

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB – BLIDA 1–

FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE



***Profil bactériologique des hémocultures
à la clinique Hassiba Ben Bouali***

Thèse d'exercice de fin d'étude

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Session Septembre 2018

Présentée par :

- Feriel LARBI
- Imene LEMIA

Promotrice :

- Dr S.OUKID

**Maitre assistante en Microbiologie
Clinique Hassiba Ben Bouali**

Jury d'évaluation :

- | | |
|---|--------------------|
| • Dr S.AZROU : Maitre assistante en Microbiologie | Présidente de Jury |
| • Dr M.BENAMARA : Maitre assistante en Microbiologie | Examinatrice |
| • Dr L.OULD ALI : Maitre assistante en Immunologie | Examinatrice |
| • Dr S .GUEMGUAR : Maitre assistante en Oncologie-Pédiatrique | Examinatrice |

Année universitaire : 2017-2018

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie théorique

Chapitre I : Bactériémie 4

I.1. Définition 4

I.2. L'origine des bactériémies 5

I.2.1. Bactériémie communautaire 5

I.2.2. Bactériémie associée aux soins(BAS)-Bactériémie nosocomiale 6

I.3. Physiopathologie des bactériémies 7

I.3.1. Les bactériémies physiologiques ou non pathologiques 7

I.3.2. Les bactériémies pathologiques 7

I.3.2.1. Schéma physiopathologique général des bactériémies 7

I.3.2.2. Mécanismes des bactériémies 8

I.4. Distinction entre bactériémie et septicémie 12

I.4.1. Définition de la septicémie 12

I.4.2. Evolution du sepsis 12

I.4.2.1. Syndrome de réponse inflammatoire systémique SRIS 13

I.4.2.2. Sepsis 13

I.4.2.3. Sepsis sévère 13

I.4.2.4. Choc septique 13

Chapitre II: Hémoculture 15

| | |
|---|-----------|
| II.1. Historique | 15 |
| II.2. Définition | 16 |
| II.3. Indications de l'hémoculture | 17 |
| II.3.1. Intérêt des hémocultures en fonction du foyer infectieux présumé | 18 |
| II.3.1.1. Hémoculture et méningite | 18 |
| II.3.1.2. Hémoculture et pneumonie | 18 |
| II.3.1.3. Hémoculture et infections ostéo-articulaires | 18 |
| II.3.1.3.1. Spondylodiscite | 18 |
| II.3.1.3.2. Arthrite septique | 18 |
| II.3.1.3.3. Infection sur prothèse ostéo-articulaire | 18 |
| II.3.1.4. Hémoculture et infection sur DVI (dispositifs veineux implantables) | 19 |
| II.3.1.5. Hémoculture et infection urinaire | 19 |
| II.4. Flacons et bouillons d'hémoculture | 19 |
| II.4.1. Flacons pour méthodes usuelles | 20 |
| II.4.1.1. Milieu bi phasique (Castaneda) | 20 |
| II.4.1.2. Milieu monophasique (citraté) | 20 |
| II.4.2. Flacons pour méthodes automatisées | 20 |
| II.4.2.1. Flacons pour Bactec | 20 |
| II.4.2.2. Flacons pour bact/alert | 21 |
| Chapitre III : Epidémiologie des bactériémies | 24 |
| III.1. Incidence-Originé des bactériémies | 24 |
| III.2. Profil bactériologique et la résistance aux antibiotiques | 25 |
| Chapitre IV : Rôle du laboratoire de Microbiologie dans le diagnostic des Bactériémies | 28 |
| IV.1. Prélèvement | 28 |
| IV.2. Transport | 30 |
| IV.3. Etude bactériologique des hémocultures | 30 |
| IV.3.1. Critères de positivité des flacons | 30 |
| IV.3.1.1. Méthodes conventionnelle (manuelle)..... | 30 |
| IV.3.1.2. Méthode automatisée | 31 |
| IV.3.2. Examen microscopique | 31 |

| | |
|--|-----------|
| IV.3.3. Antibiogramme d'urgence | 31 |
| IV.3.4. Mise en culture | 32 |
| IV.3.5. Identification des espèces et interprétation | 32 |
| IV.3.5.1. Tests biochimiques et métaboliques | 32 |
| IV.3.5.1.1. Test à l'oxydase | 32 |
| IV.3.5.1.2. Test à la catalase | 32 |
| IV.3.5.1.3. Observation de la réaction d'hémolyse | 32 |
| IV.3.5.1.4. Test à l'optochine | 33 |
| IV.3.5.2. Identification des bactéries | 33 |
| IV.3.5.2.1. Hémoculture à culture positive | 33 |
| IV.3.5.2.2. Hémoculture à culture négative | 34 |
| IV.3.6. Etude de sensibilité aux antibiotiques | 34 |
| IV.3.6.1. Antibiogramme | 34 |
| IV.3.6.2. Tests complémentaires | 35 |
| IV.3.6.2.1. Recherche de la Béta-Lactamase à Spectre Elargi (BLSE) | 35 |
| IV.3.6.2.2. Recherche de la Carbapénémase | 36 |
| IV.3.6.2.3. Céphalosporinase | 37 |
| IV.4. Un nouveau test de dépistage rapide | 37 |
| Chapitre V : Moyens de lutte contre les bactériémies nosocomiales | 39 |

Partie pratique

| | |
|-------------------------------------|----|
| 1. Objectifs d'étude | 42 |
| 2. Type d'étude | 42 |
| 3. Lieu d'étude | 42 |
| 4. Matériels et méthodes | 42 |
| 4.1. Matériels d'étude | 42 |
| 4.1.1. Critères d'inclusion | 42 |
| 4.1.2. Critères d'exclusion | 42 |
| 4.2. Méthode d'étude | 43 |
| 4.2.1. Etude bactériologique | 43 |
| 4.2.1.1. Examen macroscopique | 43 |

| | |
|---|----|
| 4.2.1.2. Examen microscopique et mise en culture | 43 |
| 4.2.1.3. Identification biochimique | 43 |
| 4.2.1.4. Etude de sensibilité aux antibiotiques | 43 |
| 4.2.1.4.1. Antibiogramme standard | 44 |
| 4.2.1.4.2. Antibiogramme d'urgence | 44 |
| 4.2.1.4.3. Tests complémentaires | 45 |
| 4.2.1.4.3.1. Test de synergie | 45 |
| 4.2.1.4.3.2. Test de Hodge modifié..... | 46 |
| 4.2.2. Etude statistique | 48 |
| 4.3. Contraintes | 48 |
| 5. Résultats..... | 49 |
| 5.1. Description de notre population | 49 |
| 5.1.1. Nombre de prélèvements d'hémocultures reçus au laboratoire de Microbiologie de la clinique Hassiba Ben Bouali (HBB) | 49 |
| 5.1.2. Fréquence des bactériémies diagnostiquées à la clinique HBB du CHU de Blida..... | 51 |
| 5.1.3. Répartition des bactériémies selon leur origine à la clinique HBB | 52 |
| 5.1.4. Répartition des bactériémies nosocomiales selon chaque service..... | 53 |
| 5.1.5. Répartition des bactériémies selon les signes cliniques dans chaque service | 54 |
| 5.2. Profil bactériologique des hémocultures positives à la clinique HBB | 55 |
| 5.2.1. Répartition des bactéries responsable des bactériémies à la clinique HBB..... | 55 |
| 5.2.1.1. Répartition des BGN retrouvés à la clinique HBB | 57 |
| 5.2.1.1.1. Répartition des Entérobactéries selon les espèces retrouvées à la clinique HBB | 59 |
| 5.2.1.1.2. Répartition des BGN oxydatifs selon les espèces retrouvées à la clinique HBB | 61 |
| 5.2.1.1.3. Répartition d'autres BGN selon les espèces retrouvées à la clinique HBB | 63 |
| 5.2.1.2. Répartition des CGP retrouvées à la clinique HBB..... | 64 |
| 5.2.1.2.1. Répartition des Staphylocoques selon les espèces retrouvées à la clinique HBB | 66 |
| 5.2.1.2.2. Répartition des Streptocoques-Entérocoques selon les espèces retrouvées à la clinique HBB | 67 |

| | |
|--|-----------|
| 5.3. Profil de résistance aux antibiotiques..... | 70 |
| 5.3.1. Antibiorésistance des BGN selon les espèces bactériennes isolées à la Clinique HBB..... | 70 |
| 5.3.1.1. Etude de la résistance des Entérobactéries aux principaux antibiotiques..... | 70 |
| 5.3.1.1.1. Répartition des Entérobactéries selon leur mécanisme de résistance | 72 |
| 5.3.1.1.1.1. Répartition des Entérobactéries BLSE selon les espèces retrouvées | 73 |
| 5.3.1.1.1.2. Répartition des Entérobactéries Carbapénèmases selon les espèces isolées | 74 |
| 5.3.1.2. Etude de la résistance des BGN oxydatifs aux principaux antibiotiques..... | 75 |
| 5.3.1.2.1. Profil de résistance des souches <i>Acinetobacter baumannii</i> | 75 |
| 5.3.1.2.2. Profil de résistance des souches <i>Pseudomonas spp</i> | 76 |
| 5.3.2. Antibiorésistance des CGP selon les espèces bactériennes retrouvées à la Clinique HBB..... | 78 |
| 5.3.2.1. Etude de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques | 78 |
| 5.3.2.1.1. Profil de résistance des souches <i>Staphylococcus aureus</i> | 78 |
| 5.3.2.1.1.1. Répartition de <i>Staphylococcus aureus</i> Méricillino-résistant selon le Service..... | 79 |
| 5.3.2.1.2. Profil de résistance des souches <i>Staphylococcus coagulase négative</i> (SCN) | 79 |
| 5.3.2.2. Profil de résistance des souches <i>Enterococcus sp</i> | 80 |
| 5.3.2.3. Etude de la résistance des Streptocoques aux antibiotiques | 81 |
| 5.3.2.3.1. Profil de résistance de <i>Streptococcus pneumoniae</i>..... | 81 |
| 5.3.2.3.2. Profil de résistance des souches Streptocoque B | 82 |
| 5.3.2.3.3. Profil de résistance des souches <i>Streptococcus sp</i> | 83 |
| 6. Discussion | 84 |
| Conclusion | 95 |
| Références | |
| Annexes | |

Résumé

Les bactériémies présentent un énorme problème de santé publique vu leur morbidité et mortalité. L'étude bactériologique des hémocultures est le seul moyen diagnostique qui nous renseigne sur les germes responsables ainsi que leur sensibilité aux antibiotiques.

Nous présentons une étude retro-prospective qui a pour objectif : déterminer la fréquence des bactériémies diagnostiquées à la clinique Hassiba Ben Bouali, identifier les espèces bactériennes isolées des hémocultures et étudier leur antibiorésistance.

Sur un total de 1660 hémocultures enregistrées au laboratoire de Microbiologie de la clinique Mère-Enfant HBB du CHU de Blida sur la période (Mars 2016-Mars 2018), 17,83% (296/1660) ont été considérées positives témoignant d'un état bactériémique contre 71,51% (1187/1660) ont été négatives. Les 10,66% (177/1660) restantes représentent le pourcentage des hémocultures contaminées.

Le taux des Bacilles Gram négatif (BGN) retrouvé était de 70,77% (230/296) par rapport aux 22,30% (66/296) des Cocci Gram positif (CGP). Dans les BGN, les entérobactéries ont été majoritaires puis les BGN oxydatifs et faiblement autres BGN avec les proportions respectives 78,26%, 15,65%, 6,09%. La *Klebsiella pneumoniae* était le chef de file des Entérobactéries. Concernant les CGP, on a retrouvé 57,57% des Staphylocoques, 37,87% des Streptocoques-Entérocoques.

Dans les 296 bactériémies diagnostiquées à la clinique HBB : 66,47% Entérobactéries étaient productrices de Béta-Lactamase à Spectre Elargi (BLSE), les espèces les plus fréquentes étaient *Klebsiella pneumoniae* avec 94 isolats et *Enterobacter sp* avec 09 isolats et 1,48% Entérobactéries étaient productrices d'une Carbapénémase réparties en *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia marcescens*.

Dans les résistances des CGP, 23 souches de *Staphylococcus coagulases négatives* étaient résistantes à la Métilcilline et cinq souches de *Staphylococcus aureus métilcillino-résistant* (SAMR) ont été retrouvées. Aucune résistance à la Vancomycine n'a été signalée.

La fiabilité du résultat bactériologique est intimement lié à la qualité du prélèvement, le respect des règles d'hygiène, la bonne prescription des antibiotiques ainsi qu'une fiche de renseignements bien remplie.

Mots clés : La bactériémie, hémoculture, antibiorésistance, Béta-Lactamase à Spectre Elargi (BLSE), Carbapénémase.

Abstract

Bacteremias are an enormous problem for public health, because of their morbidity and mortality. Bacteriological study of hemoculture is the only diagnostic way to inform us about causative germs, plus their antibiotic sensitivity.

We present a retro prospective study with the following objectives:

Find out the diagnosed bacteremias frequency in Hassiba Ben Bouali university medical center, identify bacteria found in hemocultures and study their antibiotic resistance.

Among 1660 registered hemocultures, in the microbiology laboratory of Hassiba Ben Bouali UMC in Blida during the period (March 2016-March 2018), 17.83% (296/1660) were considered positive ,proving a bacterimia against 71.51% (1187/1660) were negative, 10,66% (177/1660) who are left represent the percentage of contaminated hemocultures.

The rate of Gram-negative Bacilli was 70, 77% (230/296) with respect to 22, 30% (66/296) of Gram-positive Cocci. Among GNB, Enterobacteria were the majority then oxidative GNB and weakly other GNB with the respective propotions 78, 26%, 15, 65%, 6, 09%.

Klebsiella pneumonia was the leader of Enterobacteria. Concerning the GPC, we found 57, 57% of Staphylococci, 37, 87% of *Streptococcus-Enterococcus*.

Among 296 of the diagnosed bacterimia in Hassiba Ben Bouali university medical center:

66, 47% of Enterobacteria produced Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBL).

Most frequent spices were: *Klebsiella pneumonia* with 94 isolates, *Enterobacter sp* with 09 isolates and 1, 48% of Enterobacteria were producers of Carbapenemase divided into *Klebsiella pneumonia* and *Serratia marcescens*.

Among GPC resistance, 23 bacterial strains of *coagulase-negative Staphylococcus* were resistant to methicillin and five strains of *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) have been found. No Vancomycine resistance was reported.

The reliability of the bacteriological result is intimately connected to the quality of sampling, compliance with the rules of hygiene, an appropriate antibiotic prescribing also the information sheet that should be well filled.

Keywords: Bacteremia, hemoculture, antibiotic resistance, Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL), Carbapenemase.

ملخص

تجرثم الدم يمثل مشكل عويص بالنسبة للصحة العامة , نظرا للاعتلال و الوفيات التي يسببها. الدراسة البكتريولوجية لزرع الدم تعتبر الوسيلة الوحيدة للتشخيص و تقديم المعلومات حول الجراثيم المسببة و حساسيتهم للمضادات الحيوية.

