou chirurgicale, corps étranger). Elle se constitue au voisinage de la porte d'entrée, et consiste en un coagulum de fibrine infiltré de cellules sanguines et immunitaires colonisé par les bactéries (thrombus infecté). De ce thrombus se détachent irrégulièrement des fragments micro-embols septiques qui ensemencent massivement le sang causant la septicémie. Les germes en cause sont des staphylocoques et des streptocoques (**François, 2003 ; Faucher, 1997**).

I.2.4.2. Septicémie à point de départ lymphatique

Dans ce cas la porte d'entrée est digestive. Les germes pathogènes, après ingestion, traversent sans léser la muqueuse intestinale. Les bactéries impliquées sont souvent des bactéries dites intracellulaires, notamment des salmonelles (fièvre typhoïde), des brucelles (brucellose) (**Faucher, 1997**).

I.2.4.3. Septicémie endocardite

Ce type de septicémie survient dans des cas de lésions cardiaques préexistantes (valvulopathie par exemple) ou chez les porteurs de prothèses cardiaques ou vasculaires. Les bactéries responsables sont fréquemment des streptocoques (**Faucher, 1997**).

I.2.5. Portes d'entrée de la septicémie

Au cours d'une septicémie, les bactéries régulièrement véhiculées par le sang peuvent aller infecter d'autres tissus, créant alors des foyers secondaires qui peuvent, à leur tour, ensemençer le sang circulant. La porte d'entrée de l'infection peut être :

I.2.5.1. Urinaire

Les septicémies d'origine urinaire sont fréquentes et sont le plus souvent dues à des bacilles à Gram négatif (BGN), et qui peuvent provenir des différents cas suivants :

- Les interventions chirurgicales compliquées d'infection locale ou l'examen endoscopique des voies urinaires.
- Le cathétisme des voies urinaires surtout lorsqu'il est pratiqué de façon traumatisante et sans asepsie, mais parfois aussi malgré une technique correcte (**Bosseray et Micoud, 2000**).

I.2.5.2. Génitale

Les septicémies d'origine génitale sont dues le plus souvent à :

- L'avortement provoqué.
- L'accouchement long et difficile.

Les germes les plus souvent en cause sont les streptocoques du groupe B et les bacilles à Gram négatif (BGN) (**Bonnet et al., 2002**).

I.2.5.3. Digestive

Certaines bactéries peuvent être la cause de diarrhées infectieuses. Les symptômes se manifestent par : la fièvre, vomissement et diarrhée fébrile. La septicémie peut survenir également à la suite d'une affection des voies biliaires. Les germes le plus fréquemment en cause sont les BGN, les anaérobies ou encore les entérocoques (**Ansart et Gané, 2008**).

I.2.5.4. Respiratoire

La surinfection trachéobronchopulmonaire : le point de départ d'une septicémie est la présence très fréquente d'un ou de plusieurs germes dans le prélèvement trachéobronchique, elle peut survenir en cas de fausse route salivaire et des aspirations trachéobronchiques, les germes en cause sont les pneumocoques, les Streptocoques et l'*Haemophilus* (**Brisson et al., 2001**).

I.2.5.5. Cutanée

Les lésions le plus souvent responsables sont les brûlures, les furoncles, et les dermatoses, aussi chez les toxicomans, la voie veineuse est importante, les germes en cause sont dans la plupart des cas les Staphylocoques et les Streptocoques (**Batard et al., 2007**).

I.2.5.6. Dentaire

La septicémie peut être provoquée par des extractions dentaires nombreuses chez un patient ayant des lésions gingivales, de la chirurgie des paradontopathies et rarement à l'issue de soins dentaires. Les germes volontiers en cause sont les Streptocoques (**Batard et al., 2007**).

I.2.5.7. Les portes d'entrées iatrogènes

Surviennent en milieu hospitalier essentiellement et sont souvent liées à des gestes thérapeutiques, sondes urinaires, canule trachéale surtout cathéter intraveineux, ou après manœuvre instrumentale (endoscopie digestive, bronchique, cystoscopie et gestes chirurgicaux).

Ces infections iatrogènes sont souvent dues à des germes hospitaliers sélectionnés ayant acquis des facteurs de résistances : BGN, Staphylocoques et Entérocoques (**Batard et al., 2007**).

Malgré une enquête minutieuse, il n'est pas rare que, la porte d'entrée reste inconnue.

I.2.6. Localisations secondaires

Les bactéries véhiculées par le courant sanguin à partir de la porte d'entrée peuvent se localiser et former des foyers septiques dans les différents organes du corps humain qui sont particulièrement exposés, on a :

a) Localisations pulmonaire : foyer pneumonique ou broncho- pneumonique responsable d'un état d'hypoxie avec alcalose respiratoire souvent dû au Streptocoques et Pneumocoques (**Bonnet et al., 2002**).

b) Localisation cardiaque : les germes sont de plus en plus souvent trouvés à l'origine de greffes bactériennes, qui peuvent se faire, soit sur cœur antérieurement lésé, soit en cas de bactériémies massives et répétées sur un cœur sain (**Bonnet et al., 2002**).

c) Localisation cutanée : se voit exclusivement dans les septicémies à *Pseudomonas aeruginosa*. La lésion caractéristique est à rechercher dans la région ano-génitales, la face interne des cuisses, et les aisselles (**Carpentier et al., 2001**).

d) Localisation neurologique : abcès du cerveau ou méningite purulente (**Bonnet et al., 2002**).

e) Localisation urinaire : en cas des pyélonéphrites et des abcès prostatique (**Bonnet et al., 2002**).

f) Localisation hépatique : abcès du foie (**Bonnet et al., 2002**).

I.3. Etiologie bactérienne de la septicémie

I.3.1. Bacilles à Gram négatif (BGN)

I.3.1.1. Les Entérobactéries

La subdivision des genres et espèces est basée sur la comparaison des caractéristiques physiologiques, biochimiques, antigéniques et génétiques des bactéries (**Fauchère et Avril, 2002**). Parmi les nombreuses espèces d'Entérobacteriaceae certaines sont trouvées dans

l'environnement, d'autres chez les végétaux ou les animaux et dans l'intestin de l'homme (**Bernard et al., 2003**).

Ce sont des bacilles à Gram négatif dont les dimensions varient de 1 à 6 µm de long et 0,3 à 1 µm de large, non sporulées, mobiles par ciliature péritriche ou immobiles (**Bernard et al., 2003**).

Ils se développent bien dans un bouillon ou sur une gélose ordinaire incubés pendant 18 heures à 37°C. La culture des entérobactéries est rapide, pour la plupart des espèces les colonies sont formées après 18-24 heures d'incubation à 35-37°C. Les colonies sont bombées et rondes à bord net, leur surface est lisse et brillante (**Bernard et al., 2003**).

Caractères biochimiques : elles sont aéro-anaérobies, elles fermentent le D-glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites (sauf certaines souches). Elles n'ont pas d'oxydases et possèdent une catalase (**Bernard et al., 2003**).

Pouvoir pathogène : les entérobactéries sont retrouvées dans des infections nosocomiales, il s'agit principalement d'infection du tractus urinaire, des plaies opératoires, de l'arbre broncho-pulmonaire et du sang, (**Bernard et al., 2003**).

a) *Escherichia coli*

C'est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. Les principaux caractères positifs sont : indole+, ONPG+, mannitol+ (**Avril et al., 2000**).

E. Coli est le plus souvent mobile (péritriche) et gazogène. Cependant, il existe des exceptions, certaines *E. Coli* sont immobiles et agazogènes (**Berche et al., 1991**).

Elles font partie de la flore microbienne du colon chez l'homme et de l'appareil digestif des animaux à sang chaud. Chez l'homme, elles constituent l'espèce dominante de la flore bactérienne aérobie du colon (**Bernard et al., 2003**).

Les colonies d' *E. Coli* obtenues après 18 heures d'incubation à 37°C sont rondes, lisses, leurs bords sont réguliers avec un diamètre de 2 à 3mm (**Bernard et al., 2003**).

Pouvoir pathogène : elle est responsable d'infections intestinales et d'infections extra-intestinales. Les souches pathogènes possèdent des propriétés particulières (production de toxines). *E. Coli* est l'agent principal des infections urinaires, les manifestations cliniques sont essentiellement des cystites, pyélonéphrites ou pyélites (**Bernard et al., 2003**).

Caractères biochimiques : elles possèdent des caractères biochimiques particuliers permettant de la différencier des espèces voisines (tableau I).

Tableau I : Caractères biochimiques d' *Escherichia Coli*

caractère	uréase	VP	indole	ADH	LDC	ODC	mannitol	ONPG	citrate
<i>E. Coli</i>	-	-	+	-	D	D	+	+	-

(Brenner, 1984)

D : Caractères variables

b) Klebsiella, Enterobacter, Serratia (K.E.S)

Ce sont des bactéries pathogènes opportunistes, souvent multirésistantes aux antibiotiques. Les K.E.S arrivent juste après *E. coli* pour la fréquence des états septiques dus aux bacilles à Gram négatif (**Avril et al., 2000**).

➤ **Klebsiella**

En raison du terrain débilisé sur lequel elles se développent, les septicémies à Klebsiella ont un pronostic sévère (**Avril et al., 2000**).

Ce sont des bacilles à Gram négatif, toujours immobiles, très souvent encapsulés, et généralement regroupés en diplocoques (**Berche et al., 1991**).

Elles sont retrouvées fréquemment dans les sols, les eaux de surface ou usées et les végétaux, elles se fixent sur les plantes, notamment au niveau des racines, fixent à leur niveau l'azote atmosphérique, ce sont des commensales de la peau, des muqueuses, des voies respiratoires et sont présentes dans la flore fécale de l'homme (**Bernard et al., 2003**).

L'isolement est facile et réalisable sur des milieux sélectifs lactosés (gélose de Drigalski) après 24 heures d'incubation à 35-37°C. Trois propriétés sont importantes pour l'orientation de l'identification vers le genre Klebsiella : l'immobilité, la morphologie des colonies et le grand nombre de glucides fermentés (**Bernard et al., 2003**).

Pouvoir pathogène : les infections qu'elles provoquent sont généralement précédées d'un portage intestinal. Elles sont surtout urinaires et pulmonaires ; les systémiques sont moins fréquentes mais graves (**Bernard et al., 2003**).

Caractères biochimiques : les espèces du genre fermentent le glucose, le lactose en produisant du gaz, les autres caractères biochimiques sont représentés dans le tableau II.

Tableau II : Caractères biochimiques de *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca*

Caractère	uréase	VP	indole	ADH	LDC	ODC	mannitol	ONPG	citrate
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	-	-	+	-	+	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+	-	+	-	+	+	+

(Brenner, 1984)

Sensibilité aux antibiotiques : elles ont une résistance naturelle à l’Ampicilline et à la Carbénicilline, et sont sensibles aux Céphalosporines **(Avril et al., 2000)**.

➤ **Enterobacter**

Ce genre regroupe de nombreuses espèces comme *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*. Ce sont des bacilles à Gram négatif, mobiles et non capsulés habituellement, sauf certaines souches d’ *Enterobacter aerogenes* **(Berche et al., 1991 ; Avril et al., 2000)**.

Ces germes sont très répandus dans la nature. On peut les isoler à partir du sol, de l’eau, des végétaux et des divers aliments. Ils font partie de la flore commensale de la peau et des muqueuses de l’homme et des animaux où ils existent toujours en faible quantité, en particulier dans le tube digestif et les voies respiratoires **(Bernard et al., 2003)**.

Sur gélose, les colonies sont brillantes, opaques, souvent d’aspect assez gras **(Pilet et al., 1979)**.

Pouvoir pathogène : *Enterobacter aerogenes* est isolé chez l’homme dans des prélèvements d’origine variée, l’isolement est assez fréquent dans les services de soins intensifs et chez les patients immunodéprimés **(Bernard et al., 2003)**. Ces bactéries pathogènes opportunistes peuvent être responsables de septicémies, de méningites, d’infections urinaires, d’infections néonatales et de suppurations diverses **(Avril et al., 2000)**.

Caractères biochimiques : les caractères biochimiques de ce genre bactérien sont résumés dans le tableau III.

Tableau III : Caractères biochimiques d’*Enterobacter aerogenes* et *Enterobacter cloacae*

Caractère	uréase	VP	indole	ADH	LDC	ODC	mannitol	ONPG	citrate
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+	-	-	+	+	+	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	D	+	-	+	-	+	+	-	+

(Brenner, 1984)

D : Caractère variable

Sensibilité aux antibiotiques

Les *Enterobacter* sont souvent très résistants aux antibiotiques. *E. cloacae* a une résistance naturelle à l’Ampicilline et à la Céphalotine, un pourcentage important des souches est résistant à la Carbénicilline, à la Gentamicine, aux Tétracyclines, au Chloramphénicol, aux Sulfamides et au Triméthoprime. Ils sont sensibles aux Ureidopénicillines, aux Céphalosporines de troisième génération, aux Aminosides et aux Quinolones (**Avril et al., 2000**).

➤ **Serratia**

Les *Serratia* sont des bactéries de l’environnement présentes dans le sol, les plantes et aussi sur la peau (**Avril et al., 2000**).

Les *Serratia* sont mobiles, donnent parfois des colonies pigmentées en rouge tout à fait évocatrices de cette espèce.

Pouvoir pathogène : *Serratia marcescens* est reconnue comme agent d’infection nosocomiale. Les souches de contamination des malades à l’hôpital sont multiples, elles sont à l’origine d’une multitude d’infections, dont la bactériémie, la pneumonie, infection urinaire et les infections liées aux cathéters (**Bernard et al., 2003**).

Caractères biochimiques : comme le montre le tableau IV, elles sont VP+, ONPG+, ADH-, TDA-, H₂S-, uréase- et produisent de nombreuses enzymes extracellulaires (**Avril et al., 2000**).

Tableau IV : Caractères biochimiques de *Serratia liquefaciens* et *Serratia marcescens*

Caractère	uréase	VP	indole	ADH	LDC	ODC	mannitol	ONPG	citrate	RM
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Serratia marcescens</i>	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-

(Brenner, 1984)

Sensibilité aux antibiotiques : elles ont une résistance naturelle à la Céphalotine de troisième génération soit par production d'une céphalosporinase, soit par diminution de la perméabilité (Avril et al., 2000). La résistance à la Colistine (aspect de cocarde) est très caractéristique des *Serratia* (Berche et al., 1991).

c) *Proteus*

Les *Proteus* sont polymorphes pouvant apparaître en formes très courtes (2-3 µm de long) et pouvant se différencier en formes très longues (20-80 µm) dans certaines conditions de culture. Ces bactéries sont très mobiles, du fait de la présence de flagelles péribacillaires, (Berche et al., 1991 ; Avril et al., 2000).

Ils sont ubiquitaires largement répandus dans la nature, retrouvés dans les eaux, les sols et sur de nombreux végétaux, (Berche et al., 1991). Ce sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. Ils sont retrouvés aussi à l'état saprophyte sur la peau et les muqueuses (Bernard et al., 2003).

Les *Proteus* se cultivent facilement sur milieux ordinaires et aussi sur milieux sélectifs. A l'isolement sur gélose ordinaire, les colonies sont typiques des Entérobactéries : rondes, lisses à bords réguliers, de 2-3 mm de diamètre (Berche et al., 1991).

Pouvoir pathogène : Ils sont responsables d'infections urinaires communautaires dans lesquelles *Proteus mirabilis* serait l'espèce la plus fréquemment impliquée après *E. Coli*. Les *Proteus* sont également les agents de septicémies et de méningites chez le jeune enfant ou les personnes âgées (Bernard et al., 2003).

Caractères biochimiques : ils se distinguent facilement des autres Entérobactéries par leurs caractères biochimiques uréase+ et TDA+, donnent des colonies lactose négatif, et sont ONPG- (tableau V) (Avril et al., 2000).

Tableau V : Caractères biochimiques de *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris*

Caractère	uréase	VP	indole	ADH	LDC	ODC	mannitol	ONPG	citrate
<i>Proteus mirabilis</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	D
<i>Proteus vulgaris</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-

(Brenner, 1984)

D : Caractère variable

Sensibilité aux antibiotiques

Les proteus ont une résistance naturelle à la Colistine et à la Tétracycline. Ils restent généralement sensibles à l'Amikacine et aux Céphalosporines de troisième génération (**Avril et al., 2000**).

d) Les salmonelles

Elles sont des bactéries pathogènes très répandues dans la nature. Elles provoquent les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes qui sont des septicémies à point de départ lymphatique (**Dellaras, 2007**).