نقدم دراسة استرجاعية مع الاهداف التالية:

تحديد تواتر تجرثم الدم المشخص في المركز الاستشفائي الجامعي (حسيبة بن بوعلي) بالبليدة , و كذلك التعرف على الانواع البكتيرية المعزولة من زرع الدم و دراسة مقاومتها للمضادات الحيوية. من أصل 1660 زرع دم مدروس في مخبر علم الاحياء المجهرية في المركز الاستشفائي الجامعي (حسيبة بن بوعلي) لمدة مارس 2016_مارس 2018 تم تشخيص :

(296/1660) 17,83% ايجابي يدل على تجرثم الدم

(1187/1660) 71,51% سلمي.

(177/1660) 10,66% الباقية تمثل نسبة تجرثم الدم الملوث.

نسبة العصيات سلبية الغرام تقدر بـ (230/296) 70,77% مقارنة بالمكورات ايجابية الغرام 22,30% (66/296) . في العصيات سلبية الغرام ، انتيروباكتريا كانت الاكثر شيوعا تليها العصيات سلبية الغرام المؤكسدة وبعدها العصيات سلبية الغرام اخرى , بالنسب المئوية التالية: 78,26% ، 15,65% ، 6,09% .
كليبسيالا بنوموني أخذت حصة الاسد.

في المكورات ايجابية الغرام ستفيلوكوك كانت بـ 57,57% ، ستخابتوكوك-أونتيروكوك كانت بـ 37,87% ، من أصل 296 تجرثم دم مشخص في المركز الاستشفائي الجامعي (حسيبة بن بوعلي)، انتيروباكتريا أنتجت طيف بيتا لاكتاماز موسع بنسبة 66.77% ، مع 94 عزلة كليبسيالا بنوموني و كانت أكثر الأنواع شيوعاً و 09 عزلات من صنف أونتيروبكتارأس بي. كما أنتجت آلية كرابينيماز بنسبة 1.48% موزعة على: كلابسيالا بنوموني و سراسيا مرسيسنس.

في مقاومة المكورات ايجابية الغرام، 23 سلالة من صنف ستافيلوكوكيس كواغولاس سلبي مقاوم للمتيسيلين و 5 سلالات من نوع ستافيلوكوكيس اوريوس مقاوم للمتيسيلين. لم يتم الابلاغ عن أي مقاومة ترتبط بالمضاد الحيوي الفونكوميسين.

ترتبط موثوقية النتيجة البكتريولوجية ارتباطاً وثيقاً بـ : جودة العينة ، احترام قواعد النظافة ، وصفة جيدة من المضادات الحيوية و الملاء المتمعن لوثيقة المعلومات الشخصية الخاصة بالمريض.

الكلمات المفتاحية: تجرثم الدم، الدراسة البكتريولوجية لزرع الدم، مقاومة المضادات الحيوية، طيف بيتا لاكتاماز موسع، كرابينيماز.

Remerciements

Nous tenons à remercier particulièrement et chaleureusement avec notre grande gratitude notre encadreur Dr OUKID Samira pour tous les efforts inlassables, et toute la patience que vous avez déployée pour que ce travail soit élaboré. Pour tous ses conseils et ses encouragements, pour toutes ces informations si précieuses, gratuitement livrées. Ce fut pour nous, un honneur et un grand plaisir d'avoir préparé notre thèse sous votre guidance et nul mot ne qualifie notre gratitude. Nos vifs remerciements pour les membres du jury à commencer par Dr AZROU pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce travail. A Dr BENAMARA, Dr OULD ALI et Dr QUEMQUAR ; nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner notre travail. C'est pour nous l'occasion de vous témoigner estime et respect. Nos remerciements s'adressent également au personnel du laboratoire : à Mme DJABI, Mme BOUDIS. Nous sommes très heureuses d'avoir appris auprès de vous. A ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du cœur.

Dédicace :

Je dédie cette thèse :

A toi maman,

Pour l'amour que tu m'as donné ; le sacrifice dont tu m'as toujours fait preuve ; pour l'encouragement sans limites que tu ne cesses de manifester.

A toi Papa,

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

Que Dieu vous garde pour nous.

A ma sœur Karima et mes frères Anis et Abdearouf : que Dieu vous protège et vous prête bonne santé et longue vie.

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

A mes chères amies :

Imi, Rofaida, Ratiba, Imène, Nouryame, Selma, Je vous adore.



Feriel

Dédicaces

À ma chère grand-mère et ma chère maman

Source de tendresse, de patience et de sacrifices, vous avez fait de moi ce que je suis aujourd'hui, vous êtes pour moi l'exemple d'abnégation, de dévouement et de probité.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vœux tant formulées, le Fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en Acquitterai jamais assez.

Que Dieu vous protège et vous accorde la santé et la longue vie.

À mon cher père

Malgré vous n'êtes pas présent dans ma vie, vous êtes toujours avec moi par votre âme

Je vous aime papa, Paix à votre âme

À mes tantes et mes oncles

Je vous dédis ce modeste travail, pour votre encouragement et votre soutien.

À mes chères amis

Feriel, Imene, Nouryame, Navel, Kadjila

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs, je vous adore.

Ali et Walid

Vous êtes des supers amis, vous avez trop m'aider pour finir ce travail

Je vous dis Merci

Imèn

Liste des Figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: Les trois principaux mécanismes des bactériémies | 8 |
| Figure 2: Mécanisme des bactériémies d'origine thromboembolique..... | 9 |
| Figure 3: Ganglion lymphatique | 10 |
| Figure 4: Circulation du sang dans le cœur | 10 |
| Figure 5: Evolution de la gravité des syndromes septiques | 12 |
| Figure 6: Flacon de CASTANEDA. | 20 |
| Figure 7: Flacon citraté | 20 |
| Figure 8: Flacon pour Bactec | 20 |
| Figure 9: Flacon pour bact/alert..... | 21 |
| Figure 10: Api 20 E | 33 |
| Figure 11: Antibiogramme standard de la souche <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 45 |
| Figure 12: Antibiogramme d'urgence de la souche <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 45 |
| Figure 13: <i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE+ (bouchon de champagne)..... | 46 |
| Figure 14: <i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE+ (CT/CTL>8)..... | 46 |
| Figure 15: Souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de Carbapénèmase | 47 |
| Figure 16: Pourcentage des prélèvements reçus au laboratoire de Microbiologie | 49 |
| Figure 17: Pourcentage de prélèvements reçus au laboratoire de Microbiologie selon le service..... | 50 |
| Figure 18: Fréquence de bactériémies diagnostiquées | 51 |
| Figure 19: Fréquence de bactériémies diagnostiquées selon le service..... | 52 |
| Figure 20: Pourcentage des bactériémies selon leur origine | 53 |
| Figure 21: Pourcentage des bactéries responsables des bactériémies selon le Gram | 55 |
| Figure 22: Pourcentage des bactéries selon le Gram pour chaque service | 56 |
| Figure 23: Pourcentage des Bacilles Gram négatif | 57 |
| Figure 24: Nombre des BGN dans chaque service | 58 |

| | |
|---|-----------|
| Figure 25: Pourcentage des Entérobactéries selon les espèces retrouvées | 59 |
| Figure 26: Répartition des Entérobactéries selon les espèces retrouvées dans chaque service..... | 60 |
| Figure 27: Pourcentage des BGN oxydatifs | 61 |
| Figure 28: Répartition des BGN oxydatifs dans chaque service | 62 |
| Figure 29: Autres BGN selon le service | 63 |
| Figure 30: Pourcentage des Cocci Gram positif | 64 |
| Figure 31: Nombre des CGP dans chaque service | 65 |
| Figure 32: Pourcentage des staphylocoques selon les espèces retrouvées | 66 |
| Figure 33: Répartition des Staphylocoques selon les espèces retrouvées dans chaque service | 67 |
| Figure 34: Répartition des Streptocoques-Entérocoques selon les espèces retrouvées | 68 |
| Figure 35: Répartition des Staphylocoques-Entérocoques selon les espèces dans chaque Service | 69 |
| Figure 36: Profil de résistance des entérobactéries aux antibiotiques | 70 |
| Figure 37: Mécanismes de résistance des Entérobactéries..... | 72 |
| Figure 38: Répartition des résistances des Entérobactéries dans chaque service | 73 |
| Figure 39: Répartition des Entérobactéries BLSE selon les espèces isolées..... | 73 |
| Figure 40: Profil de résistance des Entérobactéries BLSE | 74 |
| Figure 41: Répartition des souches Carbapénèmases en Néonatalogie | 75 |
| Figure 42: Profil de résistance des souches <i>Acinetobacter baumannii</i> | 76 |
| Figure 43: Profil de résistance des souches <i>Pseudomonas spp</i> | 77 |
| Figure 44: Profil de résistance des souches <i>Staphylococcus aureus</i> | 78 |
| Figure 45: Nombre de souches MRSA dans chaque service | 79 |
| Figure 46: Profil de résistance des SCN | 80 |
| Figure 47: Profil de résistance des souches <i>Enterococcus sp</i> | 81 |
| Figure 48: Profil de résistance des souches <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 82 |
| Figure 49: Profil de résistance de souches Streptocoque B | 83 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----------|
| Tableau 1: Volume du sang à mettre en culture en fonction du poids de l'enfant | 29 |
| Tableau 2: Caractéristiques des automates actuellement commercialisés en France | 31 |
| Tableau 3: Comparaison des diamètres d'inhibition pour deux techniques d'antibiogramme ... | 45 |
| Tableau 4: Nombre des prélèvements reçus au laboratoire de Microbiologie | 49 |
| Tableau 5: Nombre des prélèvements reçus selon le service | 50 |
| Tableau 6: Fréquence des bactériémies diagnostiquées | 51 |
| Tableau 7: Fréquence des bactériémies selon le service | 51 |
| Tableau 8: Répartition des bactériémies selon leur origine | 52 |
| Tableau 9: Répartition des bactériémies nosocomiales selon le service | 53 |
| Tableau 10: Répartition des bactériémies selon les signes cliniques | 54 |
| Tableau 11: Répartition des bactéries responsable des bactériémies | 55 |
| Tableau 12: Répartition des bactéries selon le service | 56 |
| Tableau 13: Répartition des BGN | 57 |
| Tableau 14: Répartition des BGN selon le service | 58 |
| Tableau 15: Répartition des Entérobactéries selon les espèces retrouvées. | 59 |
| Tableau 16: Répartition des Entérobactéries selon les espèces pour chaque service | 60 |
| Tableau 17: Répartition des BGN oxydatifs selon les espèces retrouvées | 61 |
| Tableau 18: Répartition des BGN oxydatifs selon les espèces pour chaque service | 62 |
| Tableau 19: Répartition d'autres BGN selon les espèces retrouvées | 63 |
| Tableau 20: Répartition d'autres BGN selon les espèces pour chaque service | 63 |
| Tableau 21: Répartition des CGP | 64 |
| Tableau 22: Répartition des CGP selon le service | 65 |
| Tableau 23: Répartition des Staphylocoques selon les espèces retrouvées. | 66 |
| Tableau 24: Répartition des Staphylocoques selon les espèces pour chaque service. | 66 |
| Tableau 25: Répartition des Streptocoques-Entérocoques selon les espèces retrouvées | 67 |

| | |
|--|-----------|
| Tableau 26: Répartition des Streptocoques-Entérocoques selon les espèces pour chaque Service..... | 68 |
| Tableau 27: Profil global de résistance des Entérobactéries..... | 70 |
| Tableau 28: Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 71 |
| Tableau 29: Profil de résistance de <i>Serratia marcescens</i> | 71 |
| Tableau 30: Profil de résistance de l'espèce <i>Escherichia coli</i> | 71 |
| Tableau 31 : Profil de résistance de l'espèce <i>Enterbacter sp</i> | 72 |
| Tableau 32 : Répartition des espèces BLSE selon le service | 74 |
| Tableau 33 : Profil de résistance des Entérobactéries BLSE | 74 |
| Tableau 34 : Profil de résistance des souches <i>Acinetobacter baumannii</i> | 75 |
| Tableau 35 : Profil de résistance des souches <i>Pseudomonas sp</i> | 76 |
| Tableau 36 : Profil de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> | 78 |
| Tableau 37 : Profil de résistance des SCN | 79 |
| Tableau 38 : Profil de résistance des souches <i>Enterococcus sp</i> | 80 |
| Tableau 39 : Profil de résistance de <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 81 |
| Tableau 40 : Profil de résistance de Streptocoque B | 82 |
| Tableau 41 : Profil de résistance de <i>Streptococcus sp</i> | 83 |

Liste des abréviations

Api : Analytical profile index

AMC : Amoxicilline+ acide clavulanique

BMR : Bactéries Multi-Résistantes

BLSE : Béta Lactamases à Spectre Elargi

BAS : Bactériémies Associées aux Soins

BN : Bactériémie Nosocomiale

BMF : Bactériémie Materno-Foetale

CTIN : Comité Technique des Infections Nosocomiales

CSHSF : Conseil Supérieur d'Hygiène et de Santé Publique de France

CDC: Center for Disease Control

CVC: Cathéters Veineux Central

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CLIN : Comité du lutte contre les infections nosocomiales

C1G : Céphalosporinase de 1^{ère} génération

C2G : Céphalosporinase de 2^{ème} génération

C3G : Céphalosporinase de 3^{ème} génération

DVI: Dispositifs Veineux Implantables

ESCMID: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

ECBU: Etude Cyto-Bactériologique des Urines

HBB: Hassiba Ben Bouali

HAS : Haute Autorité de Santé

IMP: Imipénème

IDSA: *Infectious Diseases Society of America*

IAS : Infections Associées aux Soins

KT : Cathéter.

KPC : *Klebsiella pneumoniae* Carbapenem

LCR : Liquide céphalo-rachidien

McF, MF : *McFarland*

MH : Mueller-Hinton

ORL : Oro-Rhino-Laryngologie

O.M.S : Organisation mondiale de santé.

PSI: *Pneumonia Severity Index.*

PCR: *Polymerase chain reaction*

SRIS : Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique

SDMV : Syndrome de Défaillance Multi-Viscérale

SPS : polyanétholsulfonate de sodium

SPILF : La Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française

UFC: Unit forming colony

VHC : *virus de l'hépatite C.*

VIIH : virus de l'immunodéficience humaine

INTRODUCTION

Les bactériémies continuent d'être une importante cause de morbidité et de mortalité, en dépit de la disponibilité des agents antimicrobiens puissants et de moyens de diagnostic sophistiqués. ^[1]

Leur incidence est corrélée à l'augmentation de l'utilisation des cathéters veineux centraux ou périphériques. Le séjour en unité de soins intensifs et le non-respect des règles élémentaires d'asepsie et d'hygiène sont des facteurs de risque supplémentaires. Le taux de mortalité qui leur est attribué est élevé, notamment en cas de bactériémie poly microbienne. Par ailleurs, on sait que le terrain influence la mortalité et la morbidité des bactériémies. Ainsi, Les sujets immunodéprimés (porteurs de néoplasie ou d'hétopathie, sous corticothérapie, les cytopéniques ou les sujets séropositifs) sont plus fréquemment touchés (4-15%). ^[2]

Les bactériémies posent un problème majeur de prise en charge, il faut en effet trouver un compromis entre l'urgence du traitement et la difficulté à poser un diagnostic précis dans de brefs délais, elles constituent une urgence diagnostique et thérapeutique. Le moyen d'investigation le plus sûr pour confirmer une bactériémie est l'hémoculture. ^[2]

L'hémoculture est le seul examen qui permet de justifier la bactériémie. L'hémoculture est une technique de laboratoire dont le but est de mettre en évidence la présence ou l'absence des microorganismes dans le sang et d'étudier leur sensibilité aux différents antibiotiques selon les cas. C'est l'élément capital du diagnostic, du pronostic et de traitement de nombreuses infections sévères s'accompagnant de passage bactérien dans le sang.