Ce sont des microorganismes pathogènes dont l'habitat normal est l'intestin de porteurs sains ou de malades (**Françoise et al., 2002**). Elles se trouvent également dans le sol et dans les eaux contaminées par les excréments (**Nauciel, 2000**).

Ce sont des bactéries asporulées, mobiles par ciliature péritriche. Elles se présentent sous la forme de petits bâtonnets rectilignes, mesurant entre 1 et 3 µm de long sur 0,5 µm de large (**Avril et al., 2000**).

Les Salmonelles sont des bactéries non exigeantes, cultivent facilement sur un milieu ordinaire (gélose nutritive) en donnant des colonies lisses de type S à bord régulier de 1 à 3 mm de diamètre en 24h à 37°C. Elles peuvent être isolées aussi sur milieu sélectif : Salmonelle-Shigelle (milieu SS) (**Berche et al., 2002**).

Caractères biochimiques : au sein de la vaste famille des *Enterobacteriaceae*, le genre *Salmonella* est identifié en pratique courante par un ensemble de caractères biochimiques qui sont : absence d'ONPG hydrolase, de lactose, d'uréase, de tryptophane, phénylalanine et

lysine désaminases, réaction VP négative, présence d'une lysine et d'une ornithine décarboxylases, production d'H₂S (sauf des exceptions) (Françoise et al., 2002).

I.3.1.2. *Pseudomonas (P. aeruginosa)*

Le genre *Pseudomonas* appartient à la famille des Pseudomonadaceae, il contient plusieurs espèces dont *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces bactéries sont ubiquistes et vivent en saprophytes dans la nature, elles peuvent être retrouvées dans les eaux douces et marines, dans les sols humides, dans l'air ou sur les végétaux, elles peuvent aussi coloniser l'homme (Beraud, 2001 ; Dellaras, 2007).

Il s'agit de bacilles droits ou incurvés, mobiles par ciliature polaire monotriche (Eberlin, 1997 ; Avril et al., 2000).

La bactérie n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries.

Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques, pulmonaires, ostéo-articulaire. Elle peut aussi surinfecter des lésions cutanées (brûlures), des plaies traumatiques ou postopératoires, provoquer des otites externes, des septicémies et des endocardites (Avril et al., 1992).

P. aeruginosa croit très facilement sur des milieux ordinaires, car il a très peu d'exigences nutritives. En 24 heures, sur gélose nutritive, les colonies apparaissent souvent dissociées : colonies de grandes tailles (1-3 mm), à bord irréguliers en œuf et un pigment vert brillant diffusible caractérise cette espèce (Larpent, 2000).

Caractères biochimiques : ces bactéries ne sont pas capables de fermenter les sucres mais peuvent les attaquer par voie oxydative. Les majeures propriétés biochimiques relatives à l'espèce *P. aeruginosa* sont citées dans le tableau VI.

Tableau VI : Caractères biochimiques de *Pseudomonas aeruginosa*

Caractère	uréase	Oxydase	indole	ADH	Nitrate réductase	glucose	mannitol	Esculine
<i>Pseudomonas aéruginosa</i>	+	+	+	+	+/-	+	+/-	-

(Avril et al., 2000)

Sensibilité aux antibiotiques

P. aeruginosa possède une résistance naturelle aux β -lactamines : Pénicilline, Amoxicilline, Céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération et de 3^{ème} génération : Céfotaxime. La sensibilité de *P. aeruginosa* est variable aux antibiotiques : Aminosides, Amikacine, Ciprofloxacine, toujours sensibles à la Colistine (Berche et al., 2002).

I.3.2. Cocci à Gram positif

I.3.2.1. Les Staphylocoques

Le genre *Staphylococcus* occupe une place très importante en pathologie humaine et animale (Avril et al., 2000).

Ce sont des germes très répandus dans la nature (air, eau, sol). Les staphylocoques, en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis*, font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des porteurs asymptomatiques. Elles peuvent être retrouvées particulièrement dans les fosses nasales antérieures, la peau et les selles (Avril et al., 2000).

Il s'agit de cocci à Gram positif, de 0,8 à 1 μ m de diamètre, disposées en amas, en diplocoques, ou en courtes chainettes, voire en grappes typiques ayant la forme de grappes de raisin. Elles sont immobiles, asporulées, parfois encapsulées (Avril et al., 2000).

Cultivées à 37°C sur milieu sélectif Chapman, elles donnent des colonies arrondies, bombées, jaunes ou blanches, certaines espèces exigent des facteurs de croissance : thiamine, acide panthoténiques, donnant des colonies naines de *Staphylococcus aureus* (Berche et al., 2002).

Caractères biochimiques : Les staphylocoques ont un métabolisme aérobie, catalase (+) à la différence des streptocoques, oxydase (-), fermentent le glucose et le mannitol (tableau VII) (Pierre et Marie, 2003).

Tableau VII : les caractères biochimiques et la sensibilité aux ATB de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*

Caractère	ADH	Mannitol	Nitrate	novobiocin	Coagulase	Sensibilité aux ATB
<i>S. aureus</i>	+	+	+	S	+	Résistante à : pénicilline G, tétracycline, aminoside. Sensible à pristinaamycine, rimfampicine.
<i>S. epidermidis</i>	+	-	+	S	-	Résistante aux : pénicilline,

						methecilline, gentamicine.
<i>S. saprophyticus</i>	+	+	-	R	-	Sensible aux : amoxiline, trimthoprim, sulfametoxacilline. Résistante à la methecilline.

(Prescott et al., 2003)

I.3.2.2. Les Streptocoques

Les streptocoques appartiennent à la famille des Streptococcaceae, ils constituent un groupe de bactéries comprenant de nombreuses espèces qui colonisent et infectent l'homme et l'animal (Pierre et Marie, 2003).

Ils sont des espèces ubiquitaires, certaines sont des parasites de l'espèce humaine, d'autres des commensaux de la muqueuse buccale, génitale, ou de l'intestin (Pierre et Marie, 2003 ; Avril et al., 2000).

Il s'agit de cocci à Gram positif, de taille et de forme irrégulière, regroupées en chaînettes plus ou moins longues, immobiles, asporulées, sphériques ou ovoïdes de taille inférieur à 2 µm (Pierre et Marie, 2003).

Ils sont des germes exigeants, poussent sur des milieux au sang frais à 37-45°C pendant 18-24 h en donnant des petites colonies grises, translucides, en grain de semoule, entourées d'une zone d'hémolyse, l'aspect de ces colonies diffère selon les groupes. Ils poussent en formant des chaînes ressemblant à de courts colliers de perles (Avril et al., 1992 ; Pierre et Marie, 2003).

Caractères biochimiques : ils sont des anaérobies facultatifs, bien que la plupart d'entre eux soient tolérant vis-à-vis de l'oxygène et poussent facilement à l'air, et ils sont catalase - (Pierre et Marie, 2003).

Sensibilité aux antibiotiques : les streptocoques sont sensibles à la plus part des antibiotiques, quelques souches sont résistantes aux : Pénicilline, Macrolides, Quinolones, Chloramphénicol et Cycline (Avril et al., 2000).

I.3.2.3. Les entérocoques

Ils se distinguent du genre Streptococcus par différents caractères :
-Croissance à 10°C et à 45°C.

- Croissance en présence de 6,5% de NaCl et à pH 9,6
- Hydrolyse de l'esculine en présence de 40% de bile.
- Production de pyrrolidonyl arylamidase (PYR) (Avril et al., 2000).

Ce sont des bactéries retrouvées chez l'homme et les animaux. Elles sont présentes également sur les muqueuses génitales et sont plus accessoirement retrouvés dans l'oropharynx et sur la peau, et ils peuvent être retrouvés dans l'environnement, dans la poussière, sur les végétaux et dans l'eau (Avril et al., 2000).

ce sont des bactéries non exigeantes, poussent sur gélose nutritive, se développent bien sur gélose trypticase additionnée de sang, sur ces milieux on observe, en 24h à 37°C des colonies assez larges de 0,5-1 mm de diamètre, blanchâtres, plus opaques, de type α ou non hémolytiques (Avril et al., 2000).

Caractères biochimiques : elles fermentent le mannitol, sorbitol, arabinose, raffinose, saccharose et lactose, VP+, les autres caractères biochimiques différents selon les espèces (Avril et al., 2000).

Sensibilité aux antibiotiques : elles sont résistantes à de nombreux antibiotiques, les premières souches isolées sont résistantes aux glycopeptides (Vancomycine, Teicoplanine) (Berche et al., 2002).

I.4. Diagnostic bactériologique de la septicémie

Le laboratoire de bactériologie intervient dans le diagnostic de la septicémie par la recherche de germes responsables dans le sang et au niveau des portes d'entrées.

I.4.1. Hémoculture

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 pathogènes (Kamoun, 2002).

L'hémoculture permet d'isoler le (les) micro-organisme(s) responsable(s) d'une septicémie, de l' (les) identifier, de déterminer sa (leur) sensibilité ou résistance aux antibiotiques pour adapter le traitement. Dans certains cas, elle peut permettre de contrôler l'efficacité du traitement en cours (Michel, 2007).

I.4.2. Mise en évidence des germes au niveau de la porte d'entrée et des foyers septiques secondaires

Des prélèvements périphériques divers sont réalisés si possible avant antibiothérapie pour localiser la porte d'entrée (cathéter, lésion cutanée, prélèvement pharyngé, urinaire...) et au niveau de foyers septiques secondaires (ponction lombaire, ponction pleurale, ponction articulaire, ponction de vésicules cutanées...). Ces prélèvements sont étudiés et mis en culture au laboratoire. Les germes qu'ils contiennent sont identifiés et comparés à ceux retrouvés dans les hémocultures. Cette comparaison apporte dans certains cas des éléments importants pour l'interprétation des résultats des hémocultures (**Michel, 2007**).

I.5. Antibiotiques et antibiorésistance**I.5.1. Les antibiotiques**

Les antibiotiques sont des agents antibactériens naturels d'origine biologique, ils sont élaborés par des micro-organismes, champignons (*Penicillium*, *Cephalosporium*) et diverses bactéries (Actinobactéries, *Bacillus*, *Pseudomonas*) (**Yala et al., 2001**).

Cependant quelques uns sont maintenant produits par synthèse, tel le chloramphénicol, et beaucoup, parmi les produits employés actuellement, sont des dérivés semi-synthétiques préparés par modifications chimiques de produits de base naturelle (**Yala et al., 2001**).

Le choix d'un antibiotique adapté au traitement d'une infection dépend de :

- L'étude *In Vitro* de la sensibilité de la bactérie responsable vis à vis de divers agents antibactériens.
- Propriétés pharmacologiques des molécules (diffusion dans le foyer infectieux, toxicité).
- L'état immunitaire du patient.

Le rôle du laboratoire est de déterminer *in vitro* les concentrations d'antibiotiques nécessaires pour inhiber ou tuer les bactéries (**Yala et al., 2001**).

I.5.2. Les familles des antibiotiques

Les familles des antibiotiques sont représentées dans le tableau VIII :

Tableau VIII : Les familles des antibiotiques

Mode d'action des antibiotiques	Famille des antibiotiques	Antibiotique	Spectre d'activité
Action sur la paroi	-Les β -lactamines	1. Les penames -Pénicilline G -Pénicillines M -Pénicillines A (Aminopénicillines) -Carboxypénicillines -Uréidopénicillines -Amidinopénicillines -Inhibiteurs de β -lactamases 2. les pénèmes 3. les céphèmes - Céphalosporine de 1 ^{ère} génération -Céphalosporine de 2 ^{ème} génération -Céphalosporine de 3 ^{ème} génération 4. Les Monobactames	-Les cocci (à l'exception des staphylocoques, dont la grande majorité produit maintenant une pénicillinase), la plupart des bacilles à Gram+, les spirochètes. - Certains bacilles à Gram- (<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i>).
	- Les Glycopeptides	-Vancomycine -Teicoplanine	-Bactéries à Gram+ essentiellement Staphylocoques, Entérocoques, Pneumocoque résistant aux pénicillines.
	-Non classé	- Fosfomycine	- Staphylocoques - bacilles à Gram- : Entérobactéries, <i>Haemophilus</i> , et parfois <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Action sur la synthèse protéique	- Les Aminosides	-Streptomycine -Kanamycine -Néomycine,...	-Cocci et bacilles à Gram+ (sauf les streptocoques). -Cocci et bacilles à Gram- -Les mycobactéries

	- Les Tétracyclines	-Tétracyclines -Doxycyclines -Mynocyclines	-Ils sont actifs sur les germes à développement intracellulaire, les rickettsies, chlamydie, mycoplasmes, brucelles.
	- Les Phénicoles	- Chloramphénicol - Thiamphenicol	-Ils agissent sur les rickettsies, les chlamydie.
	-Antibiotique non classé	-L'Acide fusidique	-Bactéries à Gram+, surtout utilisé comme anti-staphylococcique.
	-Macrolides, Lincosamides, Streptogramines	- Parmi les macrolides, on a : Erythromycine et Roxithromycine. - Parmi les lincosamides, on a : les Lincomycines, Clindamycines,...	-Actifs sur les bactéries intracellulaires (chlamydiae, mycoplasme, rickettsies) sur les cocci à Gram+ (streptocoques et staphylocoques) et sur les cocci à Gram- et les bacilles à Gram+.
Action sur la membrane	- Les Polymyxines	-Polymyxine B -Polymyxine E ou Colistine.	- Bacilles à Gram négatif.
	- Les Nitrofuranes	-Nitrofuranoéines –Les Nifuroxazides	-Ayant un large spectre d'activité.
Action sur la réplication d'ADN	-L'association Sulfamides et Triméthoprimes	-L'association principale est Triméthoprime (TMP) + Sulfaméthoxazole (SMX) appelé également « Cotrimoxazole ».	-Bacilles à Gram- et à Gram+, avec également une activité plus inconstante sur des cocci à Gram+ et à Gram-.
	- Les Quinolones • Quinolones de 1 ^{ère} génération. • Quinolones de 2 ^e génération ou « fluoroquinolones »	-L'Acide nalidixique et l'Acide pipémidique. - Norfloxacin qui est réservée au infections urinaires, Ofloxacin, Péfloxacin et Ciprofloxacine.	- leur usage est exclusivement limité au traitement des infections urinaires non parenchymateuses (cystites). - Bactéries intracellulaires (chlamydiae, rickettsies, mycoplasmes), bacilles à Gram-, Staphylocoques Méti-S, méningocoque.
	- Les Rifamycines	- Rifampicine -Rifabutine	-Les mycobactéries, bactéries à Gram+ (staphylocoques, streptocoques...), et certaines bactéries à Gram- (Brucella, Haemophilus...).
	-Les Imidazolés	- Métronidazole	-Bactéries anaérobies strictes (à Gram+ et Gram-

			non sporulés, dont les bacteroides).
	- Non classé	- Novobiocine	-Staphylocoque, cocci à Gram-, Haemophilus et Pasteurelles.

(Bergone et Bérézin, 1998 ; Christian, 1999 ; Moselio et al., 1999 ; Nauciel, 2000 ; Singleton, 2002 ; Buys, 2006)

I.5.3. L'antibiorésistance

La découverte des antibiotiques a constitué un progrès médical extraordinaire, qui a permis d'améliorer le pronostic des infections. Cependant, une résistance à ces produits s'est rapidement développée et a évolué jusqu'à constituer un problème de santé important à l'échelle mondiale. Les conséquences en sont très nombreuses, dont une augmentation de la morbidité et de la mortalité, un accroissement des coûts des soins de santé, causé par des hospitalisations plus longues, et la nécessité d'utiliser des médicaments plus coûteux et souvent plus toxiques (Yala et al., 2001).

I.5.4. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Il existe quatre mécanismes principaux par lesquels les micro-organismes développent de la résistance :

I.5.4.1. Inhibition enzymatique de l'antibiotique

Le microorganisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique.

a) Enzymes inactivant les β -lactamines

Ce sont les β -lactamases, qui inactivent les β -lactamines par méthylation du noyau β -lactame. Elles constituent un mécanisme de résistance très efficace (Nauciel, 2000).

Parmi les bactéries à Gram positif, le *Staphylococcus aureus* ainsi que l'entérocoque sont les pathogènes les plus susceptibles de produire des β -lactamases transmises par des plasmides et d'hydrolyser les pénicillines ou les céphalosporines. Les bacilles à Gram négatif (BGN), en particulier les entérobactéries, produisent une grande variété de β -lactamases, qui sont subdivisées en plusieurs sous-groupes (Yamashita et al., 2000 ; Pitout et al., 2004).

b) Enzymes inactivant les aminosides

On connaît 3 classes d'enzymes pouvant inactiver les aminosides : les acétyltransférases, les nucléotidyltransférases et les phosphotransférases (Nauciel, 2000).

c) Enzymes inactivant le chloramphénicol

Le chloramphénicol peut être inactivé par la production d'une chloramphénicol transférase, exemple : entérobactéries, staphylocoques et streptocoques (Nauciel, 2000).

d) Enzymes inactivant les macrolides-lincosamides

Divers enzymes peuvent inactiver l'Erythromycine, la Clindamycine, exemple : staphylocoques (Nauciel, 2000).

I.5.4.2. Modification des sites de liaison

Ce mécanisme de résistance produit une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action. Voici quelques exemples de ce mécanisme de résistance :

a) Modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP)

Ce phénomène réduit l'affinité de la cible (PLP) pour les β -lactamines soit par une mutation des gènes chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes supplémentaires exprimant de nouvelles PLP. Ce mécanisme de résistance est important chez les cocci à Gram positif, comme le *Staphylococcus aureus* et le *Streptococcus pneumoniae*, alors qu'il serait beaucoup plus rare chez les bactéries à Gram négatif. Parmi les bactéries à Gram négatif, la résistance par altération des PLP s'observe chez les espèces du genre *Neisseria* et, plus rarement, chez *Haemophilus influenzae* (Yamashita et al., 2000 ; Pitout et al., 2004).

b) Altération des sites de liaison ribosomiaux

L'altération intracellulaire de la sous-unité ribosomiale ciblée dans la bactérie peut atténuer les effets antibactériens des macrolides, de la clindamycine, des aminosides ou du chloramphénicol en empêchant leur fixation sur le ribosome (Yamashita et al., 2000 ; Pitout et al., 2004).

c) Altération de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase

L'ADN-gyrase est une enzyme nécessaire à l'activité des quinolones. Des mutations spontanées d'un seul acide aminé de l'ADN-gyrase engendrent de la résistance. Il en est de même pour les mutations de la topoisomérase VI (Yamashita et al., 2000 ; Pitout et al., 2004).

I.5.4.3. Réduction de la perméabilité cellulaire

Ce mécanisme n'affecte pas les Gram+ car les antibiotiques diffusent librement à travers le peptidoglycane qui constitue la paroi de ces bactéries. Chez les bactéries à Gram- au contraire, la bactérie est constituée du lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe qui s'oppose à la pénétration des antibiotiques, mais des porines protéiques formant des canaux, permettent le passage des molécules hydrophiles comme les pénicillines à large spectre, les céphalosporines, les phénicoles et les tétracyclines. Des mutations entraînent des modifications de ces porines et de ce fait entraver la pénétration de certains antibiotiques (Nauciel, 2000).

I.5.4.4. Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux

L'antibiotique ne peut pas atteindre son site d'action par pompage actif à l'extérieur de la bactérie (efflux). Les transporteurs d'efflux de plusieurs médicaments sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens. Le phénomène a été décrit surtout chez les BGN, la résistance à la tétracycline est due le plus souvent à un mécanisme d'efflux (Nauciel, 2000 ; Pitout et *al.*; 2004).

II. Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Boufarik durant une période de six mois (à partir du mois de Février au mois de Juillet 2012).

Les échantillons analysés et servant de support pour cette étude provenaient des services suivants :

- Service des maladies infectieuses homme (MIH).
- Service des maladies infectieuses femme (MIF).
- Service des maladies infectieuses pédiatrie (MIP).

L'objectif de notre travail était d'isoler et d'identifier les différentes bactéries responsables de la septicémie, et d'évaluer leur antibiorésistance.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

Notre étude s'est reposée sur l'analyse du sang, ce dernier recueilli dans des flacons d'hémocultures prélevés de malades hospitalisés dans les différents services cités précédemment. Notre échantillonnage englobait 571 flacons d'hémoculture.

II.1.2. Matériel non biologique (voir tableaux en annexe I).

II.2. Méthodes

Le diagnostic étiologique d'une septicémie est assuré par l'hémoculture, qui permet en quelques jours d'isoler, d'identifier les germes responsables, et d'étudier leur sensibilité aux antibiotiques à partir d'un d'antibiogramme. Le nombre de germes dans le sang est souvent très faible faute de quoi il est important de récupérer une quantité suffisante de sang qui sera conséquemment mise en culture sur une période de 10 jours.

II.2.1. Prélèvement :

Le prélèvement du sang pour hémoculture a été effectué au niveau des trois services de l'hôpital de Boufarik, et pour réaliser un prélèvement de qualité qui est le préalable essentiel à tout examen en bactériologie, il doit satisfaire plusieurs critères en suivant ces étapes :

- Il doit être effectué avant l'instauration de l'antibiothérapie (sauf dans le cas où il s'agit de contrôler l'efficacité du traitement) parce qu'il risque de fausser les résultats, et au moment de pic fébrile où la température doit être supérieure ou égale à 38,5°C ou inférieure à 36,5° (hypothermie).

- Il doit être répété trois fois, avec un espacement d'au moins une heure au moment des clochers fébriles ou des frissons, avec un maximum de trois fois en 24 heures, afin d'augmenter les possibilités d'isolement des germes.

- On doit éviter la contamination exogène du sang prélevé par une asepsie rigoureuse :

- Fermer les portes et les fenêtres pour éviter les courants d'air.
- Porter le matériel nécessaire : les deux flacons d'hémoculture, tubulure à prélèvement, deux compresses stériles imbibées d'antiseptique, gants stériles, garrot, seringues à hémoculture en plastique stérile, coton hydrophile.
- Se laver les mains au savon.
- Désinfecter les bouchons des flacons d'hémoculture et le site de prélèvement avec de l'alcool à 70°.

-Le sang prélevé d'un patient doit êtreensemencé dans des flacons d'hémoculture contenant le bouillon trypticase soja qui est une bonne base pour la culture des bactéries exigeantes.

-A chaque prélèvement, on ensemence deux flacons : un flacon aérobie et un flacon anaérobie. Ces deux milieux biologiques ont pour but de cultiver les germes et d'améliorer la chance de les détecter.

-Choisir le meilleur site de ponction qui est au niveau de la veine du pli du coude.

-Volume de sang prélevé : une quantité assez importante de sang doit être mise en culture : chez les adultes, 10 ml/ flacon est la quantité conseillée et chez les nourrissons et nouveau-né, 1 à 3 ml peuvent suffire, ce volume de sang doit êtreensemencé dans chaque flacon d'hémoculture aérobie et anaérobie bien étiquetés (mentionner le nom et le prénom du patient, la date et l'heure du prélèvement, la température du malade et tous renseignements d'ordre clinique ou thérapeutique susceptible de guider l'examen).

- Les flacons doivent être mis en incubation rapidement à l'étuve à 37°C.

II.2.2. Traitement des hémocultures au laboratoire

II.2.2.1. Incubation

Les flacons d'hémoculture doivent être transportés au laboratoire, placés dans l'étuve à 37°C et inspectés pendant 10 jours.

II.2.2.2. Etude bactériologique des hémocultures

a) Examen macroscopique

Cet examen est entrepris afin de rechercher des signes de croissance bactérienne. Il consiste à faire une observation à l'œil nu (visuelle) des flacons d'hémoculture à partir de la 6^{ème} heure d'incubation puis avant chaque repiquage pendant 10 jours. Il consiste à rechercher l'apparition de :

- ✓ Milieu trouble
- ✓ Bulles de gaz à la surface
- ✓ Sang hémolysé ou noir ou coagulé.

b) Réalisation de la subculture bactérienne

La subculture est réalisée en inoculant le bouillon sur des milieux gélosés de manière à obtenir des colonies isolées du germes. Les milieux gélosés utilisés sont : gélose au sang cuit et gélose Hektoen.

Les repiquages sont réalisés après 24 heures (1^{er} jour) puis au 3^{ème} jour, parce que certains germes poussent sans signe apparent sur le flacon. Le dernier repiquage sera effectué après dix jours d'incubation avant de rendre un résultat négatif.

Technique

- On désinfecte le bouchon des flacons des hémocultures par l'alcool et la flamme du bec Bunsen.
- Avec une seringue stérile, on aspire quelques ml de bouillon contenus dans le flacon.
- Puis on dépose une à deux gouttes de bouillon sur un point périphérique d'une boîte de gélose au sang cuit (GSF) et gélose Hektoen.
- A l'aide d'une pipette Pasteur stérilisée et refroidie, on réalise des stries serrées.

- Incuber les boîtes de la gélose au sang cuit dans la jarre sous une atmosphère enrichie en CO₂ et l'autre boîte de la gélose Hektoen à l'étuve à 37°C pendant 24h (photo 1).

c) Lecture des résultats :

Si un germe est présent dans un flacon, sa subculture sur les milieux gélosés est obtenue sous forme de colonies caractéristiques après 24 heures d'incubation. L'examen des colonies (l'état frais, coloration de Gram...) permet de préciser le germe en cause.

- Si les résultats des hémocultures sont négatifs après 24 heures, les flacons sont réincubés pendant 10 jours avec une subculture systématique au 3^{ème} et 10^{ème} jours.

II.2.2.3. Examen microscopique :

L'examen microscopique permet de mettre en évidence la forme des germes, leur mode de regroupement et éventuellement leur mobilité (si elle existe). On peut le réaliser en 3 examens principaux :

a) L'état frais

Principe : permet d'observer les bactéries vivantes, et de déterminer leur morphologie, leur mode de regroupement et leur mobilité sans aucune coloration ni fixation.

Technique : prendre une lame propre nettoyée avec un coton imbibé d'alcool à 70°.

- Dans le cas d'une culture en milieu liquide (bouillon) déposer sur la lame une goutte de cette culture à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.
- Dans le cas d'une culture sur milieu solide (gélose) en tube ou sur boîte de Pétri, préparer une suspension bactérienne, puis déposer une goutte sur une lame, recouvrir par une lamelle puis observer au microscope optique au grossissement X400 (Gr=X400).

b) Coloration simple au bleu de méthylène

Principe : permet d'observer la morphologie des bactéries (bacilles, cocci ou coccobacilles) ainsi que leur mode de regroupement (diploïdes, en chaînettes, en grappes de raisin, etc).

Technique :

- ✓ Réalisation d'un frottis

-Déposer sur une lame propre une goutte d'eau stérile (si la culture prélevée est solide), puis prélever à l'aide de l'anse de platine une parcelle de la culture (il est également possible de déposer une goutte de milieu liquide incubé ou une goutte de suspension préalablement préparée).

-Mélanger afin d'obtenir une suspension homogène.

-Réaliser le frottis en partant du centre de la lame, en décrivant avec l'anse des mouvements circulaires de façon à obtenir un étalement mince et homogène sur au moins 2/3 de la lame.

-Sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme du bec Bunsen sans trop le chauffer.

-Le frottis étant fixé, la lame ne présente plus de danger de contamination.

✓ La coloration

-Recouvrir avec le bleu de méthylène.

-Laisser agir 1 minute.

-Rincer à l'eau de robinet puis sécher.

-Observer sous microscope optique à l'objectif X100 à immersion.

c) Coloration de Gram

Principe : la coloration de Gram est une coloration différentielle, permet de séparer les bactéries Gram positif de celles à Gram négatif.

Technique :

- ✓ Préparer un frottis bactérien à partir d'une culture pure (doit être mince et homogène, le sécher puis le fixer à la flamme).
- ✓ Couvrir le frottis avec une solution de Violet de Gentiane ; laisser agir pendant 1 minute.
- ✓ Jeter le colorant puis fixer avec le Lugol et laisser agir environ 1 minute.
- ✓ Jeter le Lugol et décolorer la préparation par l'alcool à 70° entre 15-30 secondes selon les auteurs ; rincer immédiatement à l'eau.
- ✓ Recoloration par la Fushine pendant 1 minute; rincer à l'eau du robinet.
- ✓ Sécher au dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- ✓ Après séchage de la lame, on observe sous microscope avec un grossissement X1000 après avoir déposé une goutte d'huile à immersion.

Cette coloration différentielle nous permet de classer les bactéries en deux catégories :

- Bactéries à Gram positif : apparaissent en violet foncée grâce à leur paroi épaisse et pauvre en lipide qui ne laisse pas l'alcool passer, dans ce cas les bactéries gardent la coloration primaire.
- Bactéries à Gram négatif : colorées en rose ou en rouge car elles perdent leur première coloration à cause de leur paroi riche en lipide qui laisse diffuser l'alcool qui à son tour décolore le contenu cellulaire.

II.2.2.4. Tests biochimiques

Les tests biochimiques sont des examens qui permettent d'identifier une bactérie en s'appuyant sur ces caractères biochimiques, cette identification est réalisée à partir d'une culture pure.

Avant d'identifier les bactéries de façon plus approfondies, on doit préparer une suspension bactérienne à partir de colonies suspectées de la manière suivante :

- ✓ Prendre une pipette Pasteur, la stériliser avec la flamme du bec Bunsen, à l'aide de cette pipette prélever quelques colonies et les introduire dans 10 ml d'eau physiologique stérile jusqu'à l'obtention d'une opacité de 0,5 Mac Farland.

1) Identification des BGN

a) Test de l'oxydase

La recherche de l'oxydase est l'un des critères les plus employés pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semiquinonique rose violacée. L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires bactériennes, c'est une enzyme qui catalyse une réaction d'oxydo-réduction en impliquant une molécule d'oxygène comme accepteur d'électrons.

Technique : sur une lame porte-objet propre

- ✓ Déposer un disque d'oxydase et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile.

- ✓ Prélever une parcelle de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

Lecture :

- ✓ **Oxydase + :** Une coloration violette foncée apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noir.
- ✓ **Oxydase - :** Le disque reste incolore.

b) Galerie biochimique classique

La galerie biochimique utilisée est une mini galerie classique pour l'identification des Entérobactéries (photo2). Elle comprend les tests suivants : Citrate de Simmons, TSI, VP, Urée -Indole.

➤ Gélose Citrate de Simmons

La gélose citrate de Simmons (milieu minéral minimum au citrate de sodium) est utilisée pour la différenciation des bacilles Gram négatifs. Le milieu ne contenant qu'une seule source de carbone (citrate), seules les bactéries possédant un citrate perméase sont capables de se développer. L'utilisation du citrate se traduit par une alcalinisation du milieu lorsque la dégradation est complète et en aérobiose.

Technique

- Ensemencer quelques gouttes de la suspension bactérienne dans le milieu de citrate de Simmons de bas en haut par des stries longitudinale (zig zag) à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Il ne faut pas visser l'opercule de tube à cause du dégagement de gaz, provenant de la décarboxylation, l'oxygène de l'air est nécessaire pour la culture de bactéries sur ce milieu.
- Incuber dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

Lecture

Les bactéries « citrate positive » présentent une culture sur la pente avec alcalinisation du milieu (gélose bleue). Cela concerne par exemple : *Serratia*, *Enterobacter* (la plupart des espèces), *Klebsiella*, *Proteus* et *Providencia*. Pour les bactéries « citrate négative », aucune culture n'est visible et le milieu garde sa couleur d'origine (verte). Cela concerne *E.coli*, *Shigella*, *Yersinia* et *Edwardsiella*.

➤ **Gélose TSI (Triple Sugar Iron)**

Ce milieu de culture est principalement utilisé pour la caractérisation biochimique des Entérobactéries et des Salmonelles. C'est un milieu différentiel par la capacité à mettre en évidence les fermentations du : glucose, lactose et/ou saccharose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré (H₂S) et de gaz.

Technique

- Des cultures pures sont prélevées à partir d'un milieu d'isolement sélectif.
- A l'aide d'une pipette Pasteur stérile ensemercer le culot du milieu par piqûre centrale et la pente par des stries serrées.
- Il ne faut pas visser l'opercule afin de permettre l'aération du milieu.
- Puis incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture

La lecture se fait au niveau du culot pour le glucose et au niveau de la pente pour le lactose et /ou le saccharose.