La connaissance des principales espèces bactériennes responsables de bactériémies et de leur profil de sensibilité aux antibiotiques permet de donner une base objective à l'antibiothérapie probabiliste.

Dans cette optique, nous avons voulu mettre la lumière sur le profil bactériologique des hémocultures à la clinique Hassiba Ben Bouali du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Blida. C'est une étude rétro-prospective réalisée sur des patients hospitalisés au niveau de différents services de l'hôpital : Pédiatrie, Néonatalogie, Réa-Gynécologie, Centre de Chirurgie Infantile (CCI), Oncologie-Pédiatrique. En analysant les statistiques d'hémoculture durant la période Mars 2016-Mars 2018 en plus d'un travail de paillasse de trois mois (du 1^{er} Janvier au 31 Mars 2018).

La collecte des données s'est faite à partir des registres archivés d'hémocultures maintenus au niveau de laboratoire de Microbiologie.

Les objectifs de notre étude sont :

1. Déterminer la fréquence des bactériémies diagnostiquées à la clinique HBB du CHU de Blida.
2. Identifier les espèces bactériennes isolées des hémocultures à la clinique HBB du CHU de Blida.
3. Etudier l'antibiorésistance des bactéries isolées des hémocultures à la clinique HBB du CHU de Blida.

Partie

Théorique

Chapitre I

Bactériémie

I. Bactériémie

I.1. Définition :

La bactériémie indique la présence de bactéries dans le sang. Si le sang est en principe un environnement stérile, la détection de bactéries dans le sang, le plus souvent réalisée par les hémocultures, est toujours anormale, conduisant à identifier une infection. [3]

La bactériémie a été définie selon les recommandations du Comité Technique des Infections Nosocomiales du Conseil Supérieur D'Hygiène et de Santé Publique de France par l'existence d'au moins une hémoculture positive sauf pour les bactéries suivantes : *Staphylococcus à Coagulase Négative*, *Bacillus* sp, *Corynebacterium* sp, *Propionibacterium* sp, *Micrococcus* sp ou autres bactéries saprophytes ou commensales à potentiel pathogène comparable, pour lesquelles au moins deux flacons d'hémoculture positifs correspondant à des ponctions différentes (c'est-à-dire au moins deux hémocultures positives) sont nécessaires. [4]

La bactériémie est définie selon sa nature : [5]

a). Bactériémie primaire

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

b). Bactériémie secondaire

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

c). Pseudo bactériémie

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

La présence des bactéries dans le sang peut être transitoire intermittente ou continue [6]

a). La bactériémie transitoire

Correspond à des décharges brèves de bactérie dans le sang, survenant après irritation d'une muqueuse colonisée par une flore microbienne ou manipulation de tissus infectés. Elle peut être spontanée (exemple pendant un brossage dentaire ou au cours de la digestion) ou provoquée par des gestes invasifs tels des soins dentaires, une endoscopie digestive, la mise en place d'une sonde urinaire ou un dispositif intravasculaire (Cathéter, perfusion intraveineuse).

La bactériémie transitoire peut également survenir au début d'infections bactériennes aiguës telles pneumonies, méningites ...

Les bactériémies transitoires sont généralement sans manifestations cliniques, sans conséquences thérapeutiques puisqu'elles ne sont pas associées à un foyer de multiplication tissulaire.

Le risque existe cependant chez l'immunodéprimé ou chez le sujet souffrant d'un certain type de cardiopathies, dites « à risque » de Greffe oslérienne.

b). La bactériémie intermittente :

Correspond à des décharges bactériennes répétées à la suite d'infections diverses. Elle est classiquement associée à une infection cloisonnée, non ou mal drainée, telle un abcès intra-abdominal ou un empyème sous dural, mais se voit aussi dans des infections tissulaires focalisées (exemple de la brucellose focalisée).

La bactériémie intermittente survient, disparaît puis revient avec le même germe.

c). La bactériémie continue :

Le sang est continuellement inoculé par des germes (soit à partir d'un foyer ganglionnaire soit à partir de l'endocardite ou d'un foyer endovasculaire).

Elle s'observe dans la fièvre typho-paratyphoïdique, l'endocardite, l'endartérite et les anévrismes mycotiques. [7]

Dans les bactériémies continues et les bactériémies intermittentes, il existe un foyer microbien qui libère des décharges de germes dans la circulation sanguine, soit via le système lymphatique (canal thoracique), soit directement dans le sang. [6]

La présence du germe pathogène dans le sang va conduire à une infection qui est le résultat de l'agression d'un organisme par une bactérie, un virus, un parasite ou un champignon.

Une bactériémie documentée microbiologiquement a été définie par l'existence de signes cliniques et/ou radiologiques d'infection localisée associée à un prélèvement microbiologique positif à la même bactérie que celle de l'hémoculture.

Une bactériémie non documentée microbiologiquement a été définie par l'existence de signes cliniques et/ou radiologiques d'infection localisée sans isolement bactérien au niveau du foyer infectieux (Pas de prélèvement ou culture négative). La porte d'entrée a été déclarée comme inconnue en l'absence de signes cliniques et/ou radiologiques évocateurs de foyer d'infection localisée et la négativité ou l'absence de prélèvements microbiologiques de foyer périphérique. [8]

La bactériémie se définit par la présence de bactéries dans la circulation sanguine. Lorsque leur nombre est faible, elles sont éliminées grâce aux défenses de l'organisme, ce qui est la situation la plus fréquente. Dans ce cas, la personne n'a aucun symptôme, mais peut parfois ressentir une légère fièvre (fébricule) ou une légère fatigue transitoire. Lorsque les bactéries sont en trop grand nombre ou les défenses immunitaires sont diminuées (par un traitement, une maladie), ou débordées par leur nombre, l'organisme n'est plus capable de les éliminer ce qui peut aboutir à une septicémie. [9]

I.2. L'origine des bactériémies :

Les bactériémies communautaires doivent être différenciées des bactériémies associées aux soins à cause des portes d'entrée, des germes impliqués et la proportion de bactéries multi résistantes (BMR). Les bactériémies associées aux soins peuvent être contractées à l'hôpital (bactériémies nosocomiales) ou en dehors de l'hôpital par des patients présentant les facteurs de risque suivants :

Hospitalisation dans les 90 jours précédents, hémodialyse chronique, Perfusion à domicile, vie en institution. [10]

I.2.1. Bactériémie communautaire :

On considère que l'origine de la bactériémie est communautaire lorsque le diagnostic est posé à l'admission ou dans les 48h suivant l'hospitalisation. [11]

L'origine de la bactériémie est définie comme communautaire lorsque les hémocultures sont prélevées :

≤ 48h après l'admission ; ou >48 heures après l'admission chez un patient présentant des Signes d'infection à l'admission ou lors d'une séance dialyse ambulatoire. [12]

Les principales portes d'entrée pour les bactériémies Communautaires sont : urinaires, digestives, pulmonaires, et plus rarement cutanées, ORL, dentaires.

I.2.2. Bactériémie associée aux soins (BAS)-Bactériémie nosocomiale :

Une bactériémie est dite associée aux soins (BAS) si elle survient au Cours ou au décours d'une prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge. ^[13]

Lorsque l'état infectieux au début de la prise en charge n'est pas connu précisément, un délai d'au moins 48 heures ou un délai Supérieur à la période d'incubation est couramment accepté pour définir une infection associée aux soins (IAS).

Parmi les IAS, les infections nosocomiales sont celle survenant au cours ou au décours d'une hospitalisation. ^[14]

Une bactériémie nosocomiale a été définie selon les recommandations du CTIN et du CSHSF par une ou des hémoculture(s) positive(s) prélevée(s) :

1. dans un délai supérieur ou égal à 48 heures après l'admission dans l'hôpital d'un malade provenant de son domicile ou d'une maison de retraite et ne présentant à son admission aucun signe infectieux ;
2. dans un délai inférieur à 48 heures après l'admission dans l'hôpital d'un malade transféré d'un autre hôpital ;
3. dans un délai d'un mois après une intervention chirurgicale;
4. dans un délai d'un an après une mise en place de prothèse. ^[15]

La définition des bactériémies nosocomiales utilisée était celle du Center for Disease Control (CDC) Atlanta, Georgia, États-Unis.

Les patients qui présentaient une bactériémie plus de 48 heures après l'admission et qui n'étaient pas en incubation étaient considérés comme des "cas". ^[16]

Dans le cas de bactériémies nosocomiales : ^[17]

1. prédispositions: venant du malade

Âge ≤ 1 an ou \geq de 60 ans, traitement immunosuppresseur (ex. chimio, radiation), peau non intacte (ex. traumatismes, brûlures, Psoriasis,...)

2. facteurs de risques exogènes:

Cathéter veineux central ou artériel, risque augmente avec la durée de séjour en Réanimation, bactériémie/septicémie possible par translocation des bactéries intestinales.

La bactériémie liée au cathéter veineux central (CVC) est définie par :

L'association d'une bactériémie survenant dans les 48 heures encadrant le retrait du CVC (ou la suspicion diagnostique d'infection de cathéter si celui-ci n'est pas retiré d'emblée)

ET :

SOIT une culture positive avec le même micro-organisme sur l'un des prélèvements suivants: culture du site d'insertion ou culture du CVC $\geq 10^3$ UFC/ml ;

SOIT des hémocultures périphériques et centrales positives au même micro-organisme avec un rapport hémoculture quantitative centrale/hémoculture périphérique > 5 ou un délai différentiel de positivité des hémocultures centrale/périphérique > 2 h, avec une positivité plus rapide pour l'hémoculture centrale. ^[18]

I.3. Physiopathologie des bactériémies :

Les bactériémies ne sont pas toutes pathologiques.

I.3.1. Les bactériémies physiologiques ou non pathologiques : ^[19]

Sont asymptomatiques et transitoires : elles correspondent à des décharges brèves de bactéries dans le sang qui peuvent être observées dans les circonstances suivantes :

Au cours de la digestion, après un brossage des dents, après certains soins comme une extraction dentaire, après une endoscopie digestive, après la mise en place d'une sonde urinaire ou d'un cathéter veineux.

Ces bactéries sont rapidement éliminées grâce au système phagocytes-mono nucléaires (foie, rate, moelle osseuse). Ces bactériémies, sans conséquences pour la très grande majorité des individus, peuvent présenter un risque en cas de valvulopathie ou de forte immunodépression.

I.3.2. Les bactériémies pathologiques :

Correspondent à une infection généralisée qui se caractérise par une décharge massive de bactéries dans le sang à partir d'un premier foyer infectieux. Selon les mécanismes physiopathologiques, les bactériémies peuvent être intermittentes ou continues. ^[19]

Comment les germes arrivent- ils dans le sang ?

I.3.2.1. Schéma physiopathologique général des bactériémies :

L'empoisonnement du sang peut commencer à partir d'une plaie infectée ou d'une infection survenue précédemment, et se déplacer très rapidement vers les organes.

Dans les conditions normales, le système immunitaire est capable de lutter contre des agents pathogènes venus de l'extérieur. Les infections qui en résultent sont « des infections locales ». La septicémie survient, sous forme d'infection grave de l'organisme, lorsque des germes pathogènes envahissent le sang, les voies lymphatiques et les organes de l'organisme. ^[20]

Le schéma comporte quatre étapes :

PREMIERE ETAPE : les microorganismes pénètrent dans l'organisme par une « porte d'entrée ».

Pour les bactériémies communautaires, les portes d'entrée principales sont, par ordre de fréquence, urinaire, digestive puis pleuro-pulmonaire. Une part importante des portes d'entrée reste inconnue.

Pour les bactériémies nosocomiales, on retrouve encore comme porte d'entrée principale, la porte d'entrée urinaire avec la présence d'une sonde dans la moitié des cas. Les

Microorganismes pénètrent aussi par le biais de dispositifs intra-vasculaires (cathéter, chambre implantée) et enfin par voie digestive. Là aussi part importante des portes d'entrée reste inconnue. ^[19]

DEUXIEME ETAPE : les germes se multiplient à proximité de la porte d'entrée et forment un « foyer infectieux primaire » localisé qui peut être thromboembolique, ganglionnaire ou Endocarditique. ^[21]

TROISIEME ETAPE : à partir du foyer infectieux les germes passent dans la circulation Sanguine. Cette inoculation peut être continue ou intermittente.

Passage prolongé (entretenu) des bactéries dans le sang favorisé par :

1. Grande quantité de microbe (abcès) ;
2. Pullulement des microbes directement dans le flot sanguin (endocardite, thrombophlébite Septique) ou dans un organe qui s’y déverse (ganglion lymphatique) ;
3. Absence de clairance des microbes (splénectomie, agranulocytose). [22]

QUATRIEME ETAPE : le système phagocytes-monucléaires est activé pour assurer l’élimination des microorganismes, cependant, si la décharge microbienne est massive ou si l’agent microbien a la capacité de se multiplier rapidement dans la circulation sanguine.

Le système phagocytes mononucléaires peut être dépassé et des « foyers infectieux Secondaires » (Ou métastases Septiques) à distance peuvent alors apparaitre (au niveau Méningé ou au niveau des cavités séreuses, telles que le péricarde ou les grandes Articulations). [23]

I.3.2.2. Mécanismes des bactériémies : [21, 24, 25, 26, 27]

Les bactériémies sont divisées selon trois schémas physiopathologiques suivant leur point de départ et l’existence ou non d’un relais endocirculatoire.

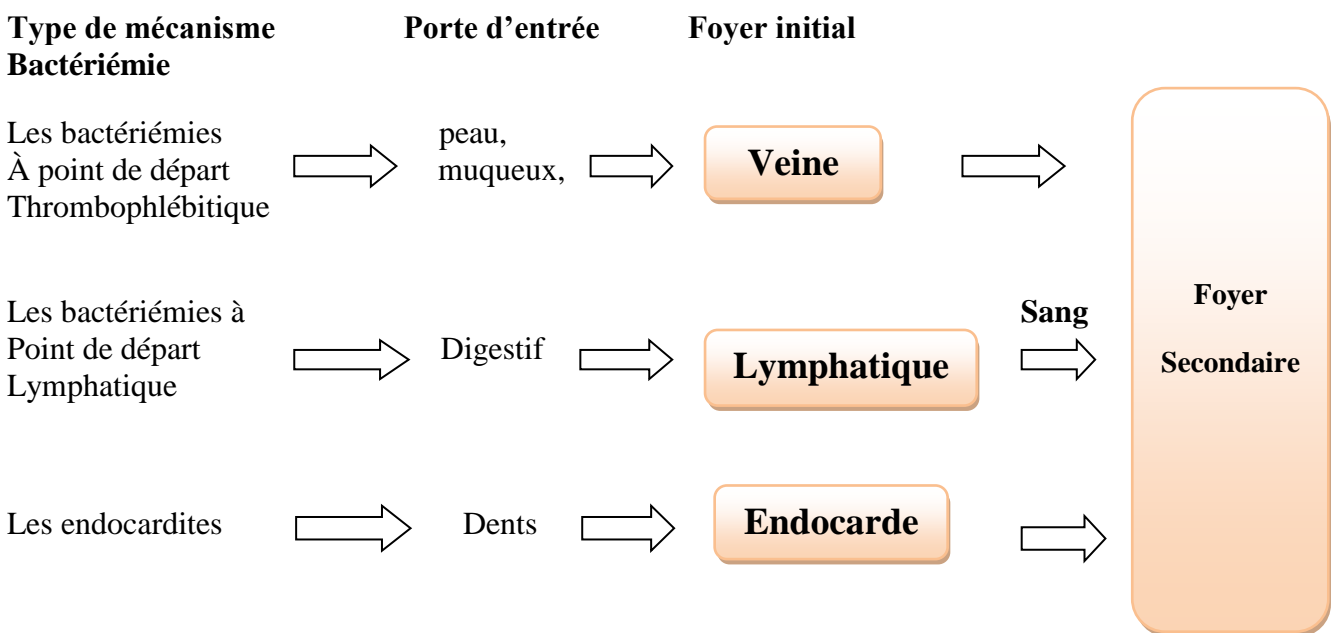


Figure 1 : Les trois principaux mécanismes des bactériémies.

a. Mécanisme thromboembolique :

C’est une atteinte de l’endothélium veineux à partir d’une porte d’entrée cutanée (plaie, Infection de brûlure, pose de cathéter) ou muqueuse (rhinopharynx, appareil génital) à l’origine d’une thrombophlébite (inflammation d’une veine accompagnée d’un caillot sanguin au siège de l’inflammation). Certains germes comme *S. aureus* peuvent même contribuer à la formation de ce caillot en produisant une coagulase. Les microorganismes migrent à l’intérieur du caillot et s’y multiplient à l’abri de la phagocytose. Sous l’action d’enzymes microbiennes protéolytiques comme les fibrinolysines, le caillot est ensuite dissocié en petit fragments (emboles septiques)

qui suivent le courant sanguin et le germe présent au niveau du caillot passe périodiquement dans le sang. Ces emboles sont suffisamment petits pour être rapidement phagocytés mais quelquefois certains y échappent et développent des foyers infectieux secondaires (pulmonaires, ostéoarticulaires, Endocarditique).

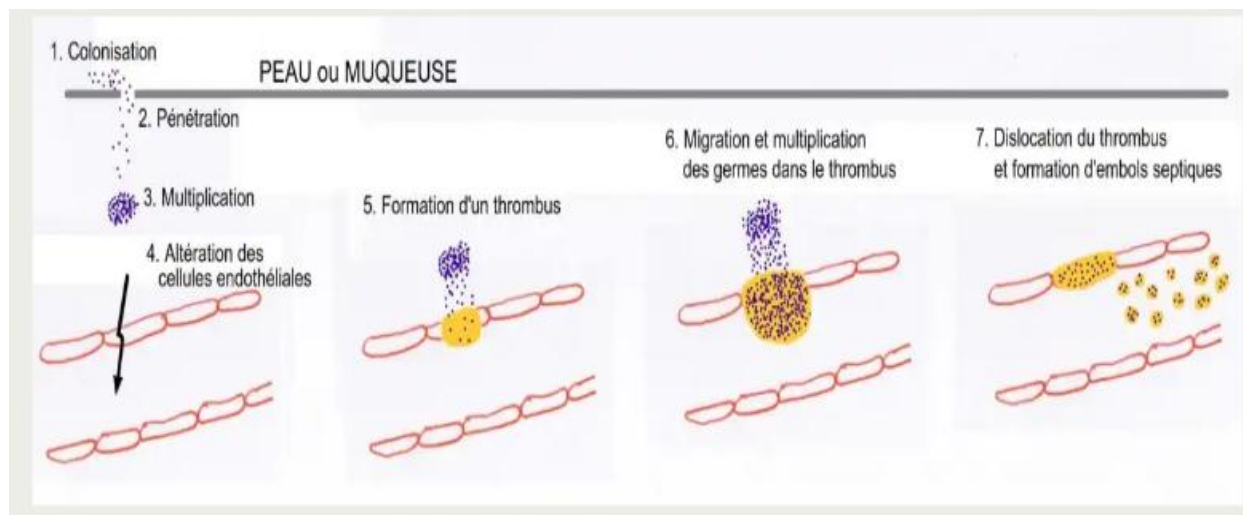


Figure 2 : Mécanisme des bactériémies d'origine thromboembolique **Pascal Fraperie**

Dans ce type de bactériémie, la fièvre est irrégulière : chaque décharge bactérienne se manifeste par l'apparition d'un clocher thermique.

Ces bactériémies sont les plus fréquentes. Les germes en cause sont très nombreux :

Coques à Gram positif : les staphylocoques notamment *S. aureus*, les *Streptocoques D* et le pneumocoque.

Bacilles à Gram négatif : les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*.

Coque a Gram negative: *Neisseria meningitides*.

Bactéries anaérobies strictes : *Bacteroide fragilis*.

b. Mécanisme lymphatique :

Elles sont rares. La porte d'entrée est souvent digestive. Les bactéries gagnent les ganglions lymphatiques par les vaisseaux lymphatiques afférents. Certains germes résistent à la destruction par les macrophages, se multiplient, quittent le ganglion par le vaisseau lymphatique efférent et rejoignent la circulation générale par le canal thoracique.

La décharge bactérienne est continue, la fièvre plutôt régulière.

Les bactéries restées au niveau des ganglions mésentériques, sont souvent lysées ce qui libère leur endotoxine dans le sang. Le risque de choc endotoxinique est fréquent.

Ce schéma pathogénique est typique de la typhoïde et de la brucellose (*Brucella spp* responsable de la fièvre de Malte). La peste bubonique est également une bactériémie d'origine lymphatique.

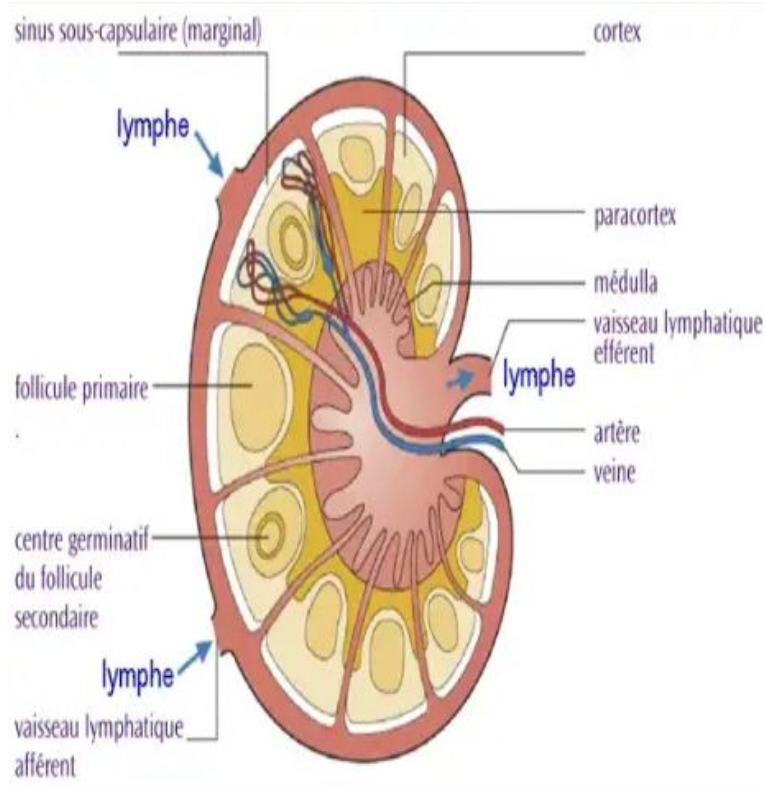


Figure 3 : Ganglion lymphatique ^[21]

c. Mécanisme endocarditique ou l'endocardite infectieuse :

Le cœur est un muscle creux, qui réunit deux parties indépendantes :
Le cœur droit et le cœur gauche.

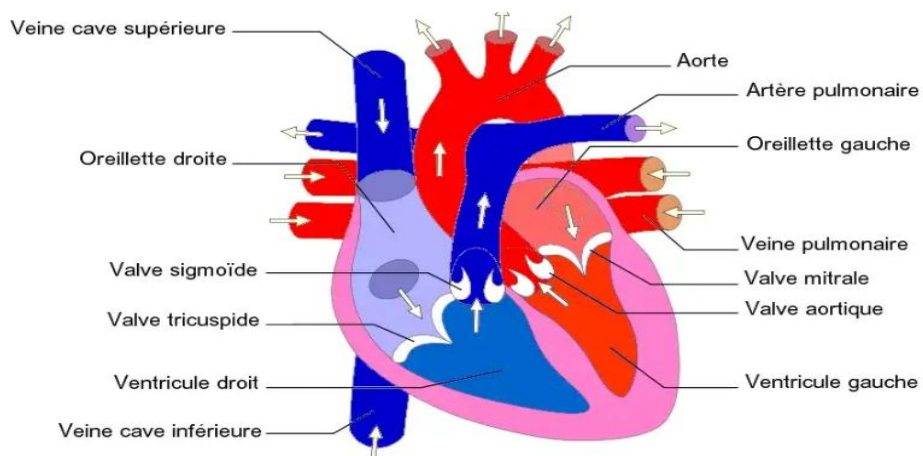


Figure 4 : Circulation du sang dans le cœur à partir de CC-BY-SA-3.0, via **Wikimedia Commons**

Chaque partie, droite et gauche, est constituée d'une oreillette qui reçoit le Sang des veines, et d'un ventricule qui en se contractant expulse le sang dans les artères.

L'endocarde est un endothélium, qui tapisse la surface interne du cœur et recouvre-les valves cardiaques.

L'endocardite infectieuse résulte de la colonisation, par des bactéries circulant dans le sang, d'une végétation Fibrinoplaquettaire initialement stérile qui s'est développe sur un endocarde lésé. Dès que les germes sont fixes, ils se multiplient et sont peu à peu recouverts de thrombocytes et de fibrine ; la végétation s'accroît par formation de couches successives.

Il peut y avoir plusieurs végétations. Elles mesurent de quelques millimètres à un centimètre ou plus. Très souvent, elles se situent sur les valves cardiaques et perturbent leur fonctionnement (leur étanchéité) à l'origine d'insuffisance cardiaque.

La population bactérienne au Sein de ces végétations infectées, est très élevée et les bactéries les plus profondément enfouies sont métaboliquement peu actives (défectives) et peu accessibles à l'action des antibiotiques.

La végétation septique constituée de fibrine, de plaquettes et de bactéries peut se fragmenter en embolies (septiques ou non) qui vont se disséminer dans l'organisme, l'infection se généralise, les complications sont multiples : risque d'embolies (Obstructions de vaisseaux notamment au niveau du SNC), d'infections à distance (Foyers secondaires : SNC, viscères abdominaux, os, articulations...) de vascularites (dépôts de Complexes immuns induisant une inflammation de la paroi des vaisseaux sanguins).

d. Autres mécanismes :

- Bactériémie par effraction :

Le plus souvent, le germe est introduit dans le courant circulatoire par le biais de dispositifs intravasculaires tels les cathéters, par le biais de matériel (sonde, drains, endoscopes...) ainsi que lors d'interventions dites « septiques » comme la chirurgie digestive. Ces bactériémies sont redoutables lorsque les défenses immunitaires des malades sont très diminuées. Les agents étiologiques sont donc ceux des infections nosocomiales : *Staphylocoques*, *entérobactéries*, *Pseudomonas*, *entérocoques*, *Acinetobacter*.

- Bactériémie néonatale :

Le fœtus et le nouveau-né se défendent mal contre l'infection car leur système immunitaire n'est pas encore achevé. Ils peuvent être contaminés par l'intermédiaire du système vasculaire placentaire ou au moment de l'accouchement (au moment du passage à travers la filière génitale). Les principaux germes responsables de bactériémies sont : le *Streptococcus agalactiae*, *E. coli K1* ou *Listeria monocytogenes*.

I.4. Distinction entre bactériémie et septicémie :

Ces deux notions ayant en commun la présence de bactéries dans le sang, sont cependant à distinguer :

1. malgré sa latence clinique, une bactériémie peut se manifester par une élévation fébrile passagère éventuellement accompagnée de quelques frissons ;
2. les portes d'entrée sont souvent les mêmes et ne sont pas un argument de diagnostic différentiel ;
3. les bactériémies peuvent se compliquer de métastases septiques lorsqu'elles se greffent sur un organe déjà pathologique. L'exemple typique en est l'endocardite d'OSLER secondaire à une simple bactériémie greffée sur une valvulopathie congénitale ou acquise. ^[28]

L'utilisation du terme de septicémie diffère selon les écoles; Pour les Anglo-Saxons, il n'y a pas de différence entre bactériémie et septicémie et le plus souvent, seul le terme de bactériémie est utilisé. En France, on considère qu'une bactériémie est la « présence d'un germe pathogène dans le sang authentifié par des hémocultures positives » et que la septicémie est définie comme : « un état infectieux grave avec bactériémie ». ^[29]

I.4.1. Définition de la septicémie :

Une septicémie est une infection généralisée causée par une bactérie. Elle provoque une inflammation importante. La maladie est connue depuis longtemps, puisque le terme de septicémie a été créé en 1837 par un médecin français, Pierre Piorry. Actuellement les infectiologues tendent à remplacer le terme de septicémie par celui de « bactériémie associée à un sepsis » : Bactériémie signifiant circulation de bactéries dans le sang et sepsis c'est une réponse inflammatoire généralisée, suite à une infection grave. Le mot septicémie reste encore largement utilisé par le grand public et les médecins. ^[9]

La septicémie est un état infectieux généralisé et donc grave, dû à des décharges massives de germes dans le sang. Il en résulte dissémination par voie sanguine, donc vers tous les organes du corps de ces germes pathogènes. ^[6]

I.4.2. Evolution du sepsis :

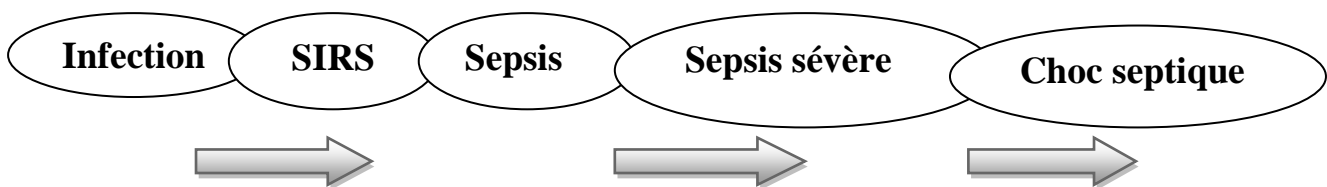


Figure 5: Evolution de la gravité des syndromes septiques ^[30]

Ces différents stades sont le plus souvent associés à une bactériémie.