- Les germes qui fermentent le lactose ou le saccharose font virer la pente du tube au jaune.
- Les germes qui fermentent le glucose font virer le culot du tube au jaune.
- La production de sulfure d'hydrogène se manifeste dans le culot par l'apparition d'une coloration noire de sulfure de fer qui est due à la réduction du thiosulfate en présence de citrate ferrique.
- La présence de gaz se matérialise par le décollement du culot et/ou la présence de bulles d'air.

➤ **Bouillon Clark et Lubs**

Ce milieu glucosé est le plus courant pour étudier les voies de fermentation du glucose. Il permet de différencier les *Enterobacteriaceae* au moyen des réactions au rouge de méthyle et de Voges-Proskauer.

✓ **Test RM (rouge de méthyle)**

Ce test permet la mise en évidence, grâce au rouge de méthyle, de la production des acides mixtes par acidification d'un milieu glucosé après fermentation du glucose.

✓ **Test VP (Vosges-Proskauer)**

Ce test permet la mise en évidence de la production d'acétoïne (ou 3-hydroxy-butanone) au cours de la fermentation butylène glycolique, en présence d'une base forte (soude ou potasse) et d' α -naphthol.

Technique

A l'aide d'une pipette Pasteur et à partir de la culture solide,ensemencer quelques colonies dans le bouillon Clark et Lubs et incuber à 37°C pendant 24h. Après 24h d'incubation partager le volume sur deux tubes à essai :

- Le test VP : ajouter 10 gouttes de VP1 et 10 gouttes de VP2 on incline le tube pour permettre une bonne oxygénation pendant 20 min ensuite procéder à la lecture.
- Le test RM : ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthylène, la lecture est immédiate.

Lecture

- Anneau rouge en surface : **VP+**
- Anneau jaune en surface : **VP-**
- Milieu rouge : **RM+**
- Milieu jaune : **RM-**

➤ **Urée Indole**

Ce milieu de culture permet en 24 h de réaliser trois tests biochimiques qui permettent l'identification de germes, particulièrement les Entérobactéries. Ces trois tests sont : Le test uréase, le test tryptophane désaminase (TDA) et le test indole.

1^{ère} étape : recherche de l'uréase

Les Entérobactéries peuvent dégrader l'urée qui est un composé organique et qui peut servir de source d'azote unique aux bactéries possédant une uréase.

Une bactérie est considérée « uréase positive » si une coloration rose est apparue dans le tube (alcalinisation). Dans le cas contraire, elle est considérée « uréase négative ».

Technique

- Préparer une suspension du germe prélevé sur un milieu solide, puisensemencer un tube de milieu uré-indole avec quelques gouttes de cette suspension bactérienne.
- Incuber à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

Lecture

- **Coloration jaune** : uréase négative
- **Coloration rose** : uréase positive

2^{ème} étape : lecture de la TDA

Si une uréase active a été observée lors de la précédente étape, on ramène le pH du milieu à une valeur proche de la neutralité (couleur initiale du bouillon) en ajoutant 1 goutte de HCl 0.1M. Ajouter ensuite, dans cette 1^{ère} fraction, quelques gouttes de perchlorure de fer (réactif API TDA). Une coloration brune traduit la présence de la TDA.

3^{ème} étape : recherche de l'indole

Ajouter dans la 2^{ème} fraction quelques gouttes du réactif de Kovacs. L'apparition d'un anneau rouge traduit la présence d'indole.

c) Galerie API 20 E

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, elle comprend 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La galerie API 20 E est composée de 20 microtubes surmontés de cupules, contenant des substrats déshydratés (photo3). Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.



Photo 3. La galerie API 20 E (photo originale)

Technique

API 20 E ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autres. Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté à la culture des Enterobacteriaceae et/ou des bacilles à Gram négatif non fastidieux selon les techniques usuelles de bactériologie.

a. Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée stérile ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

b. Préparation de l'inoculum

- A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé. Utiliser des cultures pures et préférentiellement jeunes (18-24 heures).
- Préparer une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans un tube contenant 10ml d'eau physiologique stérile.

c. Inoculation de la galerie

- Pour les tests CIT, VP et GEL, les tubes et les cupules doivent être remplis avec la suspension.
- Pour les autres tests (ADH, LDC, ODC, H₂S et URE) remplir uniquement les tubes et créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte et la placer à l'étuve à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

Lecture

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

- Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive.
- Test IND : ajouter 1 goutte de réactif Kovacs. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive.
- Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2, attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique.

2) Identification des Cocci à Gram positif

a) Test de la catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. La fonction principale de la catalase dans les cellules est de prévenir l'accumulation de niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) formé comme sous produit de processus métaboliques. Elle permet de préciser la famille du coque à Gram positif, les *Micrococcaceae* sont catalase positive alors que les *Streptococcaceae* sont catalase négative, cette enzyme catalyse la réaction suivante : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Technique :

- Sur une lame propre et sèche déposer une ou deux gouttes d'eau oxygénée (H_2O_2).
- A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée prélever une parcelle de la colonie à étudier et la mettre en contact avec la goutte d'eau oxygénée déposée préalablement sur la lame.
- Observer immédiatement.

Lecture :

- **catalase +** : Apparition de bulles de gaz, suite à un dégagement gazeux du dioxygène.

- **catalase** – : pas de formation de bulles de gaz.

b) Identification différentielle des Staphylocoques

▪ Test de la coagulase libre

La coagulase ou staphylocoagulase est une enzyme capable de coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence de la coagulase dans un bouillon de culture de *Staphylococcus* est considérée comme un critère absolu d'identification de *Staphylococcus aureus* en médecine humaine.

Technique

Préparer trois tubes à essai secs :

- Le premier tube ou le témoin négatif : ne contient que le plasma (pour confirmer que le plasma est incapable de coaguler seul).
- Le deuxième tube ou le témoin positif : le plasma humain citraté estensemencé par une souche de *Staphylococcus aureus*.
- Le troisième tube ou le tube test : le plasma humain citraté estensemencé par quelques colonies bactériennes à tester.

Lecture

Après incubation des trois tubes de 18 à 24 heures à 37°C, les résultats sont les suivants :

- Témoin négatif reste inchangé.
- Témoin positif : une prise en masse par inclination du tube.

Le tube test est :

- Coagulase positive** : formation d'un coagulum de fibrine. Le fibrinogène (soluble) a donc été transformé en fibrine (insoluble). Il s'agit donc de *Staphylococcus aureus*.
- Coagulase négative** : pas de formation d'un coagulum de fibrine. Le fibrinogène (soluble) n'a donc pas été transformé en fibrine (insoluble).

II.2.2.5. Antibiogramme

L'antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques supposés ou connus. Nous testons la sensibilité ou la résistance de la souche isolée vis-à-vis des différents antibiotiques selon la méthode de diffusion sur gélose. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. Il sert également à :

- la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne.
- l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles.

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'antibiotique.

-Le milieu utilisé : est le milieu Mueller Hinton (MH), coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm. La gélose doit être séchée avant l'utilisation.

L'inoculum

- A partir d'une culture pure et jeune, racler à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger la pipette dans 10 ml d'eau physiologique stérile.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5Mc Farland.
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop trouble, ou bien de la culture s'il est trop faible.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

L'ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.

- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche de haut en bas en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, achever l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

Application des disques d'antibiotiques

- Déposer les disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince stérile (pas plus de 5 disques par boîte). Une fois le disque est appliqué, il ne doit pas être déplacé.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition (voir annexe).
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

Test complémentaire

✓ La recherche de β -lactamase à spectre élargie

La production de β -lactamase à spectre élargie (BLSE) est un mécanisme de résistance au β -lactamines, qui est largement distribué parmi de nombreuses espèces appartenant à la famille des Entérobactéries telles que, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *proteus*...

Technique

✓ Le test de synergie

- Dans une boîte de gélose Mueller Hinton, ensemer la suspension bactérienne selon la technique de l'antibiogramme.

-C'est sur ce milieu que sont déposés, à 30 mm de distance, 2 disques d'antibiotiques : un disque d'AMC (Amoxicilline + acide clavulanique) et un disque d'une céphalosporine de troisième génération qui est Cefotaxime (CTX).

-Incubation de 18 à 24 h à 37°C à l'étuve.

Lecture et interprétation

-L'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques suffit pour conclure que la souche est productrice de β -lactamase à spectre élargie (BLSE).

-En l'absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre d'inhibition autour des disques de céphalosporines de 3^{ème} génération, donc on passe au test de confirmation de BLSE par le test de double disque.

✓ Test de confirmation du double disque (test espagnol)

La détection de la β -lactamase à spectre élargie (étendu) peut être confirmée par le test du double disque. Ce test consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de CTX.

Technique

-A partir d'une culture de 18h, une suspension bactérienne est préparée avec une opacité égale à 0.5 Mac Farland, le gélose Mueller-Hinton est ensemencée selon la technique de l'antibiogramme.

-On dépose un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (CTX) à une distance de 25mm (centre à centre).

-On laisse diffuser à température ambiante pendant une heure.

-Après 1 heure d'incubation sur la paillasse (T° ambiante), ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de CTX.

-Incuber la boîte 18 h à 37°C.

Lecture

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération appliqué après pré diffusion du disque de l'AMC est supérieur ou égal à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (CTX).

III.1. Résultats

L'étude menée durant ce stage s'est principalement reposée sur l'analyse de 571 flacons d'hémocultures au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Boufarik, la totalité des prélèvements proviennent des malades hospitalisés dans les trois services ciblés de l'hôpital (Service des maladies infectieuses hommes, femmes et pédiatriques).

III.1.1. Résultats globaux des hémocultures

La fréquence des hémocultures est représentée dans la figure I.

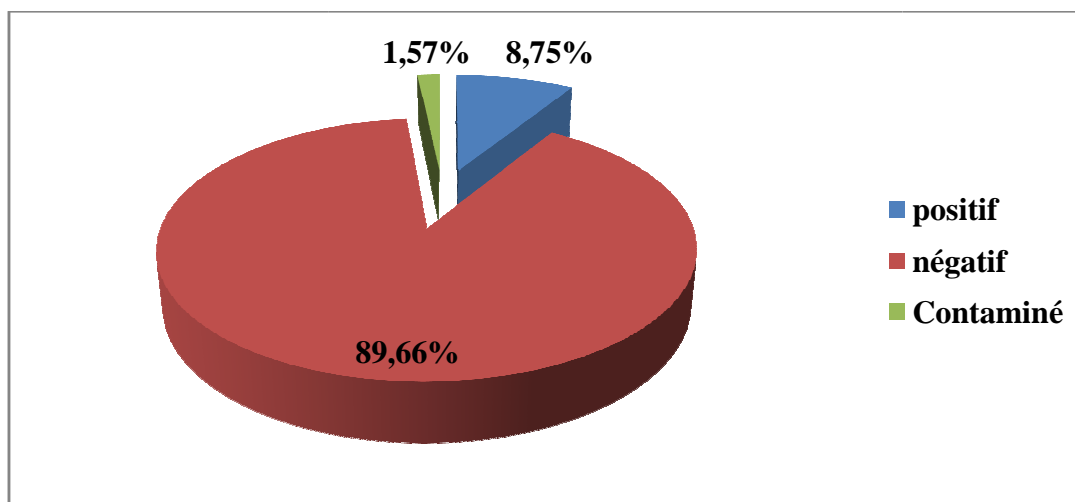


Figure I : Résultats globaux des hémocultures

Les résultats obtenus montrent que parmi les 571 hémocultures récupérées, 50 se sont révélées positives avec un taux de 8,75%, 351 sont négatives avec un taux de 89,66% et 9 hémocultures souillées avec un taux de 1,57%.

III.1.2. Répartition des résultats positifs selon les services

La répartition des résultats positifs selon les services est représentée dans la figure II.

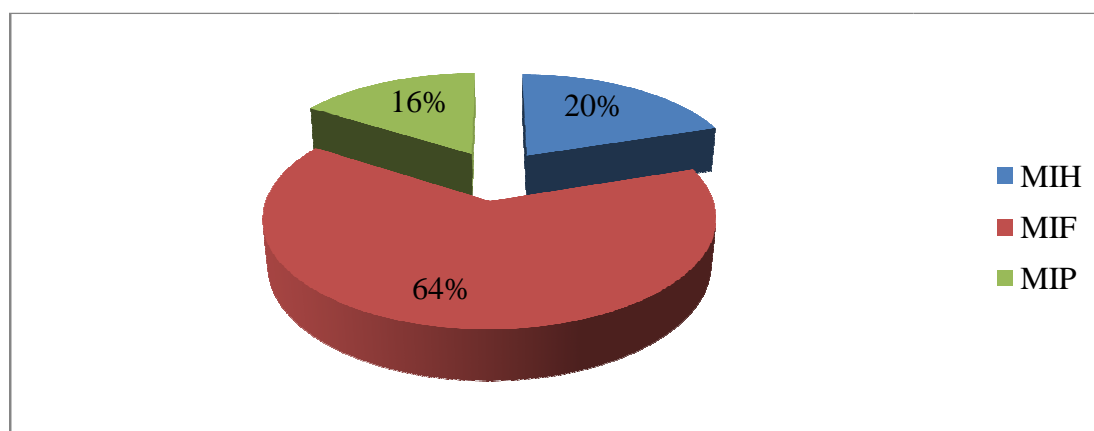


Figure II : Répartition des résultats positifs selon les services

Les hémocultures sont pratiquées au niveau de trois services hospitaliers, il est bien à noter que la fréquence la plus élevée provient du service des maladies infectieuses femmes (64%), alors qu'elles représentent de basses fréquences au niveau du service des maladies infectieuses hommes et maladies infectieuses pédiatriques (20% et 16% respectivement).

III.1.3. Répartition des résultats selon le sexe

La fréquence des hémocultures positives selon le sexe est représentée dans la figure III.

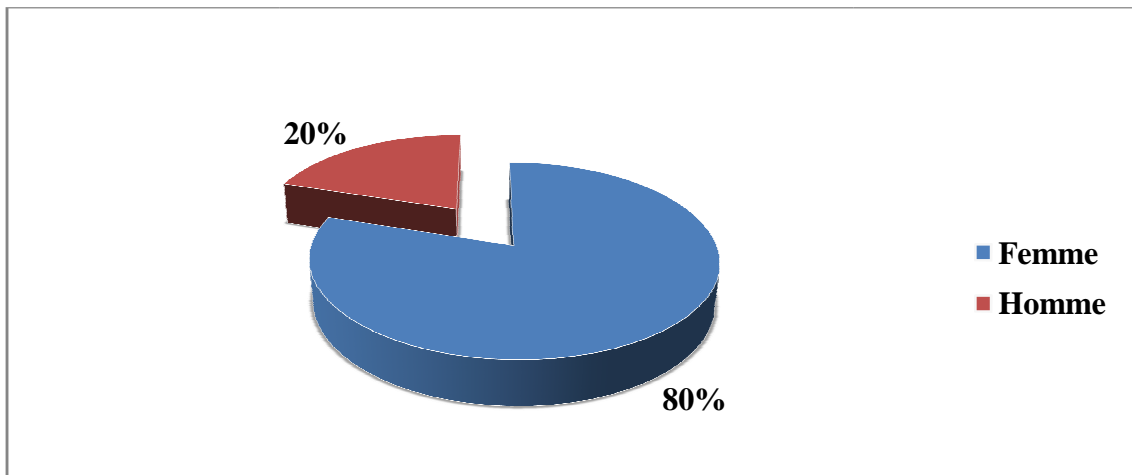


Figure III : Répartition des résultats selon le sexe

Nous remarquons que le nombre des hémocultures positives chez le sexe féminin est plus élevé, avec un pourcentage de 80%, par rapport à celui relevé chez le sexe masculin avec une fréquence de 20%.

III.1.4. Répartition des résultats selon les tranches d'âge

La fréquence des hémocultures positives selon les tranches d'âge est représentée dans la figure IV.

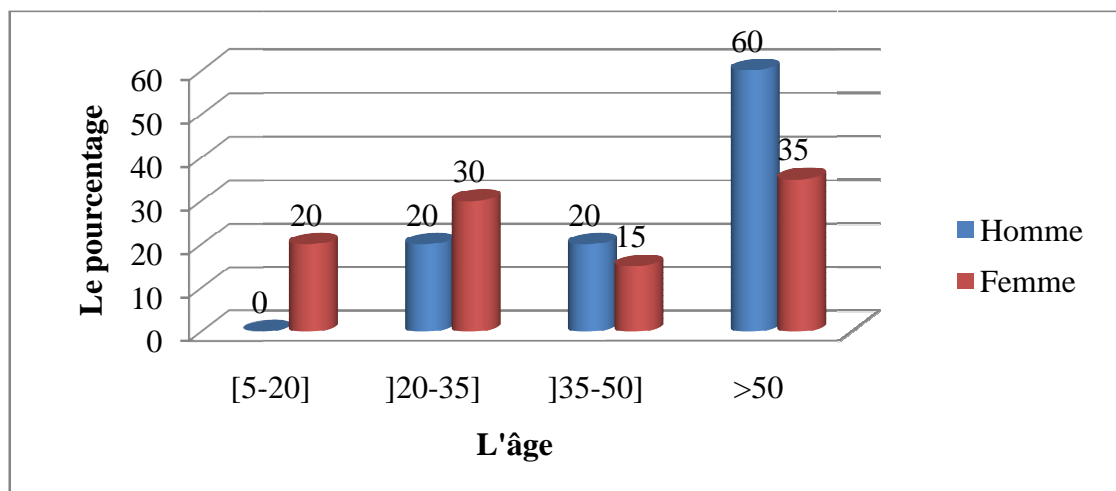


Figure IV: Répartition des résultats selon les tranches d'âge

Nous remarquons que la tranche d'âge la plus touchée chez le sexe masculin est celle des sujets dont l'âge est >50 avec un taux de positivité de 60%, suivie par les sujets dont l'âge est compris entre]20-35] et]35-50] avec une fréquence relative de 20% pour chaque tranche.

Concernant les femmes, le taux le plus élevé est également obtenu chez les patientes dont l'âge est >50 ans avec 35%, suivie par la tranche d'âge de]20-35] avec 30% puis [5-20] avec 20%, alors que la tranche d'âge entre]35-50] ans vient en dernière position avec 15%.

III.1.5. Répartition des résultats selon les germes isolés

Les différents germes identifiés sont représentés dans la figure V :

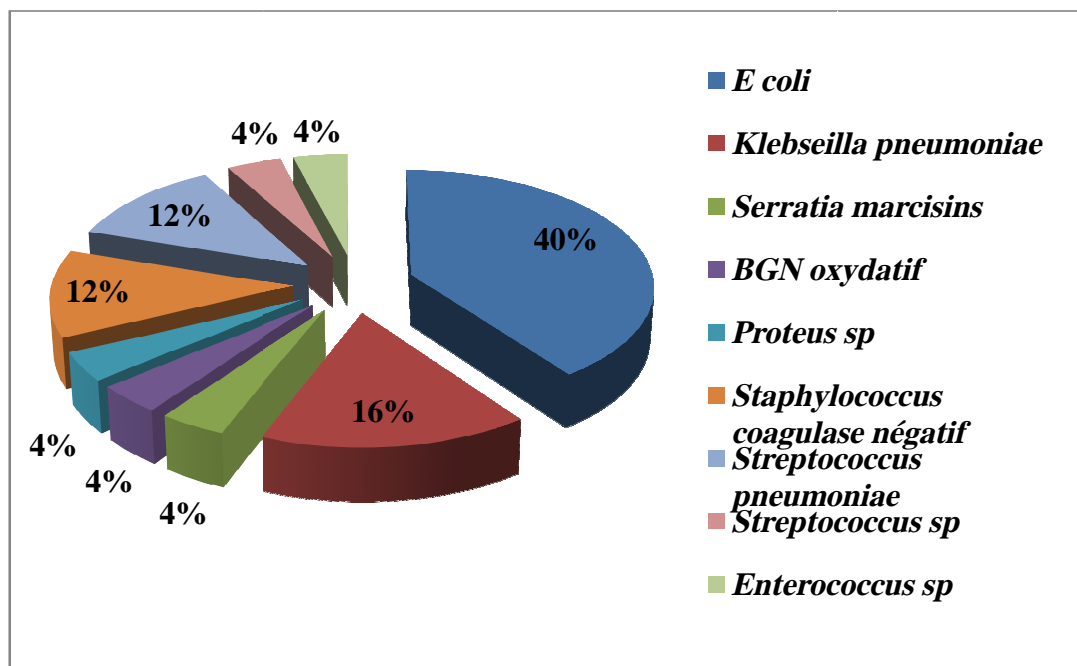


Figure V : Répartition des résultats selon les souches isolées

A travers les résultats obtenus à l'issue des diverses cultures bactériennes lancées, on remarque que les Entérobactéries viennent en tête des germes isolés avec une fréquence de 68% (17 sur les 25 souches isolées). Il est à noter que les différentes espèces isolées des bacilles à Gram négatif suivent une répartition variable, *E. coli* occupe la première place avec un taux de 40 % suivie par *Klebsiella pneumoniae* avec un pourcentage de 16 %, *Serratia marcescens*, les BGN oxydatifs et *Proteus sp* chacune présentent un pourcentage respectif de 4 %.

Pour les bactéries Gram positif, les streptocoques représentent un pourcentage de 16% (4 sur 25) : *Streptococcus pneumoniae* couvre 75% (3 sur 4) et *Streptococcus sp* occupe 25% (1 sur 4). Les staphylocoques qui sont représentées par *Staphylococcus* à coagulase négative représentent une fréquence de 12% (3 sur 25). Et finalement *Enterococcus sp* représente une fréquence de 4% (1 sur 25).

III.1.6. Profil de résistance et de sensibilité des germes isolés

III.1.6.1. Résultats de l'antibiogramme des souches d'*Escherichia coli*

Le taux de résistance chez *E. Coli* est représenté dans la figure VI.

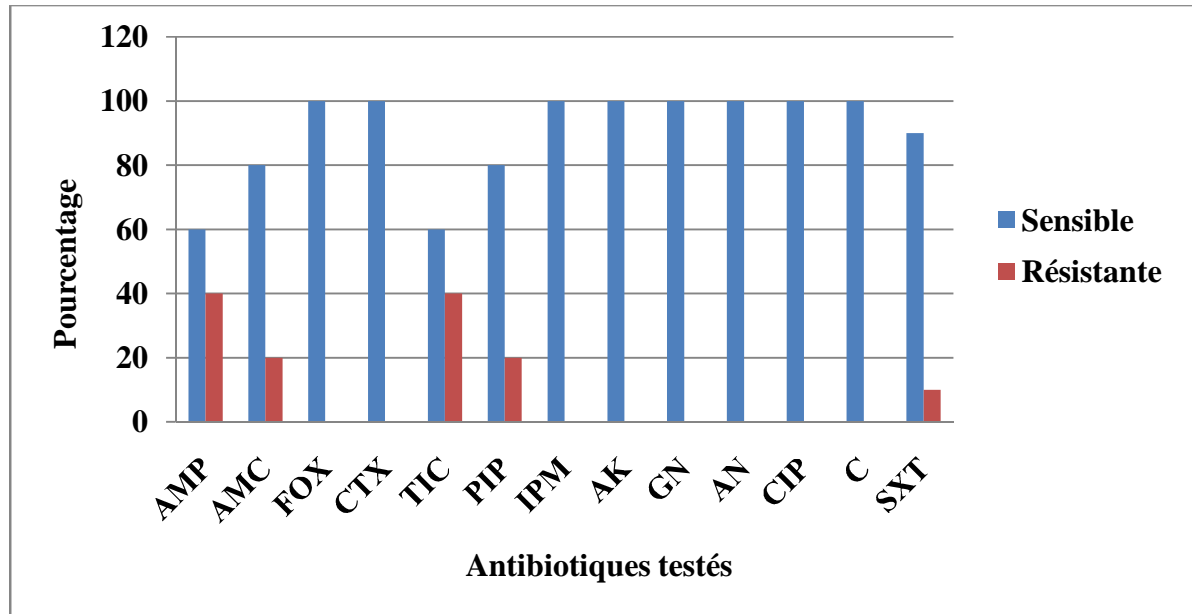


Figure VI : Profil de résistance d'*E. Coli* aux antibiotiques

Les souches qui ont été isolées dans les septicémies à *E. coli* se sont montrées sensibles à de nombreux antibiotiques : aux beta-lactamines de 60 à 100 % (60% à l'Ampicilline (AMP) et aux Ticarcilline (TIC), 80% à l'Amoxicilline (AMC) et Pipiracilline (PIP) et 100% à la Cefoxitine (FOX), la Cefotaxime (CTX) et l'Imipénème (IPM)). Par contre, nous avons noté une sensibilité à 100% des souches vis à vis des aminosides comme l'Amikacine (AK), la Gentamicine (GN) ; les phenicoles comme Chloramphénicol (C) et les quinolones comme la Ciprofloxacine (CIP). Pour l'association Triméthoprime + Sulfaméthazole (SXT), nous avons observé un taux de résistance de 10%.

III.1.6.2. Résultats de l'antibiogramme des souches de *Klebsiella pneumoniae*

Comme le montre la figure VII, les résultats de l'antibiorésistance de *Klebsiella pneumoniae* montrent que les souches se manifestent par un taux de résistance de 75% à l'Ampicilline (AMP) et Ticarcilline (TIC), 25% vis-à-vis des antibiotiques suivants : l'Amoxicilline+Acide clavulanique (AMC), Cefotaxime (CTX), Pipéracilline (PIP), Gentamicine (GN), Amikacine (AN) et Co-trimoxazole (SXT).

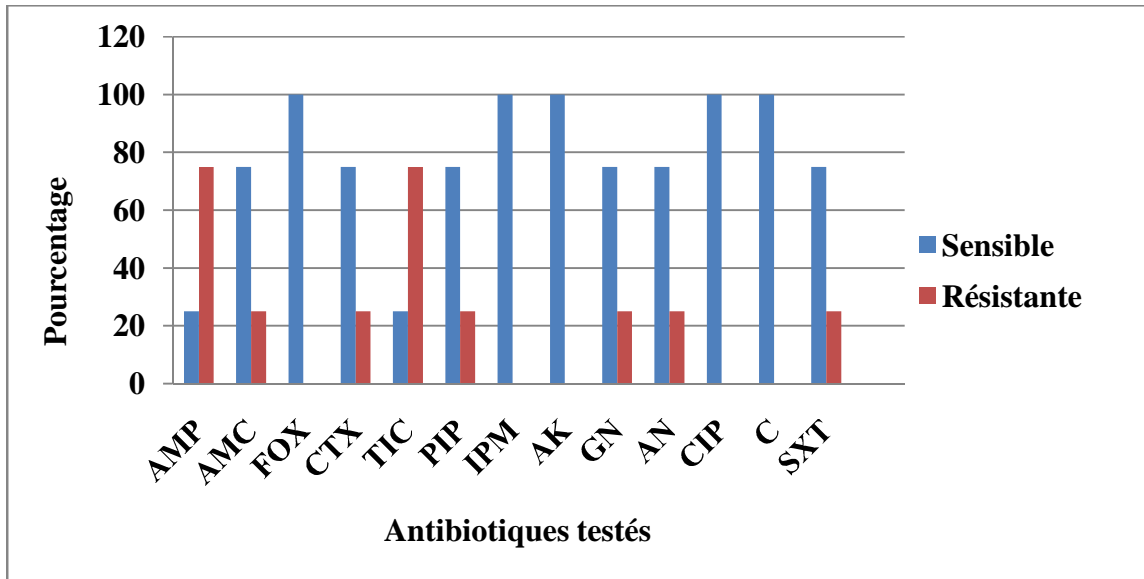


Figure VII : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

Les autres antibiotiques testés (la Cefoxitine FOX, l’Imipénème IPM, l’Amikacine AK, la Céfoxitine CIP et Chloramphénicol C) montrent une activité absolue sur ces souches (100% de sensibilité).

III.1.6.3. Résultats de l’antibiogramme des souches de *Serratia marcescens*

Les résultats générés quant à la résistance de *Serratia marcescens* vis à vis des antibiotiques testés, présentent un taux de résistance de 100% à l’Ampicilline (AMP) et l’Amoxicilline-acide clavulanique (AMC). Les autres antibiotiques testés sont actifs sur la souche isolée (sensible à 100%).

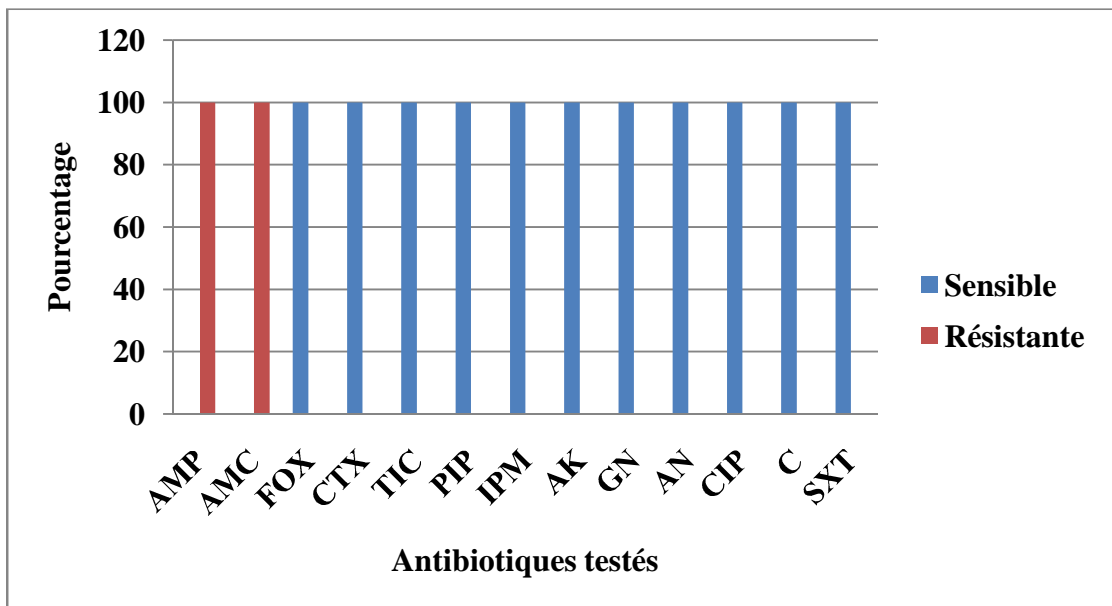


Figure VIII : Profil de résistance de *Serratia marcescens*

III.1.6.4. Résultats de l'antibiogramme des souches de *BGN oxydatifs*

Selon la figure IX, les résultats de l'antibiorésistance obtenus montrent que 100% des BGN oxydatifs isolés sont résistants à l'Ampicilline (AMP), la Cefoxitine (FOX), Cefotaxime (CTX) et Tobramycine (TM). Les autres antibiotiques testés gardent une bonne activité sur les souches isolées (sensibles à 100%).

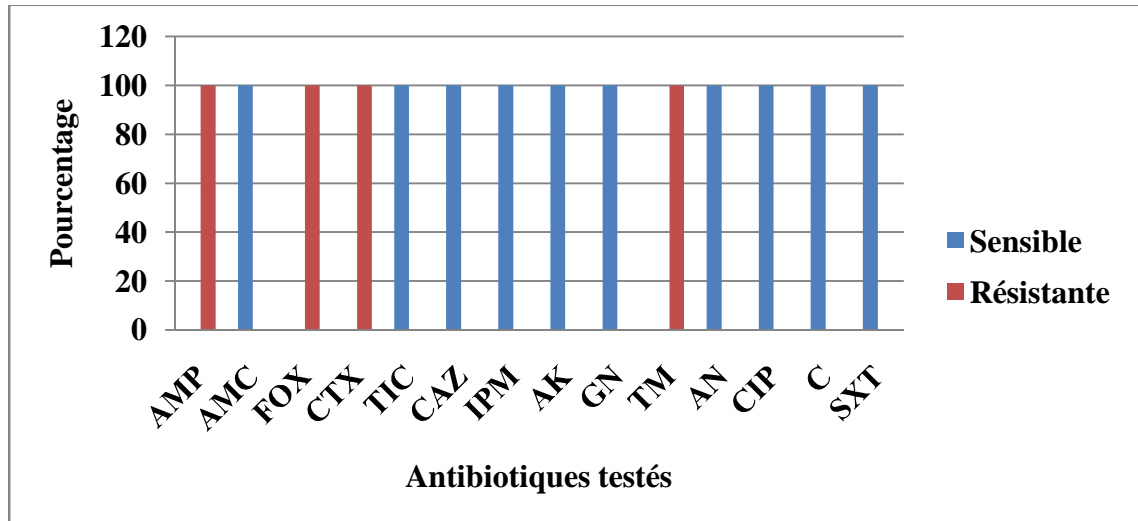


Figure IX: Profil de résistance des souches de *BGN oxydatifs*

Les autres antibiotiques testés gardent une bonne activité sur les souches isolées (sensibles à 100%).