I.4.2.1. Syndrome de réponse inflammatoire systémique SRIS :

Réponse inflammatoire due à diverses agressions : infections, pancréatites, ischémie, polytraumatisme, choc hémorragique. ^[31]

On parle de SRIS lors de l'association d'au moins deux des signes Suivants :

La température corporelle $> 38^{\circ}\text{C}$ ou $< 36^{\circ}\text{C}$; rythme cardiaque > 90 battements/min ; rythme respiratoire $> 20/\text{min}$ ou hyperventilation se traduisent par une $\text{PaCO}_2 < 32 \text{ mm Hg}$ ($< 4,3 \text{ KPa}$) en air ambiant ; leucocytes $> 12000/\text{mm}^3$ ou $< 4000/\text{mm}^3$ ou $> 10 \%$ de cellules immatures (en l'absence d'autres causes connues). ^[32]

I.4.2.2. Sepsis :

Ce syndrome associe au moins deux critères de SRIS et une infection présumée ou identifiée. ^[33]

I.4.2.3. Sepsis severe :

C'est un sepsis associé à une défaillance organique (acidose métabolique, hypoxémie, encéphalopathie aigue, oligurie) et des troubles de la perfusion (hypotension non réfractaire au remplissage). ^[31]

Il correspond à un sepsis avec une hypotension conduisant à une mauvaise alimentation des organes se traduisant par la défaillance d'au moins un organe (rein, foie, cerveau, etc.). ^[19]

I.2.2.4. Choc septique :

Conséquence d'une septicémie : sepsis sévère associé à une hypotension artérielle persistante malgré un remplissage vasculaire adéquat (d'où nécessité d'agents inotropes vasoactifs). ^{[13][31]}

Il s'accompagne souvent d'un syndrome de défaillance multiviscérale (SDMV) avec plusieurs organes affectés (cerveau, rein, poumon, foie, cœur).

Le SDMV : présence de plusieurs défaillances d'organes nécessitant des manœuvres de réanimation pour permettre le maintien en vie du patient. ^[33]

Chapitre II

Hémoculture

II. Hémoculture :

II.1. Historique : ^[34]

Au milieu du XIX^{ème} siècle, c'est l'étude d'une maladie particulière « le charbon » maladie infectieuse causée par une bactérie : *Bacillus anthracis*, fréquente chez les moutons et le bétail, qui a permis d'établir que des « germe microscopique » étaient la cause d'une maladie.

En 1850, DAVAINÉ, un médecin Parisien fait un examen microscopique du sang d'un mouton mort de charbon, alors appelé « sang de rate » et observe des bâtonnets plus ou moins longs et flexueux. Mais la microbiologie n'étant pas encore née, DAVAINÉ ne rend pas ces infusoires responsables de la maladie.

En 1860, DELAFOND à Alfort trouve l'idée de mettre « en culture le sang en dehors de l'organisme ». A cet effet, il prélève du sang sur les animaux malades du charbon encore vivants et aussi sur des cadavres. Ce sang est « déposé dans les petits vases en verre à ouverture élargie et placés à l'air libre. Quatre jours après, les baguettes avaient augmenté du double et du triple de leur longueur ».

Le but qu'avait DELAFOND d'étudier les variations morphologiques des éléments microscopiques était atteint, bien qu'aucun milieu nutritif n'ait été utilisé à l'époque avec la notion d'hémoculture.

Il faut cependant attendre 1863 pour que DAVAINÉ affirme avec PASTEUR que les éléments microscopiques qu'ils ont nommés « bactéries » étaient responsables du charbon. Et dès 1865, le rôle que joue, la « culture du sang », apparaît dans les travaux de Louis PASTEUR (1822 – 1895). Il s'agit d'une part, de ses recherches sur la bactérie charbonneuse et d'autre part sur la « théorie des germes et ses applications à la médecine et à la chirurgie » parues en 1878. PASTEUR met alors en évidence la virulence du germe cultivé en dehors de l'organisme, la stérilité du milieu sanguin dans les conditions normales et la possibilité de réaliser une culture pure in vitro des bactéries isolées d'un animal charbonneux.

Notons que L. COZE et V. FELTZ (professeurs à la Faculté de Médecine de Strasbourg) avaient dès 1866 relaté des faits similaires. Les recherches se poursuivent sur les milieux de culture, les mieux appropriés ainsi que sur la méthode de prélèvement. La recherche d'un « bon milieu de culture » pour faire « se reproduire » le micro- organisme découvert dans le sang est donc un élément capital.

Mais, très tôt, un autre problème sera soulevé par PASTEUR, celui des souillures extérieures, en particulier à partir des germes atmosphériques. La nécessité de travailler de façon aseptique constituera alors l'une des principales difficultés techniques de l'hémoculture. PASTEUR constate par ailleurs que certains germes du sang de l'animal charbonneux ne poussent que lorsqu'il fait le vide dans ses tubes de culture avant de les fermer à la lampe. Ainsi naissait la notion d'hémoculture anaérobie.

Notons que les premiers cas de maladies humaines où la culture du sang a été employée semblent être ceux de septicémies puerpérales.

Le 11 mars 1879, PASTEUR, à l'Académie de Médecine de Paris, rapporte des cas de culture en clinique humaine. La technique utilisée pour le prélèvement est une « piqûre à l'index de la main gauche, qui avait été préalablement convenablement lavé et essuyé avec un linge flambé ». La nature du milieu de culture n'est évidemment pas négligeable. PASTEUR évoqua alors « la nécessité d'un milieu de culture approprié pour chaque germe ». Malgré toutes ces précautions, bon nombre d'hémocultures restaient négatives, ce qui conduit PASTEUR à étudier les principaux facteurs de stérilités :

les germes peuvent être rapidement détruits par le sang d'où leur disparition rapide, même lorsque le prélèvement contient des germes ; le choix du milieu de culture est primordial ; la destruction de certains germes par l'oxygène de l'air impose de cultiver le sang en milieu anaérobie en plus du milieu aérobie ; la quantité de sang prélevée par piqûre de la pulpe de l'index est insuffisante, les germes peuvent ne pas se trouver qu'en très petit nombre dans la circulation sanguine. Les principes de l'hémoculture se trouvaient ainsi posés par PASTEUR qui avait déjà pressenti ces difficultés. Vers 1880, on voit donc se multiplier les cultures bactériologiques du sang au cours de maladies humaines variées. En France, les disciples de PASTEUR sont de plus en plus nombreux (même si les résistances sont nombreuses également) et persuadés du rôle du sang dans le transport de germes d'un point à un autre de l'organisme. Parmi eux, retenons Jacques DOLERIS, obstétricien hospitalier qui, faisant des travaux sur la fièvre puerpérale décrit une des premières techniques de l'hémoculture. Le prélèvement est pratiqué de façon aseptique à la pulpe du doigt et, si possible en plusieurs endroits du corps (lobule de l'oreille, orteil médian du pied, poignet droit etc...). Les ballons de culture possèdent un col effilé et un bouchon de verre prolongé par un tube muni d'ouate stérile. On ensemence une goutte de sang et le ballon est porté à l'étuve à 36 °C. Et s'il reste limpide après 36 heures, c'est qu'aucun organisme ne s'y est développé soit parce que le liquide ensemencé ne contenait pas de germe, soit que le microbe en expérience n'a pas trouvé dans le ballon un milieu approprié à son développement. La multiplicité des cultures est recommandée afin d'éliminer les causes d'erreur.

Malgré les difficultés rencontrées, DOLERIS semble bien être le premier à avoir systématisé la pratique de l'hémoculture en milieu hospitalier. De plus, DOLERIS souligne que la culture de sang ne peut être positive à tout moment de la maladie, qu'une culture négative peut se voir en pleine évolution, et il faut alors attendre une poussée thermique ou des frissons pour que le germe soit cultivé. Notons qu'à cette époque les hémocultures donnaient des poussées microbiennes bien souvent à la phase terminale de la maladie que durant la phase organique ou post-mortem.

ROSEMBACH, en 1884, est l'un des premiers à avoir obtenu une hémoculture positive au cours de l'évolution de la maladie.

II.2. Définition :

L'hémoculture (hémo=sang, culture) consiste à mettre le sang dans un milieu de culture approprié favorisant la pousse des bactéries présentes, afin d'être identifié. L'hémoculture permet de faire le diagnostic d'une bactériémie ou d'une fongémie. ^[35]

L'hémoculture est un examen urgent, essentiel en bactériologie médicale, qui permet de mettre en évidence le passage de micro-organismes dans le sang, de les identifier et de caractériser leur profil de sensibilité aux anti-infectieux. De très nombreux agents pathogènes peuvent être isolés à partir d'hémoculture. Il sont soit d'origine communautaire, soit acquis à l'hôpital ou les bactériémies représentent entre 8 et 10 % des infections nosocomiales. Les situations cliniques et épidémiologiques sont très variées mais elles ont toutes un point commun : il s'agit de l'examen bactériologique pour lequel la relation entre le clinicien et le biologiste a le plus d'impact en terme de stratégie diagnostique et pronostic de l'infection. Pendant longtemps, les seuls outils disponibles au laboratoire étaient les techniques manuelles lourdes et mobilisant un technicien à temps complet. Ces dernières années, l'arrivée sur le marché d'automates efficaces a provoqué une véritable révolution en simplifiant considérablement la phase analytique. ^[36]

L'évolution de l'écologie microbienne hospitalière, dans laquelle s'installe de façon inquiétante des bactéries multi résistantes aux antibiotiques, conduits dans certains cas à des impasses thérapeutiques d'où l'intérêt d'une collaboration entre le clinicien et le microbiologiste. [37]

L'hémoculture est un élément capital du diagnostic, du pronostic et du traitement de nombreuses infections sévères s'accompagnant de passage bactérien dans le sang. [38]

L'importance de l'intérêt diagnostic et thérapeutique devant la diversité des états infectieux, explique sa prescription presque systématique en milieu hospitalier. Au cours des septicémies, le nombre de bactéries est souvent très faible. Il s'ensuit que la recherche de bactéries à l'examen direct est inutile, seule une culture est assez sensible pour révéler leur présence ; qu'une quantité assez importante de sang doit être mise en culture si on veut avoir une chance qu'elle contienne au moins une bactérie et que les délais de culture sont parfois longs. L'hémoculture n'est pas toujours praticable dans bon nombre d'hôpitaux africains et le clinicien est souvent contraint de suspecter la bactérie causale afin de définir une attitude thérapeutique. En effet, rares sont les signes de certitude et le médecin raisonne plutôt par arguments de fréquence. [39]

La contamination des prélèvements par des germes soit lors du prélèvement soit lors du transport touche de 10 à 15 % des hémocultures réalisées, ce qui constitue un problème de gaspillage de matériels et une perte du temps pour le malade, d'où cet examen exige un respect strict des règles du prélèvement et du transport au laboratoire. [40]

Toute fièvre d'origine indéterminée, surtout si elle est accompagnée de signes cliniques évocateurs d'infection, doit faire pratiquer des hémocultures. Une hypothermie majeure ; avec une température à 36,5° C, doit faire rechercher un état septicémique. [41]

II.3. Indications de l'hémoculture :

L'hémoculture est un examen essentiel de double intérêt : diagnostic et thérapeutique. Ça nécessite une prescription médicale et de préférence avant toute antibiothérapie. L'hémoculture est effectuée devant :

Un sepsis sans point d'appel clinique avec frissons et/ou fièvre >38,3°C et/ou hypothermie (< 36°C), sepsis avec point d'appel clinique (méningite, pneumonie...), fièvre persistante inexplicée (endocardite ?), Choc inexplicé, maladie terminale, chez un immunodéprimé ; maladie rapidement fatale ; toxicomanie par voie veineuse. [42]

Le moment du prélèvement est capital. Pour une bactériémie discontinue, la recommandation internationale est en faveur du moment des frissons ou un clocher thermique pouvant correspondre à une décharge bactérienne. Au cours des états fébriles prolongés et inexplicés, le moment du prélèvement importe peu. [43]

En l'absence de critères de gravité : 2 séries prélevées à 1h d'intervalle. En cas de critères de gravité (chute tensionnelle) : 2 séries prélevées simultanément ou à quelques minutes d'intervalle. Le prélèvement est effectué avant toute antibiothérapie dans la mesure du possible. Dans le cas contraire, une fenêtre thérapeutique est opérée pour effectuer les prélèvements. Les prélèvements sont effectués à un intervalle d'environ une heure pour 2 à 3 hémocultures. [44]

La répétition des prélèvements pour hémoculture se fera dans les cas suivants : pour un nouvel épisode fébrile après 48-72 heures d'apyrexie, pour le contrôle d'un traitement antibiotique à 72 heures d'une endocardite ou d'une infection endovasculaire, en cas d'agranulocytose fébrile avec bactériémie préalablement mise en évidence, en cas d'une fièvre persistante ou en cas d'une manœuvre invasive sur le même patient.

Parmi les Contre-indications d'hémoculture : prélèvement Sur un bras paralysé, sur une fistule artério-veineuse, sur un bras perfusé (pourrait fausser les examens), sur un bras présentant un plâtre ou une attelle. Bras du côté d'une mastectomie, ou si le patient est sous antibiothérapies.

Le Moment de prélèvement par rapport à la fenêtre thérapeutique : Selon ½ vie antibiotique et l'effet post antibiotique, durée d'arrêt de Fluoroquinolones et cyclines est supérieur aux autres antibiotiques. En général fenêtre antibiotique de 48-72h minimum. ^[45]

II.3.1. Intérêt des hémocultures en fonction du foyer infectieux présumé : ^[46]

II.3.1.1. Hémoculture et méningite :

Selon les recommandations de la SPILF 2008 / ESCMID 2016 :

L'examen d'hémoculture est réalisé systématiquement. Les hémocultures positives dans 50 à 75% des cas même si le LCR est négatif.

Positivité variable en fonction du germe : 75% pour le *pneumocoque* ; 50 à 90% pour *H.influenzae* ; 40 à 60% pour le *méningocoque*. L'administration d'antibiotique avant hémoculture diminue de 20% leur positivité.

II.3.1.2. Hémoculture et pneumonie :

Pour les pneumonies acquises en ville, en dehors d'une institution et PSI I ou II : hémocultures non recommandées.

Pour les patients hospitalisés en dehors de la réanimation (PSI : III et IV) : les hémocultures peuvent être recommandées.

Pour les patients hospitalisés en réanimation : hémocultures recommandées.

II.3.1.3. Hémoculture et infections ostéo-articulaires :

II.3.1.3.1. Spondylodiscite :

Selon SPILF 2007 :

Selon le germe on distingue deux modes évolutifs: évolution aigue en cas de bactéries pyogènes; et chronique en cas de tuberculose mais aussi d'infections à pyogènes refroidies par une antibiothérapie insuffisante. Une inoculation directe est très rare (après discographie, nucléolyse à la papaine ou cure chirurgicale de hernie discale).Il est fortement recommandé de faire des hémocultures même en l'absence de fièvre. Il est recommandé de faire des hémocultures dans les 4h suivant une biopsie disco-vertébrale.

II.3.1.3.2. Arthrite septique :

Selon Uçkay L. Int J Infect Dis2013 Goldenberg DL. Lancet 1998 : Hémocultures positives dans 50 à 70% des cas.

II.3.1.3.3. Infection sur prothèse ostéo-articulaire :

Hémoculture si fièvre ou signes généraux selon SPILF 2009.

Indication hémoculture même en l'absence de signes généraux selon accord d'expert - HAS 2014.

Hémoculture si fièvre, ou début brutal des symptômes ou infection suspectée... (BIII) - IDSA 2013.

II.3.1.4. Hémoculture et infection sur DVI (dispositifs veineux implantables):

Dès que fièvre : hémocultures DIFFERENTIELLES : pilier du diagnostic.