III.1.6.5. Résultats de l'antibiogramme des souches de *Proteus sp*

Les résultats de l'antibiorésistance de *Proteus sp* représentés dans la figure X, montrent que les souches se manifestent par un taux de résistance de 100 % seulement à l'Ampicilline (AMP). Par ailleurs, nous remarquons une sensibilité totale par rapport aux restes des antibiotiques.

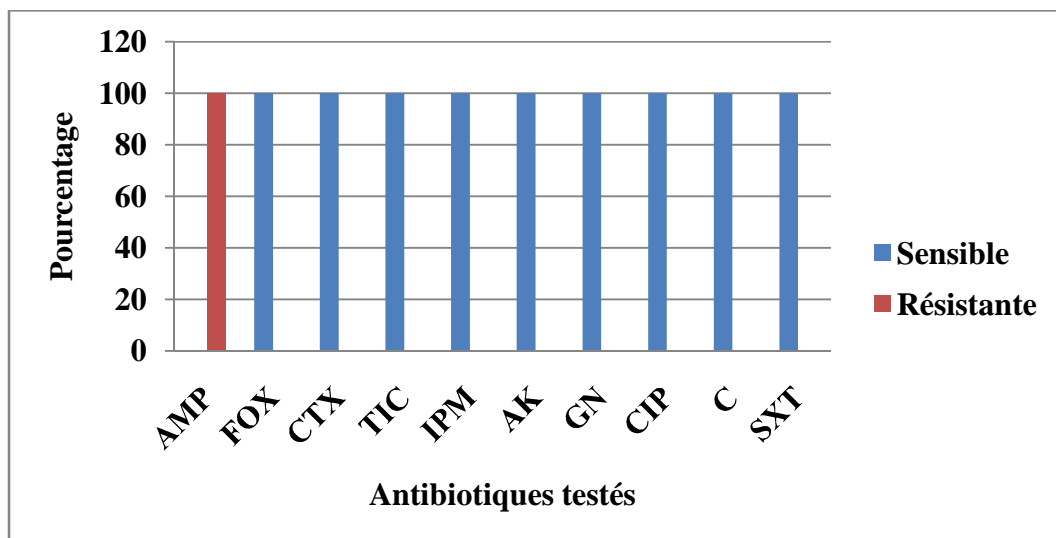


Figure X : Profil de résistance des souches de *Proteus sp*

III.1.6.6. Résultats de l'antibiogramme des souches de *Staphylococcus* à coagulase négative

D'après l'histogramme représenté par la figure XI, on constate que 66,66% des souches isolées sont résistantes à l'Erythromycine (E) et l'Oxacilline (OX), et 33,34% des souches résistent à la Co-trimoxazole (SXT) et la Tétracycline (TE).

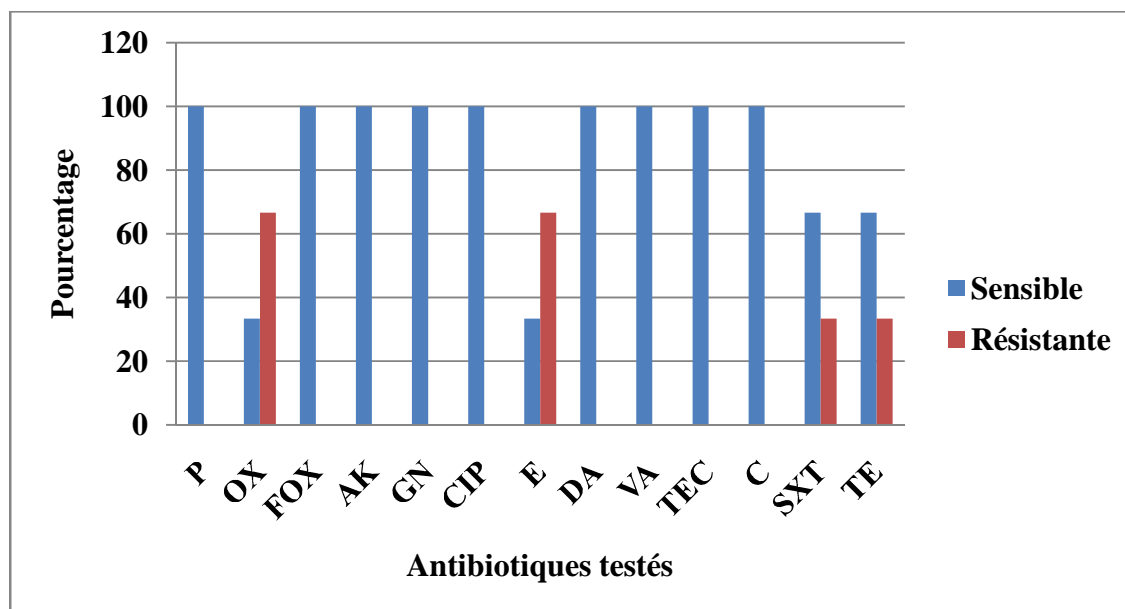


Figure XI : Profil de résistance des souches de *Staphylococcus* à coagulase négative

Les autres antibiotiques testés gardent une bonne activité sur les souches isolées (sensibles à 100%).

III.1.6.7. Résultats de l'antibiogramme des souches de *Streptococcus pneumoniae* :

D'après la figure XII, On observe une grande sensibilité à l'égard de tous les antibiotiques testés (100%), donc ce sont des souches sauvages.

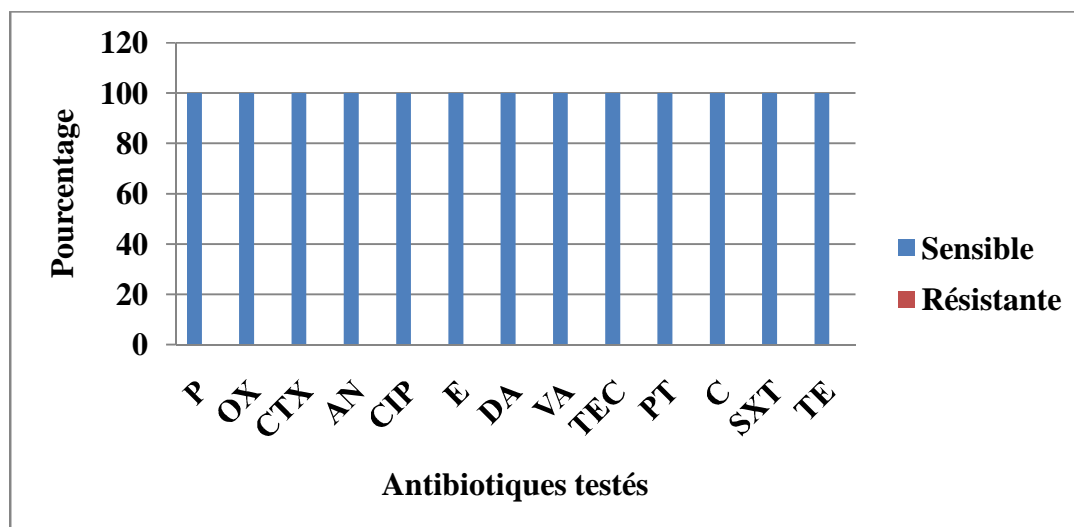


Figure XII : Profil de résistance des souches de *Streptococcus pneumoniae*

III.1.6.8. Résultats de l'antibiogramme des souches de *Streptococcus sp*

D'après la figure, On observe une totale sensibilité à l'égard des différents antibiotiques testés (100%), ce qui atteste le caractère sauvage de ses souches.

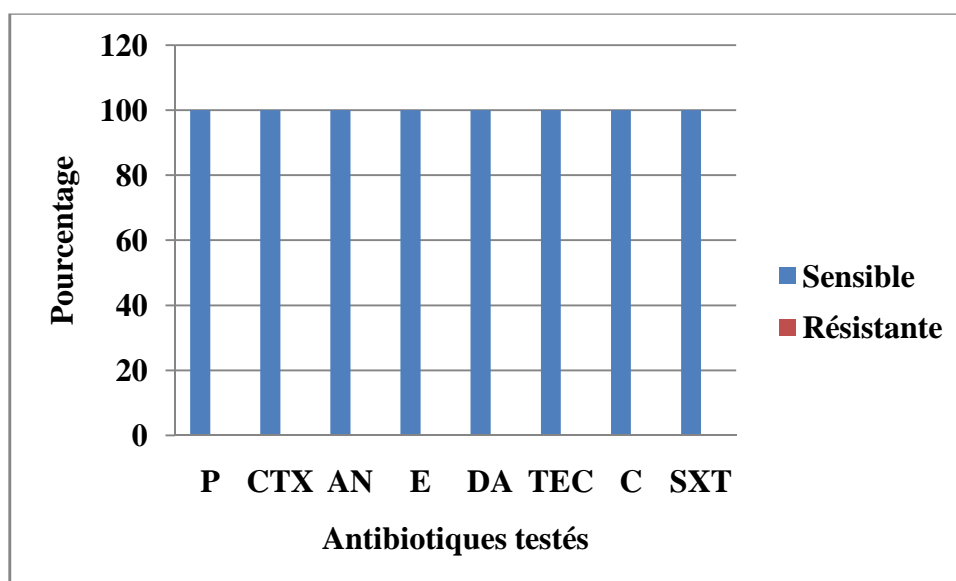


Figure XIII : Profil de résistance des souches de *Streptococcus sp*

III.1.6.9. Résultats de l'antibiogramme des souches d'*Enterococcus sp*

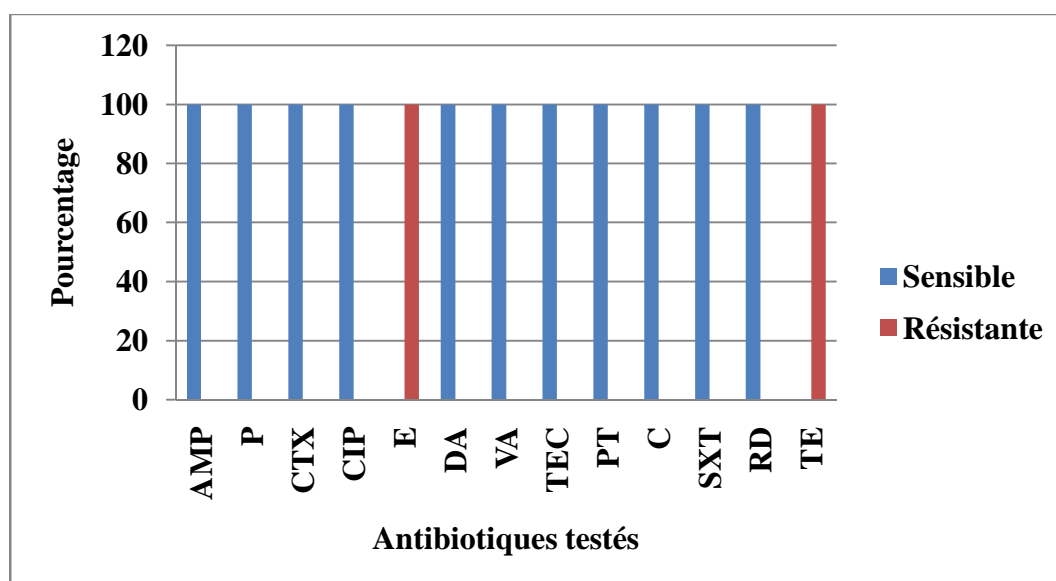


Figure XIV : Profil de résistance des souches d'*Enterococcus sp*

Les résultats que nous n'avons pas manqué de générer quant au comportement d'*Enterococcus sp* vis à vis du panel d'antibiotiques testés, révèlent un taux de résistance de l'ordre de 100% à la tétracycline (TE) et à l'Erythromycine (E). Le reste des antibiotiques s'avèrent actifs sur les souches isolées.

III.2.Discussion

D'après les résultats générés à l'issue des investigations bactériologiques que nous avons menés, nous constatons que sur l'ensemble des 571 hémocultures réceptionnées des trois services ciblés, 50 se sont révélées positives avec une fréquence de 8,75%.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Carpentier et *al.*, (2001) au service de santé des Armées Laveran de Marseille en France, qui ont conclu que, la fréquence globale des septicémies varie de 5,5 à 19,1% ; et selon Soraa et *al.*, (2011) 19,7% ont été considérées positives.

Un taux important des hémocultures (89,66%) a été considéré négatif, cette fréquence se rapproche à celle obtenue par Soraa et *al.*, (2011) qui ont conclu que 67,5% des hémocultures étaient négatives.

Cette fréquence élevée pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs :

- La cause de la fièvre n'est pas infectieuse (c'est une allergie), elle pourrait être parasitaire ou virale (les virus ne peuvent pas être isolés sur les flacons d'hémocultures).
- Absence de germes.
- Cependant ces hémocultures peuvent être faussement négatives pour plusieurs raisons :
 - Prise préalable d'antibiotique, ce qui entraîne l'inhibition bactérienne.
 - Le prélèvement est fait en dehors des pics thermiques où la décharge bactérienne n'est pas importante dans le sang (prélèvement retardé).
 - Quantité de sang prélevé non respectée.
 - Ensemencement insuffisant des bouillons.
 - Germes à croissance lente ou des germes qui ont des exigences de cultures très particulières tels que les anaérobies strictes qui nécessitent des milieux et des conditions d'incubation spécifiques.

Nos résultats montrent un faible taux de contamination des hémocultures qui est de 1,57%, ils se traduisent par la présence de deux à trois types de germes différents dans le même flacon, ou bien par la présence des germes de l'environnement, ou alors des germes saprophytes de la peau comme, *Bacillus sp*, *Micrococcus sp*, les Staphylocoques blancs, les contaminations pourraient être occasionnées par une mauvaise manipulation au moment des prélèvements (Absence de lavage antiseptique des mains, port de gants non stériles,

contamination de la solution désinfectante utilisée pour la préparation cutanée et projection oro-pharyngées du soignant).

Les échantillons analysés durant notre période d'étude, provenaient de divers services, le taux de positivité est plus prononcé au niveau du service des maladies infectieuses femmes avec un taux de 64%, suivi par le service des maladies infectieuses hommes avec un taux de 20%, et en bas de liste vient le service des maladies infectieuses pédiatriques avec un taux de 16%.

Ces services reçoivent souvent des patients qui sont atteints des diverses maladies, pouvant se développer en manifestations septicémiques plus ou moins graves ou mortelles en fonction de l'état des patients. Tous ces résultats sont liés à un certain nombre de facteurs favorisant la complication et la gravité de la maladie (âges extrêmes, nombre des pathologies associées, le site de l'infection primaire, la virulence et la résistance du micro-organisme).

Nous avons remarqué que la fréquence de positivité chez le sexe féminin, qui est de 80% est nettement supérieur à celle du sexe masculin (20%). Par ailleurs, le professeur Soude (2005), qui a réalisé son étude à l'Hôpital Universitaire de Mali, n'ayant pas relevé une prédominance relative au sexe et n'ayant tout de même pas pu établir une corrélation entre les septicémies et le sexe. Par contre Baudat (2002) a mis en exergue la prédominance de cette pathologie chez le sexe masculin avec un taux relatif de 56,5% du collectif étudié.

Nous remarquons que la tranche d'âge la plus touchée chez les deux sexes est celle des sujets dont l'âge est >50 ans avec un taux de positivité de 60% chez le sexe masculin et de 35% chez le sexe féminin, cette fréquence pourrait s'argumenter par la vulnérabilité des sujets (manifestation de diverses pathologies liées à l'âge), vu qu'à cette période de l'âge que les hospitalisations les plus récurrentes sont enregistrées, ce résultat concorde avec celui de Baudat (2002), qui a conclu que la tranche d'âge la plus touchée est celle des sujets dont l'âge est >50 ans.

Les résultats obtenus quant à la balance des germes isolés révèlent une prédominance des bactéries à Gram négatif avec un taux très élevé de 68% (17 sur les 25 souches isolées) par rapport au cocci à Gram positif qui représentent 32%, ces résultats concordent avec ceux obtenus par Auffray (2006) affirmant que les septicémies à bacilles à Gram négatif (BGN) représentent jusqu'à 60% des septicémies contractées à l'hôpital. Nos résultats s'affirment et

s'appuient également par ceux générés à travers les travaux dirigés par Pécher (2002), attestant la prédominance des BGN lors des septicémies avec des fréquences d'occurrence de 65% suivi par les bactéries à Gram+ avec un taux de 30%. Cet ordre de distribution des germes est dû d'une part à leur fréquence de distribution dans les milieux hospitaliers et d'autre part à leur comportement vis-à-vis des antibiotiques.

Les Entérobactéries représentent 100% des BGN isolés, avec une répartition variable des espèces, *E. coli* occupe la première place avec un taux de 40 % suivi par *Klebsella pneumoniae* avec un pourcentage de 16 %, *Serratia marcescens* et *Proteus sp* chacune présentent un pourcentage de 4 % conjointement avec les BGN oxydatifs.

La prédominance d'*E. coli* est étayée par le fait qu'elle soit :

- Une espèce ubiquitaire, hôte normale de l'intestin, et elle peut être également trouvée au niveau des muqueuses chez l'homme.
- Un germe facile à diagnostiquer.

Dans le groupe des cocci à Gram positif, les streptocoques et les staphylocoques occupent la première place avec une fréquence conjointe de 12%. La fréquence d'occurrence de *Streptococcus pneumoniae* est de 66,66% alors que celle de *Streptococcus sp*, elle est de l'ordre de 33,34%, en revanche, Baudat (2002) a pu isolé *S. pneumoniae* à la fréquence de 7%. Les staphylocoques qui sont représentées par *Staphylococcus à coagulase négative* représentent 12%, ce résultat concorde avec celui obtenu par Baudat (2002) qui a conclu que les staphylocoques à coagulase négative représentaient 10%. *Enterococcus sp* représente une fréquence de 4% de l'ensemble des Gram+ isolées.

L'étude de l'antibiorésistance des différentes espèces isolées, a révélé des comportements variables (sensibilité ou résistance) selon l'espèce étudiée et l'antibiotique testé. Nous avons remarqué que *E. coli* présente une résistance aux β -lactamines, 20% des souches isolées sont résistantes à l'AMC et PIP, 40% résistent aux TIC et AMP et 10% résistent au SXT. Les autres antibiotiques testés demeurent actifs sur ces souches.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Ki-Zerbo et al. (1996) qui ont montré que les souches d'*Escherichia coli* sont globalement sensibles aux céphalosporines, aminosides et polypeptides. *E. coli* est naturellement sensible aux antibiotiques actifs sur les bactéries à

Gram négatif. La résistance d'*E.coli* aux bêta-lactamines se traduit essentiellement par la production des bêta-lactamases plasmidiques inactivant l'action de ces derniers.

Concernant le profil de résistance de *K. pneumoniae*, on remarque que la fréquence de résistance à l'association Amoxicilline +Acide clavulanique est de 25%. Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus par Ki-Zerbo et *al.* (1996) qui attestent que *K. pneumoniae* est naturellement résistante à certaines β -lactamines, résistance acquise à travers la production d'une beta-lactamase à spectre élargi (BLSE) dérivé de l'enzyme naturelle.

Par ailleurs, les staphylocoques à coagulase négative ont montré une résistance de 66,66% à l'Erythromycine (E) et à l'Oxacilline (OX), 33,34% des souches sont résistantes à la Co-trimoxazole (SXT) et à la Tétracycline (TE). Les autres antibiotiques testés révèlent une bonne activité sur les souches isolées (sensibles à 100%), résultats comparables à ceux obtenus par Ki-Zerbo et *al.* (1996).

Les *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus sp* sont sensibles à tous les antibiotiques testés (100%), il s'avère ainsi qu'il s'agit de souches sauvages, contrairement aux résultats générés par Ki-Zerbo et *al.* (1996) qui ont noté une très faible sensibilité de ces souches à l'égard de la pénicilline G (8,69%).

Conclusion

Une septicémie se qualifie par la présence de germes pathogènes dans le sang qui les dissémine dans tout l'organisme donnant des allures d'infection généralisée, ces germes peuvent provenir d'un foyer infectieux localisé comme une carie dentaire, une infection urinaire, utérine, pulmonaire ou des infections suppurées (pus) ...

Nous avons remarqué durant notre étude que, l'hémoculture est l'outil puissant qui permet de poser le diagnostic de septicémie, il est très demandé par le clinicien dès qu'une fièvre se manifeste chez une personne hospitalisée.

En effet, pour mener à bien le traitement des septicémies, seul l'isolement, l'identification et enfin les tests de sensibilité des germes isolés permettront d'adapter l'antibiothérapie de manière adéquate.

Les hémocultures sur lesquelles nous avons réalisé notre étude sont issues de patients hospitalisés, couvrant les deux sexes ainsi que des tranches d'âges variables, des trois services ciblés étant : service des maladies infectieuses hommes, femmes et pédiatriques.

Les résultats obtenus durant notre étude sur les 571 hémocultures, ont permis d'identifier les germes pathogènes. Les bacilles à Gram négatif viennent en tête des isollements avec un taux de 68% et 32% pour les cocci à Gram positif. Sur les 25 bactéries isolées, l'espèce bactérienne la plus fréquente est *Escherichia coli* avec un taux de 40%.

Le nombre des hémocultures positives chez le sexe féminin est plus élevé, avec un pourcentage de 80%, par rapport au nombre positif chez le sexe masculin avec la fréquence de 20%.

Les résultats obtenus montrent que les souches bactériennes isolées sont sensibles à 100% à la majorité des antibiotiques testés, et pour confirmer l'identité de la ou des bactéries, qui sont soupçonner lors d'un diagnostic, on doit effectuer la culture de l'échantillon puis l'antibiogramme pour s'assurer du choix de l'antibiotique efficace.

La cause majeure des septicémies est due au manque d'hygiène et aux malades qui sont un terrain immunodéprimé. La prévention reste le seul et le meilleur moyen de lutte contre les infections, en l'occurrence la septicémie.

Recommandations

Nous recommandons certains points visant à améliorer les conditions requises pour établir un bon diagnostic bactériologique dans le cas des septicémies :

- 1) Mobiliser un personnel spécialiste maîtrisant les bonnes pratiques de prélèvement jumelés aux bonnes pratiques de laboratoire (subcultures, identification ...) dans un but de diminuer les contaminations et générer des résultats fiables et significatifs.
- 2) Recommander un programme d'hygiène strict, rigoureux et efficace dans tous les services de l'hôpital, impliquant l'hygiène personnel du collectif travailleur et éventuelle celle des locaux recevant les malades.
- 3) Adopter des techniques de subculture plus performantes telles que l'emploi de l'automate.
- 4) Consolider l'analyse des hémocultures par des examens complémentaires réalisés au niveau de la porte d'entrée et du foyer secondaire.
- 5) Eviter l'emploi des antibiotiques sans surveillance médicale.
- 6) Explorer de nouvelles pistes thérapeutiques alternatives de l'antibiothérapie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ansart, S., Gané, M. (2008).** Fièvre thyphoïde. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris)*, 8-019-A-10, 17-35.
- Avril, J. L., Dabernat, F., Denis, F., Montiel, H. (ed). (2000).** *Bactériologie clinique*, Paris : édition ellipses, 3^{ème} édition, 511p.
- Avril, J. L., Faucher, J. L. (ed). (2002).** *Bactériologie générale et médicale*, Paris : édition ellipses, 365p.
- Auffray, J. P. (2006).** Septicémies. *D.C.E.M2., Module n° 7*, 3-14.
- Batard, E., Elkouri, D., Potel, G. (2007).** Infection à Staphylocoques : aspect clinique et bactériologique. *Encycl. Méd. Chir.*, 8-007-A-10, 60-89.
- Baudat, V. (2002).** Hémocultures positives à l'Hôpital Cantonal de Fribourg, 1997-1998 : signification clinique, microbiologie, épidémiologie, traitement et pronostic, *Lausanne, No. Méd.*, 10248, 4-25.
- Beraud, J. (ed). (2001).** *Le technicien d'analyse biologiques : guide théorique et pratique*, Paris : Ed. Lavoisier, 2^{ème} édition, 1118p.
- Berche, P., Guillard, J. L., Simonet, M. (ed). (1991).** *Bactériologie (les bactéries des infections humaines)*, Paris :Science Flammarion, 286p.
- Berche, P., Kyal, S., Nassif, X., Poyart, C. (2002).** Bactériologie général, Faculté de Médecine Nedicine-Necker-Enfants malade, *P.C.E.M.*, 2, 3-89.
- Bergone, E., Bérizin, A. (1998).** Antibiotiques antibactériennes. *Revue des maladies infectieuses*, n°376, 9-97.
- Bernard, J., Reynaud, A. (ed). (2003).** *Entérobactéries (systématiques et méthodes de diagnostic)*, Paris : édition TEC et DOC, 356p.
- Bonnet, J. M., Gandois, A., Marchon, B. (2002).** Infection à Streptocoques. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris)*, 8-009-A-10, 18-25.

Bosseray, A., Micoud, M. (2000). Infections nosocomiales. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris)*, 8-001-F-10, 10-18.

Brenner, J. (1984). Entérobactériaceae, Manual of systematic bacteriology. *Williams and Wilkins, Battimorsvol 1*, 5-16.

Brison, P., Pierre, C., Muzellzec, Y., Menard, G. (2001). Infection à Pneumocoque. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris)*, 8-012-A-10, 7-15.

Boulahbal, F. (ed). (2006). *Microbiologie*, Alger : 5^{ème} édition (OPU), 173p.

Buys, H. (2006). Les antibiotiques. Faculté de médecine Montpellier-Nîmes, 1-8.

Carpentier, J. P., Roland, P., Morillon, M. (2001). Bactériémie. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris)*, 8-003-R-10.

Christian, P. (ed). (1999). *Maladies infectieuses*, Paris : Volume 1, Groupe Liaison S.A., 2-7040-1045-5, 406p.

Cohen, A. (ed). (2002). *Coeur et médecine interne*, Paris : De Boeck/Estem, 2309p.

Dellaras, C. (ed). (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse*, Paris : édition TEC et DOC, 476p.

Denis, F., Marie-Cécile, P., Christian, M., Edouard, B., Roland, Q. (ed). (2007). *Bactériologie médicale, technique usuelle*, Paris : édition Masson, 573p.

Eberlin, T. (ed). (1997). *Les infections microbiennes : agents infectieux*, Paris : Ed. Nathan, 128p.

Faucher, J. L. (ed). (1997). *Bactériofiches, technique en bactériologie clinique*, Paris : édition Ellipses Marketing S. A., 174p.

Faucher, J. L., Avril, J., Loup, A. (ed). (2002). *Bactériologie générale et médicale*, Paris : édition Ellipse Marketing S.A., 365p.

Françoise, G., Caroline, B., Guy, L., Évelyne, V. (ed). (2002). *Microbiologie et qualité dans les Industries agroalimentaires*, Bordeaux : Rueil-Malmaison, Doin, 153p.

François, P. (ed). (2003). *Maladies infectieuses*, Paris : édition Heures De France, 48p.

Kamoun, P. (ed). (2002). *Guide des examens de laboratoire*, Paris : édition Médecine-Saine Flammarion, 4^{ème} édition, 1438p.

Khiati, M. (ed). (1998). *Guide des maladies infectieuses et parasitaires*, Alger : Office des Publications Universitaires, 256p.

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 fanndakar : bilan de trois année du laboratoire de bactériologie. *Médecine d'Afrique Noire*, n°43, 2-8.

Kohler, C. (2010). Les cellules sanguines, Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC). Université Médicale Virtuelle Francophone, 1-16.

L'afer, O. (ed). (1999). *Fiche technique d'identification des Haemophilussp.* Institut Pasteur d'Algérie, 543p.

Larpent, J. P. (ed). (2000). *Introduction à la nouvelle classification bactérienne : les principaux groupes bactériens*, Paris : édition TEC et DOC / Lavoisier, 280p.

Lionel, H. (ed). (2008). *Infectiologie, sida et soins infirmiers*, Paris : éditions Lamarre, 268p.

Manuila, A., Manuila, L., Pierre, L., Monique, N., Papo, T. (ed). (2004). *Dictionnaire médical Manuila*, Paris : édition Masson, 676p.

Marie-Claire, G. (ed). (2006). *Fiches techniques de soins*, Paris : édition Lamarre, 276p.

Maryse, A., Danielle C., Jérôme, G., Christophe, P. (ed). (2009). *Bactériologie et virologie pratique*, 288p.

Meyer, A., Deiana, J., Bernard, A. (ed). (2004). *Cours de microbiologie générale: avec problèmes et exercices corrigés*, 2^{ème} édition, Doin, 430p.

Michel, V. (ed). (2007). *Infectiologie*, Paris : Wolters Kluwer, 1036p.

Nauciel, C. (ed). (2000). *Bactériologie médicale*, Paris : édition Masson, 275p.

Nelly, M., Jean-Luc, B., Claude, R. (ed). (1982). *Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimiques des bactéries*, Paris : 3^{ème} édition Noin, 482p.

Orth , G., Sansonetti, P. (2006). La maîtrise des maladies infectieuses. *E.D.P. Sciences*, 17, 10-60.

Patrice, B., Collectif, D. V. (ed). (2002). *Maladies infectieuses*, 384p.

Pécher, J. C., Acar, J., Armongaud, M., Grenier, B., Moellering, R., Sonde, M., Zinner, S., Waldvogel, F. (ed). (1991). *Les infections*, Paris : 3^{ème} édition S. A., 798p.

Pierre, A., Marie, C. (ed). (2003). *Bactériologie*, Paris : DCEM₁ université de Paris Faculté de Médecine-sciences de bactériologie, 122p.

Pilet, C. H., Bourdon, J. L. (ed). (1979). *Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne*, Paris : 2^{ème} édition Doin, 437p.

Pilly, E. (ed). (1997). *Maladies infectieuses*, Paris : édition La Chapelle Montligeon, 606p.

Pitout, J. D., Hanson, N. D., Church, D. L., Laupland, K. B. (2004). Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum β s-lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M Genes. *Clin Infect*, 3817, 36-41.

Rahal K., Benslimani A., Tali-Maamar H., Missoum M. F. K., Aboun A., Ammari H. (ed). (2008). *Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS*. Algérie : 5^{ème} édition, p108.

Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A. (ed). (2003). *Microbiologie*, 2^{ème} édition, 1137p.

Singleton, P. (ed). (2002). *Bactériologie*, 4^{ème} édition Dunod, 415p.

Soraa, N., Zougaghi L., Zahlane, K., Admou, B., Haouach, K., Kachach, M., Chabaa, L. (2011). Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémocultures dans un centre hôpitalo- universitaire marocain. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, Vol.5, N°2, 65-81.

Soude, A. (2005). Bactéries isolées des hémocultures au laboratoire, du centre national hospitalier et universitaire Hubert Koutoukou, maga de cotonou, PFE pour l'obtention d'un diplôme d'étude supérieur du grade de docteur en pharmacie à l'hôpital universitaire de Mali, 1-38.

Tortora, F.C., Gerard, J., Berdell, R., Christine, L. (ed). (2003). *Introduction à la microbiologie*, Paris : 2^{ème} édition ERPI, 950p.

Weinstein, M. P., Reller, L. B., Murphy, J. R., Lichtenstein, K. A. (1983). The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. *I. Laboratory and epidemiologic observations*, 5, 35-53.

Yala, D., Merad, A., Merad, M. D., Oura, K. (2001). Résistance aux antibiotiques. *Revue de Médecine du Magreb*, n°91, 13-14.

Yamashita, S. K., Louie, M., Simor, A. E., Rachlis, A. (2000). Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit, *Can. J. Infect*, 11,107-111.