Deux paires d'hémoculture sur DVI en ponction unique et simultanément deux paires d'hémoculture en périphérie avec un même volume de sang. Si l'hémoculture sur KT est positive de plus de 2 heures avant HC périphériques. Ça confirme Infection sur KT.

II.3.1.5. Hémoculture et infection urinaire :

Selon les recommandations de SPILF 2014 :

Une hémoculture n'est pas nécessaire en cas de pyélonéphrite simple, par contre elle est réalisée en cas d'aggravation de cette dernière.

En cas de prostatite fébrile, l'hémoculture est réalisée pour le diagnostic (Positive dans 20% des cas, elle contribue au diagnostic microbiologique pour environ 5% des patients dont l'ECBU n'est pas contributif). Si absence de fièvre, l'hémoculture n'est pas recommandée.

II.4. Flacons et bouillons d'hémoculture :

Dans les flacons d'hémocultures, les bactéries peuvent se retrouver sous plusieurs formes : ^[47]

Intactes : soit sous forme libre dans le plasma, en phase de multiplication active et les bactéries vont alors continuer à se multiplier ; soit sous forme libre mais en phase de repos. Elles ne commenceront alors à se développer qu'à la fin de cette phase de latence correspondant à leur adaptation au milieu nutritif du flacon.

Lésées ou masquées : dans la circulation sanguine, divers systèmes permettent l'élimination des bactéries tels que le système anticorps-complément ou les polynucléaires et les monocytes qui vont phagocyter les bactéries, ou la présence d'antibiotiques qui vont léser les bactéries. Dans ces deux dernières situations, la culture peut être obtenue après une lyse des cellules ou bien une neutralisation du ou des antibiotiques ; Il est nécessaire de diminuer leur activité en diluant le prélèvement dans une grande quantité de milieu de culture. C'est aussi pourquoi il faut systématiquement subcultiver les hémocultures.

Cadavres : elles ne sont plus cultivables, mais certains de leurs constituants restent détectables (ADN, antigènes, toxines, etc.).

On ensemence généralement deux flacons pour chaque prélèvement, un flacon aérobie et un flacon anaérobie. Il y a aussi les flacons spéciaux ; qui sont d'autres types de flacons sont proposés en fonction de la clinique du patient par les fabricants ^[48]. Puisque l'isolement de bactéries anaérobies dans les hémocultures est en constante diminution, l'opportunité du flacon anaérobie pourrait être discutée, sauf lors de suspicion d'infections à point de départ gynécologique, oto-rhino-laryngologique ou colorectal. Cependant, certaines souches de streptocoques et d'entérocoques ont une croissance facilitée par une atmosphère anaérobie et de nombreuses bactéries aéro-anaérobies, voire aérobies strictes (*Pseudomonas aeruginosa* en présence de nitrates) peuvent cultiver en anaérobiose. Enfin, le principal gain tient au fait que l'ensemencement du flacon anaérobie double le volume de sang mis en culture. ^[49]

II.4.1. Flacons pour méthodes usuelles :

II.4.1.1. Milieu biphasique (Castaneda) :

IL associe un milieu solide et un milieu liquide. Proposé pour la culture de *Brucella* en afin d'éviter les ouvertures inopinées du ballon ou flacon d'hémoculture. Intérêt limité.



Figure 6 : Flacon de CASTANEDA (milieu biphasique) www.infirmiers.com

II.4.1.2. Milieu monophasique (citraté) : avec un bouillon liquide.

<http://disciplines.ac-montpellier.fr>



Figure 7 : Flacon citraté (www.cofrac.fr)

II.4.2. Flacons pour méthodes automatisées :

II.4.2.1. Flacons pour Bactec : Le milieu BD BACTEC™ PLUS avec résines permet une neutralisation rapide et efficace des antibiotiques ainsi qu'une compatibilité totale avec les examens directs (coloration, identification, biologie moléculaire). <http://www.geres.org> .



Figure 8 : Flacon pour Bactec <http://www.hopital-armees-brest.fr>

II.4.2.2. Flacons pour bact/alert : Le fond de chaque flacon contient un détecteur de CO₂ qui sert d'indicateur de la croissance bactérienne. . <http://disciplines.ac-montpellier.fr>.



Figure 9 : Flacon pour bact/alert <http://www.monografias.com>

La variété des micro-organismes pouvant être trouvés dans le sang s'est accrue à mesure que la proportion de malades immunodéprimés augmentait. Les espèces en cause sont nombreuses et ont des exigences nutritives variées. Le choix des espèces à rechercher et donc le choix du milieu de culture repose donc sur les données probabilistes, donc sur des critères cliniques. ^[50]

Le bouillon pour hémoculture doit favoriser la croissance des bactéries cliniquement importantes. Plusieurs bouillons sont utilisés : ^[51]

Bouillon cœur- cervelle ; bouillon trypticase-soja pour les aérobies; milieu au thioglycolate pour les anaérobies.

Un accent est mis sur la quantité de bouillon à ensemer. Dans l'idéal, l'O.M.S recommande de mélanger le sang avec dix fois son volume de bouillon soit pour 5 ml de sang un équivalent de 50 ml de bouillon. ^[52]

Au cours de ces dernières années, la composition des milieux utilisés a évolué, en partie grâce à l'arrivée des systèmes automatisés. Ils contiennent du dioxyde de carbone et des facteurs de croissance variés comme la L-cystéine ou le pyridoxal ou molécules à groupement « thiol » afin de faciliter la détection des bactéries de culture lente ou difficile, comme certaines espèces de streptocoques (*streptococcus adjacens*, *S. defectivus*), les bactéries du groupe HACCEK (*Haemophilus* sp, *Actinobacillus actinomycetem comitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenellacorrodens*, *Kingellakingae*) ou *Brucella* sp. Le groupement thiol neutralise un certain nombre d'antibiotiques, notamment les Aminosides. ^[53]

L'anticoagulant utilisé reste dans la majorité des cas le polyanétholsulfonate de sodium SPS, à une concentration comprise entre 0.025% et 0.05%. En plus de l'activité anticoagulante, le SPS empêche la phagocytose et inactive le complément, neutralise le lysosome et certains antibiotiques (Aminosides). Il possède néanmoins un effet inhibiteur sur la croissance de certaines bactéries (*Neisseria* sp, *streptobacillus moniliformis*). Il existe des milieux spécifiques favorisant la croissance des champignons. ^[54]

Le bouillon contient aussi du Saccharose, Une concentration de 10 à 15% de saccharose éviterait la lyse des bactéries à paroi déficiente. Son efficacité n'est cependant pas encore démontrée. Le

Bouillon du flacon à atmosphère en pression réduite et du CO₂, utilisés pour favoriser la culture des *Brucella*, *Neisseria*, *Campylobacter*, *Streptococcus*. [55]

De nombreux fabricants proposent des milieux qui contiennent des inhibiteurs d'antibiotiques : [56]

Les résines à échange de cations établissent des liaisons ioniques avec les antibiotiques chargés positivement, tels les aminosides, Les résines polymériques adsorbantes se lient aux régions hydrophobes de la quasi-totalité des antibiotiques.

Ou bien le charbon activé Pour la détection de *S. aureus* et des Entérobactéries, mais pas pour les bactéries non fermentaires ni les levures.

Autres inhibiteurs antibactériens : [57]

La pénicillinase inactive les β-lactamines en occurrence les pénicillines, L'acide para-amino-benzoïque neutralise les sulfamides. Si divers milieux sont proposés, leurs compositions sont le plus souvent l'objet de protection industrielle.

Une mesure utile et, semble-t-il, peu souvent prise en considération est de réaliser les prélèvements pour hémocultures, "à la vallée", à distance de l'administration des antibiotiques. [58]

Pour les facteurs de croissance. L'hémine, la vitamine K₃, favorisent le développement des bactéries exigeantes et des anaérobies. [59]

Une incubation de 37°C de 7 jours pour les méthodes conventionnelles et de 5 jours pour les automates est suffisante dans la majorité des cas. Cependant, un temps d'incubation plus long est nécessaire lorsque une bactérie à culture difficile est suspectée ou dans des contextes cliniques particuliers (endocardite, patients sous antibiothérapie). [60]

Chapitre III

Epidémiologie des

Bactériémies

III. Epidémiologie des bactériémies :

III.1 Incidence-Origine des bactériémies

Chaque année plus de 18 millions de cas de bactériémies sont recensés dans le monde. ^[61]

L'enquête de prévalence nationale en France de l'année 2012, a chiffré : 5,3 % patients avaient une Infection nosocomiale dont les micro-organismes en cause, étaient :

Bactéries 95%, Champignons et levures 3,7%, Virus 0,4% et Parasites 0,2%.

Les bactériémies ont occupé 10,1% de l'ensemble des autres infections nosocomiales (Infections urinaires 29,9%, les pneumopathies 16,7%, les infections du site opératoire 13,5%). ^[62]

Des épisodes de bactériémies diagnostiqués chez les patients hospitalisés dans le Service de Médecine Intensive Adulte (SMIA, 32 lits médicaux et chirurgicaux) du Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV, Lausanne, Suisse) ont été analysés sur une période de 12 mois allant du 01.10.2009 au 30.09.2010. Ils ont trouvé un total de 103 patients, ce qui correspond à une incidence de 49.3/1000 admissions ou de 11/1000 journées d'hospitalisation.

Sur 103 patients, ils ont extrait : 70 cas liés aux soins (68%) dont 62 cas nosocomiaux (63%). Les bactériémies nosocomiales sont fréquemment liées aux cathéters (26%). La deuxième origine des cas nosocomiaux était digestive (24%), entre autres en cas d'examen invasifs (7%) tels que les ERCP (Endoscopic Retrograde Cholangio Pancreatography) ou les OGD (Oesophago-Gastro-Duodenoscopy). La troisième cause de bactériémies nosocomiales est constituée de pneumonies (15%) induites par des broncho aspirations ou par la ventilation mécanique. Les septicémies liées aux soins étaient en grandes majorités d'origine urinaire (63%). Un quart des cas concerne des cathéters intra vasculaires de longue durée (port-à-cath, dialyse) ^[63]

Dans le même contexte, 133 bactériémies liées aux cathéters centraux, survenues chez 125 patients pour 69 unités de soins intensifs de INSPQ - Institut National de Santé Publique - Québec , 2017 Canada, entre le 1er avril 2016 et le 31 mars 2017. Le taux d'incidence était de 0,91 par 1 000 jours-cathéters dans les unités coronariennes, de 0,62 dans les unités universitaires adultes, de 0,46 dans les unités non universitaires adultes, de 2,16 dans les unités pédiatriques et de 2,78 dans les unités néonatales. D'après leur étude, les taux d'incidence de 2016-2017 ont été diminués par rapport aux taux de 2012-2016 dans les unités néonatales, mais ils sont demeurés stables dans les autres unités. ^[64]

Concernant le service Onco-hématologie, les cathéters veineux centraux (CVC) constituent une source importante de bactériémies. Trente-et-une bactériémies liées aux cathéters (BLC) ont été colligées chez 29 patients (2 patients avaient 2 BLC), selon le résultat d'une étude qui a inclus des patients ayant présenté une bactériémie liée au cathéter (BLC) au Centre National de Greffe de Moelle Osseuse (CNGMO) TUNIS, TUNISIE, entre janvier 2007 et décembre 2016. Ces patients étaient suivis essentiellement pour leucémie aigüe (39,1%), myélome multiple (21,7%) et aplasie médullaire (17,4%) et ont reçu une allogreffe (61%) ou une autogreffe (39%) de cellules souches hématopoïétiques. ^[65]

Sans oublier les bactériémies néonatales, le service de néonatalogie est un service à risque où les patients sont fragiles avec une immaturité immunitaire. Ces bactériémies peuvent avoir deux origines: maternofoetale (MF) ou nosocomiale (N). Sur 182 flacons d'hémocultures positifs de

l'unité de néonatalogie, service pédiatrie, unité Hassiba Ben Bouali Blida ont trouvé 12 (6,59%) cas d'origine maternofoetale contre 170 (93,41%) cas d'origine nosocomiale, durant la période: Aout 2007-novembre 2011. ^[66]

Concernant les épisodes communautaires, sur 103 patients, ils ont extrait 33 cas communautaires (32%) selon l'étude des bactériémies réalisées au niveau du Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV, Lausanne, Suisse) sur une période de 12 mois allant du 01.10.2009 au 30.09.2010 ^[63] où l'origine principale était respiratoire (33%), suivie de celle abdominale (24%), puis urinaire (9%).

III.2 Profil bactériologique et la résistance aux antibiotiques :

Le type de microorganismes varie principalement selon l'origine des bactériémies.

D'après l'étude citée auparavant de 12 mois du CHUV ^[63], les bactériémies nosocomiales sont plus fréquemment provoqués par des germes Gram négatif (54%) dont les entérobactéries comme les *Escherichia. coli* (50%) ou les *Klebsiella. pneumoniae* (38%), les non fermentants tels que les *Pseudomonas aeruginosa* (21%). Les Cocci Gram positif tels que *Staphylococcus. epidermidis* (11%) ou *Staphylococcus. aureus* (16%), *Entérocoques* (19%). Concernant les épisodes communautaires, les principaux germes trouvés étaient des Cocci Gram positifs représentés par *Streptococcus. pneumoniae* (21%), des *S. aureus* (18%) et des Entérobactéries comme *E. coli* (18%).

Au niveau du CHU Angers, France de 2010 à 2014, 44 des bactériémies nosocomiales ont été diagnostiqué, dont 25% étaient dûes à *Acinetobacter baumannii* (AB) (11cas) et 75% à *Acinetobacter pittii* (AP) (33cas). 3 AB MDR (Multi-Drug Resistant) et 2 AB XDR (Extensively-Drug Résistant) ont été isolés. Aucune différence significative n'a été retrouvée entre les BN à AB et à AP en termes de durée de séjour avant la bactériémie, de mortalité à 30 jours, d'épisodes polymicrobiens, ou de site de l'infection. ^[67]

Au CHU de Rennes, des bactériémies à *Staphylococcus aureus* (BSA) étaient à 15% des bactériémies analysées dans une enquête rétrospective sur un an s'intéressant à tous les patients adultes hospitalisés. Sur 106 dossiers analysables, 83% SAMS et 70% de BSA nosocomiales. ^[68] Tandis que, entre le 1er avril 2016 et le 31 mars 2017, 89 installations de santé ont participé à la surveillance des bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), d'après le résultat de surveillance des bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistant à la Méthicilline 2016-2017 au Canada. Ces installations ont rapporté 66 Bactériémies nosocomiales à SARM. La proportion de la résistance à la Méthicilline parmi les bactériémies nosocomiales à *S. aureus* était de 12,1%. Ils ont trouvé une baisse de la proportion des SARM par rapport aux cinq années précédentes. ^[69]

Le profil bactériologique des isolats d'hémocultures aux services de Pédiatrie, Réanimation-Pédiatrique et Chirurgie Pédiatrique du CHU de Monastir-Tunisie, a trouvé 438 épisodes bactériémiques sur une période de cinq ans (2012-2016). ^[70]

Les bacilles à Gram négatif ont représenté 68% des isolats avec prédominance des entérobactéries (59,5% de l'ensemble des isolats). 261 entérobactéries ont été essentiellement représentées par 87 isolats de *Klebsiella pneumoniae*, 50 isolats de *Citrobacter koseri* et 48 isolats d'*Escherichia coli*. Les 37 BGN non fermentants ont inclus 14 souches d'*Acinetobacter baumannii* et 23 souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Les cocci à Gram positif (32% des

isolats) ont inclus essentiellement des SCN et *S. aureus* avec des taux respectifs de 17,8% et 7,7% de l'ensemble des isolats.

Les entérobactéries ont été résistantes au Céfotaxime dans 29,4% des cas, avec production de bêtalactamase à spectre élargi chez 54 isolats (dont 32 souches de *K. pneumoniae*). Les résistances à la Méricilline de *S. aureus* et des SCN ont été de 18,1% et de 65,8% respectivement. Ils ont répertorié 97 BMR (soit 22,1% de l'ensemble des cas) dont 80 entérobactéries. Les EBRC3G ont été résistantes à l'Imipénème, Gentamicine, Tobramycine, Amikacine, Ciprofloxacine, Cotrimoxazole et à la Tigécycline dans respectivement 6,7%, 72,5%, 68,3%, 25%, 46,6%, 43,7%, 18,7% des cas.

Dans les bactériémies néonatales, d'après l'étude réalisée à la clinique Hassiba Ben Bouali, unité de néonatalogie, le streptocoque B est la bactérie la plus redoutable responsable de bactériémies néonatales d'origine matérnofœtale (MF). Alors que les bactériémies néonatales nosocomiales (NS) sont causées par des bactéries multi-résistantes BMR. ^[66]

Dans ce contexte, les BGN ont colonisé le profil bactériologique 146 (78%) sur un total de 182 flacons d'hémocultures positives avec une prédominance : *Serratia marcescens* 73 (50%), *Klebsiella* sp 43 (29,4%), *Pseudomonas* sp 10 (7%), *Escherichia coli* 05 (3,4%). Versus, 36 (22%) hémocultures étaient positives à des Cocci Gram Positif (CGP) avec : Streptocoque B *Streptococcus agalactiae* : 12(33%), Entérocoque : 14 (39%), *Staphylococcus aureus*: 10 (28%). Le nombre de BGN qui ont synthétisé une BLSE: Beta Lactamase à spectre étendu était de 56 souches sur 146 (38%). Tous les BGN étaient sensibles à l'Imipénème sauf une souche naturellement résistante : *Stenotrophomonas maltophilia* (BGN oxydatif). 3 Entérocoques sur 14, ainsi que 3 Streptocoque B sur 12 étaient résistants à l'ampicilline. Tous les CGP étaient sensibles à la Vancomycine, 5 *S.aureus* résistant à la méricilline MRSA ont été isolé sur 10 souches de *S.aureus* (Staphylocoque doré).

Au contraire dans l'étude des bactériémies liées aux cathéters dans le service Onco-Hématologie ^[65] où Le ratio bacilles à Gram négatif (BGN)/Cocci à Gram positif (CGP) était de 0.72 (13 BGN/18 CGP). Les CGP étaient tous des staphylocoques à coagulase négative (SCN), dominés par *S. épidermidis* (14/18). Pour les bacilles, les BGN non fermentants étaient majoritaires (10/13), dominés par *S. maltophilia*, *B. cepacia* et *A. baumannii*, suivis des entérobactéries (3/13). Selon cette étude, Parmi les 18 souches de SCN, 15 étaient résistantes à la Méricilline, 10 à la Gentamicine et trois à la Teicoplanine. Parmi les 10 souches de BGN non fermentants, quatre étaient résistantes à l'association Pipéracilline-Tazobactam (PTZ), six à la Ceftazidime, sept à l'Imipénème, trois à la Ciprofloxacine et cinq à l'Amikacine. Les entérobactéries étaient Toutes sensibles à l'association PTZ, à la Ceftazidime, à l'Imipénème, à la Ciprofloxacine et à L'Amikacine.

Chapitre IV

Rôle du laboratoire de Microbiologie dans le diagnostic des Bactériémies

IV. Rôle du laboratoire de Microbiologie dans le diagnostic des bactériémies :

IV.1. Prélèvement :

Pour les établissements de santé, le protocole de prélèvement des hémocultures doit être validé par le CLIN, après concertation avec le personnel de santé. Un prélèvement d'hémoculture correspond à l'ensemencement, à partir de la même ponction veineuse chez un malade donné, d'un ou plusieurs flacons selon que l'on recherche des bactéries aérobies et anaérobies ou des champignons. [71]

Le moment du prélèvement est capital. Pour une bactériémie discontinue, la recommandation internationale est en faveur du moment des frissons ou un clocher thermique pouvant correspondre à une décharge bactérienne. Au cours des états fébriles prolongés et inexplicables, le moment du prélèvement importe peu. [72]

Le prélèvement est effectué avant toute antibiothérapie dans la mesure du possible. Dans le cas contraire, une fenêtre thérapeutique est opérée pour effectuer les prélèvements. [72]

Il faut en conclure que 3 ou même 2 hémocultures par 24 heures sont suffisantes pour isoler la totalité des bactéries ou des levures responsables d'épisodes bactériémiques. Un espace de temps de 30 à 60 minutes entre deux prélèvements de sang a été recommandé. [73]

La ponction veineuse est la seule méthode valable pour prélever le sang en vue d'une culture bactériologique. Les autres sites de prélèvement, notamment les recueils de sang à travers un dispositif intra-vasculaire, augmentent de façon significative la fréquence des contaminants. Il est impératif de réduire au minimum aussi bien le risque de contamination du prélèvement de sang que le risque de l'exposition au sang du préleveur (VHC, VIH). [71]

La quantité de sang mise en culture est un paramètre fondamental car elle conditionne la sensibilité de l'examen. Elle doit être suffisante. Il existe une relation directe entre le volume de sang inoculé dans les flacons d'hémoculture et le rendement de la technique. [71]

Chez un adulte, La densité des bactéries présentes dans le sang est généralement très faible au cours des épisodes bactériémiques, de l'ordre de 1 UFC /ml (valeur médiane). La moitié des patients ont moins de 1 UFC/ml de sang. Un volume de 20ml de sang prélevé augmente le pourcentage de positivité de 30%, comparativement à un volume de 10ml qui est insuffisant.

Le paramètre le plus influent sur la sensibilité de l'examen est la quantité totale de sang mise en culture lors d'un épisode clinique plus que le nombre de flacons. Il existe une relation directe entre le volume total de sang cultivé et le rendement de la technique. Un volume insuffisant peut induire des faux-négatifs. Chez l'adulte, le volume minimum est de 20 ml de sang soit 10 ml par flacon. Le volume optimal par 24h est de 40 à 60 ml, soit 4 à 6 flacons correctement remplis. Limiter le nombre d'hémocultures à 3 par épisode clinique et par tranche de 24h. Eviter les « hémocultures solitaires », 1 hémoculture (2 flacons) prélevée sur 24h. Il est possible de prélever les hémocultures : en 2 ou 3 ponctions = « prélèvement multiple » ou en 1 seule ponction (4 à 6 flacons) = « prélèvement unique ».

Les deux stratégies de prélèvement présentent la même sensibilité à nombre de flacons égal. Cependant, il est préférable de privilégier la méthode par « prélèvement unique », qui permet de réduire le taux de contamination, réduire la fréquence d'« hémoculture solitaire », instaurer une antibiothérapie plus rapidement. Si les 4ers flacons sont bien remplis (> 8ml / flacon), il n'est pas nécessaire de prélever la 3ème paire. A l'inverse, en cas de volumes inférieurs, la 3ème paire permet d'obtenir un volume total conforme et de garantir une certaine sensibilité de l'examen.

En cas de suspicion d'endocardite ou de suspicion d'infection sur dispositif intra-vasculaire, ne pas prélever plusieurs flacons en 1 seule ponction. Il faut impérativement réaliser les hémocultures par « prélèvement multiple » dans ces deux cas de figure [74].

Chez l'enfant, le prélèvement d'hémoculture est difficile à maîtriser. Beaucoup d'hémocultures présentent en pratique un volume de sang insuffisant. Le volume optimal est difficile à déterminer du fait des éléments physiopathologiques spécifiques suivants : La concentration bactérienne dans le sang est plus élevée que chez l'adulte. Cela permet de limiter la quantité de sang à quelques millilitres chez le nouveau-né. La concentration bactérienne diminue avec l'âge, le volume de sang mis en culture doit être augmenté en conséquence ; Une approche rationnelle consiste à adapter le volume de sang mis en culture en fonction du poids de l'enfant (tableau 1). [71]

Tableau 1 : Volume du sang à mettre en culture en fonction du poids de l'enfant.

| Poids de l'enfant (kg) | Volumes de sang (ml) | | | | | | Volume total soustrait (%) |
|------------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------------------|
| | Culture 1 | | Culture 2 | | Culture 3 | | |
| | Aérobie | Anaérobie | Aérobie | Anaérobie | Aérobie | Anaérobie | |
| ≤ 1 | | 0,5 à 2 | | | | | 4 |
| 1,1-2 | | 1,5 à 4,5 | | | | | 4,5 |
| 2,1-12,7 | | 3 à 6 | | | | | 3 |
| 12,8-36,3 | 5 | 5 à 7 | 5 à 7 | 5 | | | 2,9 |
| >36,3 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 2,8 |

Le ratio sang-bouillon de culture est habituellement compris entre 1/5 à 1/10 (vol/vol). Un ratio plus important n'est pas préjudiciable à la croissance bactérienne, ce ratio permettrait de diluer de façon satisfaisante les substances inhibitrices présentes dans le sang (complément, lysozyme, cellules phagocytaires, antibiotiques). Pour certains flacons de systèmes automatisés, la dilution est plus faible (1/2.5 à 1/5). L'intérêt des flacons « pédiatriques » (ratio sang-bouillon adapté au volume de sang prélevé chez l'enfant) n'a pas été démontré ni même évalué. La Ponction veineuse périphérique est la seule méthode validée pour prélever le sang en vue d'une culture bactériologique. [71]

Pour le prélèvement multiple : 2 à 3 hémocultures échelonnées sur 24 heures (à renouveler si température supérieure à 38,5° C) ou 2 à 3 hémocultures espacées de 30 à 60 minutes, si l'antibiothérapie doit être débutée rapidement. 2ème série d'hémocultures : si 1ère série négative après 48-72 h (endocardite infectieuse). [75]

Les nouvelles recommandations, ce sont les prélèvements uniques, Par opposition, le prélèvement unique peut être justifié par le fait que, sur une période courte (une à quelques heures), la détection des bactériémies est équivalente lorsque les prélèvements sont espacés dans le temps ou réalisés simultanément. L'interprétation des contaminants est basée sur le nombre de flacons positifs et non pas sur le nombre de prélèvements. Les limites de prélèvements uniques : Le diagnostic d'endocardite. [76]

IV.2. Transport :

Les flacons d'hémoculture doivent être acheminés au laboratoire, dès que possible. En moins de 2 heures. En cas de fermeture du laboratoire pour les systèmes automatisés, il est recommandé de maintenir les flacons inoculés à température ambiante et non pas incubés à environ 35 °C avant leur introduction dans l'automate. Cela est susceptible d'entraîner un risque de faux négatif ou une augmentation du délai de positivité. Au contraire, en méthode manuelle, les flacons d'hémocultures sont incubés dès que possible. [77]

Pour l'acheminement des flacons au laboratoire il faut : fiche de renseignement du patient (une nécessité absolue) qui comporte les éléments suivants : nom et prénom du malade, date de naissance, lieu d'origine, profession, nom du service, numéro de la chambre et du lit, date d'admission à l'hôpital, des antécédents médicaux ou familiaux, thérapeutique antérieure aussi nom et prénom de la personne qui a fait le prélèvement. L'étiquetage du flacon doit être fait au lit du malade et comporte : nom et prénom du malade, l'âge, date d'hospitalisation, nom du service, numéro de la salle et du lit du malade. [78]

IV.3. Etude bactériologique des hémocultures :

L'hémoculture se fait sous hôte à flux laminaire pour éviter tout risque de contamination par des bactéries contagieuses.

IV.3.1. Critères de positivité des flacons :

La présence de microorganismes responsables de bactériémies communautaires comme *Streptococcus pneumoniae* et *Neisseria meningitidis*, de bactériémies neonatales comme *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes* ou ceux impliqués dans les bactériémies nosocomiales tels que *Staphylococcus aureus*, les *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, ne pose pas de problème d'interprétation particulier, même lorsqu'ils ne sont isolés que dans un seul flacon. La bactériémie témoigne dans plus de 90 % des cas d'une situation de pathogénicité. Pour d'autres microorganismes opportunistes d'origine environnementale ou commensale, la confrontation aux données cliniques et anamnestiques permet de préciser la gravité de réinfection. [79]

Pour l'examen macroscopique, il y a deux méthodes. Conventionnelle et automatique :

IV.3.1.1. Méthodes conventionnelle: [80]

Dès réception au laboratoire ; les flacons doivent être incubés à 35-37°C et inspectés régulièrement. Chaque jour ou mieux deux fois par jour, les flacons sont inspectés en vue de rechercher des signes témoignant d'une croissance visible.

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

Un dépôt flocculeux au-dessus de la couche d'hématies ; un trouble uniforme ou situé juste sous la surface (Bacilles à gram négatif aérobies, *Staphylocoque*, *Bacteroides*) ; une hémolyse, les bactéries en cause sont le Streptocoque, *Staphylocoque*, *Listeria*, *Clostridium*, *Bacillus* ; une coagulation du bouillon pour *Staphylocoque aureus*; une pellicule de surface ; la production de gaz carbonique (Bacilles à gram négatif aérobie-anaérobies) ; la présence de grains blancs à la surface ou à l'intérieur de la couche de sang.

La durée d'observation varie de 10 jours à un mois surtout pour les bactéries à culture lente (en cas de suspicion de brucellose ou d'endocardite infectieuse). Toute positivité d'un flacon

entraîne un examen microscopique. Il est à signaler que certaines bactéries comme les *Neisseria*, les *Haemophilus* et les *Campylobacter* troublent peu ou pas le bouillon de culture et que l'usage d'un flacon diphasique s'avère utile pour ces espèces.

IV.3.1.2. Méthode automatisée : il y en a quatre systèmes commercialisés actuellement en France : le système Bact/Alert® (Organon Teknika), le système Bio Argos Elite® (Biorad), le système Bactec® (Becton-Dickinson) et le système Vital® (bioMérieux).^[81] (tableau 2)

Tableau 2 : Caractéristiques des automates actuellement commercialisés en France

| Type | Principe de détection | Nbre de lecture quotidienne | Volume de bouillon par flacon |
|-------------|--|-----------------------------|-------------------------------|
| Bactec 9240 | mesure non invasive de CO ₂ par fluorescence | toutes les 10 mn | 25 ml |
| Vital | mesure de variation CO ₂ - H ₂ et/ou pH par fluorescence | toutes les 15 mn | 40 ml |
| BacT/Alert | mesure du CO ₂ par «sensor» indicateur de pH | toutes les 10 mn | 40 ml |
| Bio Argos | mesure du CO ₂ par infra-rouge à travers le verre | programmé 8 à 2 | 25 ml |

IV.3.2. Examen microscopique :

Devant une suspicion de flacon positif des examens directs sont réalisés. Un frottis coloré par la coloration de Gram (voir annexe 3) permet de repérer la présence de germes et orienter le diagnostic, La mobilité lorsqu'elle existe est évidente à l'état frais. Le prélèvement du bouillon peut être exécuté à l'aide d'une seringue montée après désinfection de l'opercule de caoutchouc.^[82]

IV.3.3. Antibiogramme d'urgence :

L'isolement d'une souche bactérienne à partir d'un prélèvement biologique et l'évaluation de sa sensibilité aux antibiotiques requièrent en général 48 heures. Face à ce délai, il est habituel que le traitement antibiotique soit institué juste après le prélèvement et choisi en tenant compte : du type de pathologie infectieuse ; des espèces bactériennes les plus fréquemment en cause dans cette pathologie ; des taux de résistance vis-à-vis des antibiotiques habituellement utilisés ou recommandés pour cette pathologie.