I. Matériel non biologique :

Nous avons réalisé notre travail grâce aux matériels et équipement suivants :

 **Verreries :**

 <p>Boite de Pétri</p>	 <p>Tube à essai</p>	 <p>Tube sec</p>
 <p>Seringue</p>	 <p>Pipette Pasteur stérile</p>	 <p>Lames et lamelles</p>
 <p>Ecouvillon stérile</p>	 <p>Pince Metallique</p>	 <p>Portoir</p>

 Appareillage :



Etuve à 37°C



Microscope optique



Bec Bunsen



Centrifugeuse



Réfrigérateur



Jarre



Mac farland



Agitateur



Pied à coulisse



Figure XV : Flacon d'hémoculture biochimique



Figure XVI : Mini-galerie



Figure XVII : La galerie API 20 E

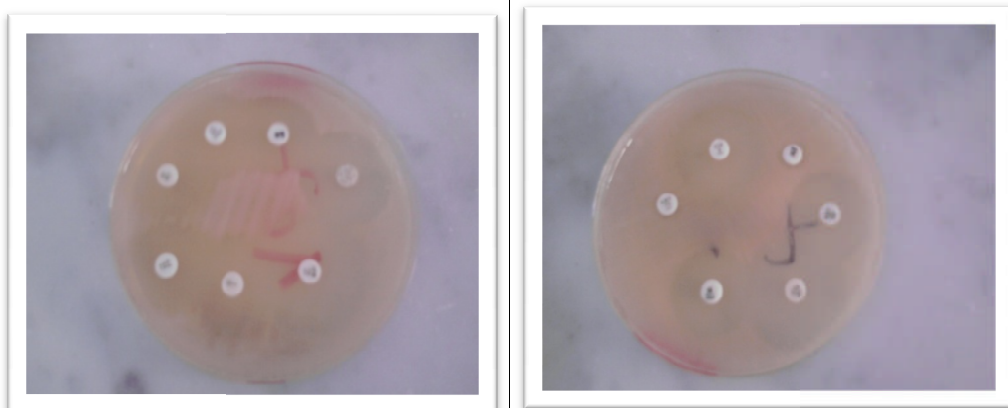



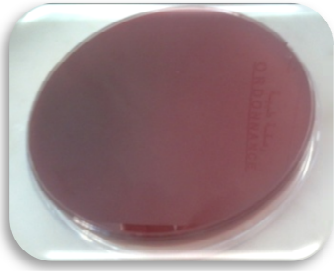




Figure XVIII : Antibiogramme sur Gélose Mueller-Hinton

II. Composition des milieux de culture :

Tableau IX : Composition des milieux de culture

Milieu	Composition	Utilisation
<p><u>Gélose Nutritive</u></p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Extrait de viande 1 -Extrait de levure 2 -Peptone 5 -Chlorure de sodium 5 -Agar-agar 15 -pH 7,4 	<p>Milieu universel pour la culture des germes peu exigeants dans les eaux, les boissons et les produits biologiques.</p>
<p><u>Gélose Mueller-Hinton</u></p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Infusion de viande de bœuf 300 -Hydrolysate de caséine ... 17,5 -Amidon 1,5 -Gélose 17 -pH 7,4 	<p>Milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes.</p>
<p><u>Gélose Hektoen</u></p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Protéose peptone 12 -Extrait de levure 3 -Chlorure de sodium 5 -Thiosulfate de 5 -Sels biliaires 9 -Citrate de fer ammoniacal 1,5 -Salicine 2 -Lactose 12 	<p>Isolement des Entérobactéries</p>

	-Saccharose12 -Fuchsine acide 0,1 -Bleu de bromothymol .. 0,065 -Agar14 -pH7,5	
<u>Gélose au sang frais</u> 	-Mueller Hinton.....90% -Sang de mouton.....5% -pH.....7,3	Isolement des germes exigeants
<u>Gélose au sang cuit</u> 	-Poly-peptone15 -Amidon de maïs1 -Phosphate dipotassique..... 4 -Chlorure de sodium 1 -Hémoglobine10 -Gélose10 -pH.....7,2	Isolement des germes exigeants
<u>Gélose Chapman</u> 	-Peptone10 -Extrait de viande de bœuf 1.0 -Chlorure de sodium 75 -Mannitol 10 -Rouge de phénol 0.025 -Agar-agar..... 15 -Eau distillée 1 litre -pH7,4	Milieu sélectif pour l'isolement et l'enrichissement du staphylocoque pathogène dans les produits biologiques en microbiologie médicale.

III. Les milieux liquides :

- **Milieu citrate de Simmons :**

Peptone pancréatique de viande	20
Sulfate de magnésium	0.2
Phosphate d'ammonium	01
Phosphate Di potassique que $PO_4 H_2 (NH_4)$	02
Citrate trisodique	02
Bleu de bromothymol	08ml
Agar	15
Eau distillée	1000ml

Ph 7

- **Milieu Mannitol mobilité :**

Peptone pancréatique de viande	20
Mannitol	02
Nitrate de potassium	01
Agar	04

Ph= 8,1-8,2

- **Milieu triple sugar iron (TSI) :**

Extrait de viande de boeuf.	03
Extrait de levure	3
Peptone	20
Chlorure de sodium.	5
Citrate ferrique	1
Thiosulfate de sodium	3
Lactose.	10
Glucose	10
Saccharose	1
Rouge de phénol.	0.025
Agar	12

- **Milieu urée-indole :**

L-tryptophane	03
Phosphate mono potassique	1
Phosphate bi potassique	5
Chlorure de sodium.	20
Urée	20
Alcool 95°	10
Eau distillée	1000ml
Solution de rouge de phénol à 1%	2,5ml

pH = 6,7

- **Milieu ODC :**
 - Ornithine 5
 - Extrait de levure 3
 - Chlorure de sodium 5
 - Glucose 1
 - Bromo gresol pourpe 1ml
 - Eau distillée 1L

pH= 6
- **Milieu ADH :**
 - Arginine 5
 - Extrait de levure 3
 - Chlorure de sodium 5
 - Bromo gresol pourpe 1ml
 - Eau distillée 1L

pH= 6
- **Milieu LDC :**
 - Lysine 5
 - Extrait de levure 3
 - Chlorure de sodium 5
 - Glucose 1
 - Bromo gresol pourpe 1ml
 - Eau distillée 1L

pH= 6

IV. Réactifs :

- Kovacs** : Recherche d'indole
- TDA** : Recherche de TDA
- VPI et VPII** : Recherche de l'acétoïne
- NRI et NRII** : Recherche de nitrate
- RM** : Recherche d'RM.

V. Solutions :

- Bleu de méthylène
- Violet de gentiane
- Lugol
- Fuschine
- Alcool à 75 %
- Huile de vaseline
- Sérum humain
- Eau oxygénée
- Eau distillé stérile
- Eau physiologique.

VI. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour quelques bactéries :

Tableau X : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Entérobactéries*
(Performance standards for antimicrobial susceptibility testing)

Conditions du test :

- **Milieu :** Gélose Mueller-Hinton
- **Inoculum :** Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland
- **Incubation :** 35°C, atmosphère ordinaire.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>Beta-lactamines :</u>				
Ampicilline	10µg	≤13	14-16	≥17
Amoxicilline/ac. Clavulanique	20/10µg	≤13	14-17	≥18
Céfazoline	30µg	≤14	15-17	≥18
Céfalotine	30µg	≤14	15-17	≥18
Céfoxitine	30µg	≤14	15-17	≥18
Céfotaxime	30µg	≤14	15-22	≥23
Ceftriaxone	30µg	≤13	14-20	≥21
Imipenem	10µg	≤13	14-15	≥16
<u>Aminosides :</u>				
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15
<u>Quinolones :</u>				
Acide nalidixique	30µg	≤13	14-18	≥19
Ciprofloxacine	5µg	≤12	16-20	≥21
Ofloxacine	5µg	≤15	13-15	≥16
<u>Autres :</u>				
Chloramphenicol				
Furanes	30µg	≤12	13-17	≥18
Fosfomycine	300µg	≤14	15-16	≥17
Trimethoprim + sulfamethoxazole	200µg 1.25/23.75µg	≤12 ≤10	13-15 11-15	≥16 ≥16

(Rahal et al., 2008)

Tableau XI : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus sp*
(Performance standards for antimicrobial susceptibility testing)

Conditions du test :

- **Milieu :** Gélose Mueller-Hinton
- **Inoculum :** Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland
- **Incubation :** 35°C, atmosphère ordinaire.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>Beta-lactamines :</u>				
Pénicilline	10 UI	≤28	---	≥29
Oxacilline	1µg	≤10	11-12	≥13
- <i>S. aureus</i>		≤17	---	≥18
- Staphylocoque à coagulase négative				
Cefoxitine				
- <i>S. aureus</i> et <i>S. lugdunensis</i>	µg30	≤19	---	≥20
- <i>S.</i> à coagulase négative	µg	≤24	---	≥25
<u>Aminosides :</u>				
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15
Kanamycine	30µg	≤13	14-17	≥18
<u>Macrolides :</u>				
Erythromycine	15µg	≤13	14-22	≥23
Clindamycine	2µg	≤14	15-20	≥21
<u>Glycopeptides :</u>				
Vancomycine	30µg	---	---	≥15
Teicoplanine	30µg	≤10	11-13	≥14
<u>Quinolones :</u>				
Ofloxacine	5µg	≤14	15-17	≥18
<u>Autres :</u>				
Trimethoprime + sulfamethoxazole	1.25/23.75µg	≤10	11-15	≥16
Rifampicine	5µg	≤16	17-19	≥20
Tétracycline	30µg	≤14	15-18	≥19
Chloramphenicol	30µg	≤12	13-17	≥18

(Rahal et al., 2008)

Tableau XII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Streptococcus pneumoniae* (Performance standards for antimicrobial susceptibility testing)

Conditions du test :

- **Milieu** : Gélose Mueller-Hinton additionnée de 5% de sang de Mouton
- **Inoculum** : Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland
- **Incubation** : 35°C, 5% CO₂ ; 20 à 24h.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>Beta-lactamines</u> : Pénicilline	1µg	---	---	≥20
<u>Glycopeptides</u> : Vancomycine	30µg	---	---	≥17
<u>Macrolides</u> : Erythromycin	15µg	≤15	16-20	≥21
<u>Fluoroquinolones</u> : Levofloxacin	5µg	≤13	14-16	≥17
<u>Lincosamides</u> : Clindamycine	2µg	≤15	16-18	≥19
<u>Tétracyclines</u> : Tétracyclines	30µg	≤18	19-22	≥23
<u>Phénicolés</u> : Chloramphénicol	30µg	≤20	---	≥21
<u>Rifamycines</u> : Rifamycine	5µg	≤16	17-18	≥19
<u>Sulfamides et associés</u> : Triméthoprime + sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤15	16-18	≥19

(Rahal et al., 2008)

VII. Antibiotiques testés pour les bactéries non exigeantes :

Tableau XIII : Liste des antibiotiques testés pour les bactéries non exigeantes

<i>Entérobactéries</i>	<i>Streptocoques Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus sp</i>	<i>Entérocooccus</i>
- Ampicilline AMP	-Ampicilline AM	- Pénicilline P	- Ampicilline AMP
-Gentamicine GN	- Pénicilline P	-Gentamicine GN	- Pénicilline P
-Amikacine AN	-Amikacine AN	-Chloramphénicol C	-Chloramphénicol C
-Céfotaxime CTX	-Céfotaxime CTX	-Ciprofloxacine CIP	-Ciprofloxacine CIP
-Chloramphénicol C	-Chloramphénicol C	-Tétracycline TE	-Céfotaxime CTX
-Pipéracilline PIP	-Ciprofloxacine CIP	- Teicoplanine TEC	- Erythromycine E
-Imipénème IPM	-Triméthopri- sulfaméthoxazole SXT	-Triméthopri- sulfaméthoxazole SXT	-Tétracycline TE
-Céfoxitine FOX	- Teicoplanine TEC	-Céfoxitine FOX	-Triméthopri- sulfaméthoxazole SXT
-Ciprofloxacine CIP	- Erythromycine E	- Oxacilline OX	- Teicoplanine TEC
-Triméthopri- sulfaméthoxazole SXT	- Vancomycine VA	- Vancomycine VA	- Vancomycine VA
-Ticarcilline TIC	- Oxacilline OX		
	-Tétracycline TE		

(Rahal et al., 2008)

VIII. Résultats trouvés par hémoculture :

Tableau XIV : Fréquence des résultats globaux des hémocultures

	Positives	négatives	souillés	totale
Nombre de flacon	50	512	9	571
Pourcentage	8,75%	89,66%	1,57%	100%

Tableau XV : Répartition des résultats positifs selon les services

Services	MIH	MIF	MIP	totale
Nombre De patient	05	16	4	25
Pourcentage	20%	64%	16%	100%

Tableau XVI : Fréquence des hémocultures positives selon le sexe

Sexe	Nombre	Pourcentage %
Féminin	20	80
Masculin	05	20

Tableau XVII : Répartition des résultats selon les tranches d'âge et le sexe

Tranche d'âge	Homme		Femme		Toatale	
	Nombre	Pourcentage%	Nombre	Pourcentage%	Nombre	Pourcentage%
[5-20]	0	0	4	20	4	16
]20-35]	1	20	6	30	7	36
]35-50]	1	20	3	15	4	16
>50	3	60	7	35	10	32
Totale	5		20		25	100

Tableau XVIII : Répartition des résultats selon les souches isolées

	Nombre de souches isolées	Pourcentage
<i>E. coli</i>	10	40%
<i>Klebseilla pneumoniae</i>	4	16%
<i>Serratia marcescens</i>	1	4%
BGN oxydatif	1	4%
<i>Proteus sp</i>	1	4%
<i>Staphylococcus coagulase négatif</i>	3	12%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	12%
<i>Streptococcus sp</i>	1	4%
<i>Enterococcus sp</i>	1	4%

Tableau XIX : Résultats de l'antibiogramme des souches d'*Escherichia coli*

Antibiotique	Sensible		Résistante	
	Nombre	%	Nombre	%
AMP	6	60	4	40
AMC	8	80	2	20
FOX	10	100	0	0
CTX	10	100	0	0
TIC	6	60	4	40
PIP	8	80	2	20
IPM	10	100	0	0
AK	10	100	0	0
GN	10	100	0	0
AN	10	100	0	0
CIP	10	100	0	0
C	10	100	0	0
SXT	9	90	1	10

Tableau XX : Résultats de l'antibiogramme des souches de *Klebsiella pneumoniae*

Antibiotique	Sensible		Résistante	
	Nombre	%	Nombre	%
AMP	1	25	3	75
AMC	3	75	1	25
FOX	4	100	0	0
CTX	3	75	1	25
TIC	1	25	3	75
PIP	3	75	1	25
IPM	4	100	0	0
AK	4	100	0	0
GN	3	75	1	25
AN	3	75	1	25
CIP	4	100	0	0
C	4	100	0	0
SXT	3	75	1	25

Tableau XXI : Résultats de l'antibiogramme des souches de *Serratia marcescens*

Antibiotique	Sensible		Résistance	
	Nombre	%	Nombre	%
AMP	0	0	1	100
AMC	0	0	1	100
FOX	1	100	0	0
CTX	1	100	0	0
TIC	1	100	0	0
PIP	1	100	0	0
IPM	1	100	0	0
AK	1	100	0	0
GN	1	100	0	0
AN	1	100	0	0
CIP	1	100	0	0
C	1	100	0	0
SXT	1	100	0	0

Tableau XXII : Résultats de l'antibiogramme des souches de *Staphylococcus coagulase négative*

Antibiotique	Sensible		Résistante	
	Nombre	%	Nombre	%
P	3	100	0	0
OX	1	33,34	2	66,66
FOX	3	100	0	0
AK	3	100	0	0
GN	3	100	0	0
CIP	3	100	0	0
E	1	33,34	2	66,66
DA	3	100	0	0
VA	3	100	0	0
TEC	3	100	0	0
C	3	100	0	0
SXT	2	66,66	1	33,34
TE	2	66,66	1	33,34

Tableau XXIII : Résultats de l'antibiogramme des souches de *Streptococcus pneumoniae*

Antibiotique	Sensible		Résistante	
	Nombre	%	Nombre	%
P	1	100	0	0
OX	1	100	0	0
CTX	1	100	0	0
AN	1	100	0	0
CIP	1	100	0	0
E	1	100	0	0
DA	1	100	0	0
VA	1	100	0	0
TEC	1	100	0	0
PT	1	100	0	0
C	1	100	0	0
SXT	1	100	0	0
TE	1	100	0	0