Réduire le délai entre le moment du prélèvement et le rendu du résultat de la sensibilité aux antibiotiques est donc une réelle préoccupation médicale, voire de santé publique, dans un but d'améliorer le bon usage des antibiotiques.^[83]

Après une incubation du flacon et la confirmation de la positivité de ce dernier grâce à l'examen direct, une suspension est préparée avec 10 ml d'eau physiologique et 3 gouttes du mélange bouillon-sang pour se rapprocher de 0.5 MF. Les gouttes sont prélevées à l'aide d'une seringue stérile et après la désinfection de couvercle du flacon, l'ensemencement s'effectue dans un milieu solide Mueller-Hinton par la méthode d'inondation. Il faut éliminer le surplus de la suspension et laisser sécher près du bec bunsen, la boîte doit maintenue fermée.

Après le dépôt des disques d'antibiotiques, une incubation de 24H est nécessaire pour effectuer une lecture pareille à celle de l'antibiogramme standard (mesure de diamètre d'inhibition : méthode décrite par la suite). Pour les Entérobactéries, les antibiotiques utilisés sont : Béta-lactamines (Céfotaxime et Ertapénème), Aminosides (Amikacine et Gentamycine),

Fluoroquinolones (Ciprofloxacine). Donc l'antibiogramme d'urgence représente une simple réalisation qui a l'avantage de gagner du temps aux patients pour restaurer le plutôt possible et dans les meilleurs délais (dans les 48H suivant le prélèvement) leur antibiothérapie convenable surtout pour les cas vulnérables. [84]

IV.3.4. Mise en culture :

Tout flacon positif (flacon classique ou flacon du système Bactec) est soumis à l'examen direct et à la subculture. Quelques gouttes sont prélevées et ensemencées par des stries serrées (4 cadrons) sur des milieux d'isolement solides appropriés. Les milieux de culture utilisés sont : milieu de gélose au sang cuit, qui est plus enrichi que le milieu de gélose au sang frais, ces deux milieux sont destinés pour le repiquage des bactéries dites exigeantes où elles ne peuvent pas pousser sur un milieu ordinaire ; milieu de gélose Hecktoen qui est un milieu lactosé , milieu de gélose Chapman contient du mannitol, les deux sont des milieux sélectifs, le premier pour les Bacilles Gram négatifs et le deuxième pour les staphylocoques et enfin la gélose nutritive qui est un milieu d'isolement non-sélectif pour les bactéries non exigeantes.

Ces milieux de culture sont ensemencés selon le cas et observés après 18-48H d'incubation. [85]

En cas de suspicion d'une brucellose ou endocardite infectieuse, l'incubation est prolongée jusqu'à 30 jours. Aussi, pour diagnostiquer une endocardite infectieuse, une strie de la souche *Staphylococcus aureus* est ajoutée à la gélose au sang frais à la recherche de l'espèce *Haemophilus sp* et des *Streptococcus deficiens* et qui nécessitent une incubation de cinq jours.

IV.3.5. Identification des espèces et interprétation :

L'incubation des milieux dure 02 jours, où la lecture des boites se fait chaque 24H à la recherche de colonies. Pour certaines situations cliniques et pour la recherche de certains germes exigeants l'incubation peut être prolongée jusqu'à 5 jours. L'implication du germe retrouvé et toujours corrélée avec les signes cliniques. L'absence de culture n'est confirmée qu'après la fin de la période d'incubation adéquate. L'identification des espèces impliquées se fera selon les méthodes microbiologiques usuelles.

IV.3.5.1. Tests biochimiques et métaboliques :

IV.3.5.1.1. Test à l'oxydase :

La recherche de l'oxydase, plus précisément du cytochrome C2 permet nous la différenciation d'un certain nombre de bacilles à Gram négatif non fermentatifs (oxydase positive) des entérobactéries (oxydase négative). [86]

IV.3.5.1.2. Test à la catalase :

Le test de la catalase est un examen important pour identifier les microorganismes, en particulier les bactéries à Gram positif. Cette enzyme est utilisée par les micro-organismes aérobies pour se protéger des produits toxiques de la croissance en aérobiose (c'est-à-dire peroxyde d'hydrogène). [87]

IV.3.5.1.3. Observation de la réaction d'hémolyse :

L'habileté des bactéries à lyser les cellules du sang contenues dans la gélose au sang frais est une caractéristique importante et utile pour leur identification.

Quelques bactéries ont besoin de plus d'un jour avant que ne soit observée une lyse des cellules du sang. Il faut une attention particulière pour observer la lyse des cellules. Typiquement, trois formes de lyse sont observées :

Bêta-hémolyse : C'est une lyse complète des globules rouges du sang. L'espace autour de la colonie bactérienne apparaîtra clair. Exemple : les Streptocoques du Groupe A et B, le *Staphylococcus aureus*.

Alpha-hémolyse : C'est une lyse incomplète des globules rouges du sang. L'espace autour de la colonie bactérienne apparaîtra verdâtre, comme le *Streptococcus pneumoniae*.

Hémolyse Gamma : Ce n'est pas une lyse des cellules du sang. ^[88]

IV.3.5.1.4. Test à l'optochine :

Le test à l'Optochine est une procédure simple utilisée pour l'identification de *Streptococcus pneumoniae*. Le disque d'optochine (P) contient l'Optochine qui inhibe la croissance de *Streptococcus pneumoniae*. Avant l'exécution du test, il convient de confirmer la ressemblance du micro-organisme à *Streptococcus pneumoniae*, c'est-à-dire diplocoques Gram-positif qui apparaissent allongés et attachés à leurs bouts. Les colonies sont alpha-hémolytiques, et peuvent apparaître aussi bien sèches que muqueuses. ^[89]

IV.3.5.2. Identification des bactéries :

Après la coloration de Gram (observation microscopique) et ensemencement sur les milieux gélosés (observation macroscopique) les souches sont identifiées selon les méthodes classiques. Les genres et les espèces sont différenciés sur la base des caractères biochimiques étudiés sur des milieux rassemblés dans la galerie d'identification (fermentation des sucres, décarboxylation d'acides aminés, production d'indole, d'acétoïne, ...etc.). Cette galerie peut être classique (voir annexe 4), ou bien galerie Api (analytical profile index) qui contient des micro-tubes prêt à l'emploi. La lecture se fait après une incubation de 24h à l'étuve. La positivité se traduit par un virage de couleur particulière. ^[90]



Figure 10 : Api 20 E

IV.3.5.2.1. Hémoculture à culture positive : Trois possibilités de lecture peuvent être données : ^[78]

- Première possibilité d'interprétation de résultat dans le cas où une seule hémoculture est Positive : infection avérée ou une contamination (*Staphylocoques à coagulase négative*, *Corynébactérie*, *Bacillus*, *Propionibacterium acnes*).
- Deuxième possibilité d'interprétation des résultats en cas d'hémoculture positive monomicrobienne : dans ce cas le résultat est significatif et dans un contexte évocateur de Septicémie.
- Troisième possibilité d'interprétation des résultats en cas d'hémoculture à positivité poly Microbienne, observée lors d'infections graves survenant sur : des terrains débilisés

(chimiothérapie, cancer, cirrhose, déficit immunitaire, chez le diabétique...), les infections cutanées sévères chez les brûlés, ou une contamination en absence de signes cliniques.

IV.3.5.2.2. Hémoculture à culture négative : Quatre possibilités peuvent être associées à cette négativité ou à des résultats faussement négatifs : ^[78]

- a. La première possibilité d'interprétation d'une hémoculture négative : prélèvement effectué après instauration d'une antibiothérapie.
- b. La deuxième possibilité d'interprétation d'une hémoculture négative : présence de bactéries à culture difficile qui nécessite des milieux de culture enrichis et un temps d'incubation plus long (bactéries du groupe HACEK, *Streptococcus déficients*, *Brucella sp.*,...) ou présence de bactéries non cultivables (*Coxiella burnetii*).
- c. La troisième possibilité d'interprétation d'une hémoculture négative : prélèvement effectué en dehors du pic fébrile.
- d. La quatrième possibilité d'interprétation d'une hémoculture négative : la quantité du sang prélevé insuffisante (inférieure à 2 ml chez le nouveau-né, inférieure à 3ml chez le nourrisson et le grand enfant et inférieure à 5 ml chez l'adulte).

IV.3.6. Etude de sensibilité aux antibiotiques :

Outre les résistances naturelles, les bactéries ont su développer au cours du temps des résistances dites acquises ; il est donc nécessaire d'évaluer in vitro la sensibilité des bactéries aux antibiotiques grâce à des tests effectués au laboratoire de bactériologie ; ces tests de sensibilité aux antibiotiques représentent la dernière étape du diagnostic bactériologique. Leur but est de dresser le profil de résistance d'une souche bactérienne, afin d'adapter l'antibiothérapie et aider le clinicien dans son choix thérapeutique.

IV.3.6.1. Antibiogramme : ^[91]

L'antibiogramme est réalisé selon les recommandations du CLSI, par la technique de diffusion de disque sur milieu gélosé.

Le principe de cette technique consiste à préparer une suspension bactérienne de 0,5 MF « l'inoculum », puis cette dernière est inoculée sur milieu Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans l'inoculum et frotté sur toute la surface de gélose Mueller-Hinton (MH).

Dépose les disques d'antibiotiques (il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90mm. Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus spp*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus spp.*....), ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90 mm) et presser chaque disque et ne pas déplacer les disques après application. La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée est mise en évidence selon *la Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle national*. Il faut respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie.

La lecture se fait par la mesure de diamètre d'inhibition et les résultats obtenus sont comparés aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes pour classer les bactéries dans l'une des trois catégories :

Sensible : les souches **S** sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est acceptable. On doit s'attendre à un effet thérapeutique dans le cas d'un traitement à dose habituelle par voie générale.

Résistant : les souches **R** sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique. On ne peut s'attendre à un effet thérapeutique quel que soit le traitement.

Intermédiaire : les souches **I** sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible.

Dans le cas de *Streptococcus* spp groupe *viridans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus* spp, la technique de l'antibiogramme n'est pas validée pour certaines molécules antibiotiques, par exemple : la Vancomycine. Pour ces molécules, la sensibilité de ces germes est appréciée uniquement par la détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI (exprimée en Microgramme par Millilitre), où les disques d'antibiotiques sont remplacés par les bandelettes E-test sur le milieu solide de MH. Après qu'elles sont frottées avec un écouvillon stérile trempé dans une suspension bactérienne 0,5 MF. La lecture se fait après une incubation de 24h, le point de lecture c'est où se croise la zone d'inhibition avec la bandelette.

Cas particulier : pour le Pneumococque, les E-test sont utilisées dans l'antibiogramme standard pour les Bêta-lactamines : Ampicilline, Céfotaxime, Penicilline G et l'Imipénème. Mais la méthode de référence recommandée par l'OMS reste la CMI en milieu liquide.

IV.3.6.2. Tests complémentaires :

Certains mécanismes de résistance chez les Entérobactéries ont été mis en évidence telles que la Bêta-Lactamase à Spectre Elargi (BLSE), la Carbapénémase et la Céphalosporinase.

IV.3.6.2.1. Recherche de la Bêta-Lactamase à Spectre Elargi (BLSE) : ^[91]

Les BLSE désignent des enzymes « β -lactamases » produites par les Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (Céfotaxime, Ceftriaxone, Ceftazidime) et des monobactames (Aztréonam), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des Céphamycines (Céfoxitine, Moxalactam) ni des carbapénèmes (Imipénème).

Selon les recommandations du CLSI (M100-S21), la recherche de la BLSE pour l'interprétation de la sensibilité des entérobactéries, *Pseudomonas* spp et *Acinetobacter* spp aux céphalosporines n'est plus obligatoire.

La détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.

La BLSE est recherchée devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes: Céfotaxime (CTX \leq 27mm), Ceftazidime (CAZ \leq 22mm), Ceftriaxone (CRO \leq 25mm), Aztréonam (ATM \leq 27mm).

Le test se fait soit par test de synergie ou technique de double disque.

Le test de synergie est positif se traduit par la formation de bouchon de champagne (voir annexe 5). En l'absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques de C3G.

Le test de confirmation ou technique du double disque (voir annexe 6) devra être fait systématiquement devant :

L'absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G, la présence d'une résistance aux molécules suivantes : Ampicilline, Ticarcilline, Céfazoline avec un diamètre $<$ 6mm, par contre l'AMC présente un diamètre d'inhibition.

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est ≥ 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G. (Voir annexe 6).

Il existe aussi le test à la Cloxacilline (Voir annexe 10) pour distinguer sur l'antibiogramme habituel les hypersécrétions des Céphalosporinases des BLSE.

L'utilisation des bandelettes E-test pour détecter les BLSE sont aussi pratiques mais chères. Elles ont été modifiées afin de quantifier la synergie entre les céphalosporines à large spectre et l'acide clavulanique. Les bandelettes nommées CT/CTL, TZ/TZL et PM/PML présentent d'un côté un gradient de Céfotaxime (CT), ou de Ceftazidime (TZ), ou de Céfépime (PM) et de l'autre côté un gradient de la même molécule associée à l'acide clavulanique (4 mg/L). Pour indiquer une éventuelle BLSE par la technique de l'E-test, il faut que le rapport de la CMI d'une C3G avec et sans inhibiteur de bêta-lactamase soit supérieur à huit (un rapport de CMI ≥ 8). L'interprétation des résultats des bandelettes E-test pour BLSE est délicate et exige un minimum d'expérience. En plus la détection de BLSE avec l'E-test peut échouer si les valeurs de la CMI de la Céphalosporine n'entrent pas dans la gamme de CMI disponible sur la bandelette. ^[92]

Le typage des BLSE se fait uniquement par les techniques de biologie moléculaire (PCR avec des amorces spécifiques) suivies d'un séquençage.

IV.3.6.2.2. Recherche de la Carbapénémase : ^[91]

Cette enzyme est retrouvée chez des bactéries opportunistes comme *P. aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*. Actuellement, elles sont décrites chez les entérobactéries.

A suspecter quand : Diamètre d'inhibition pour Méropénème et Imipénème < 22 mm
Diamètre d'inhibition pour Ertapénème < 21 mm, présence de colonies discrètes dans la zone d'inhibition des carbapénèmes (surtout Ertapénème), CMI (E-test) pour les carbapénèmes ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$, CMI (E-test) pour Ertapénème > 0.5 $\mu\text{g/ml}$, et habituellement ; résistance aux C3G (Ceftazidime, Céfotaxime, Ceftriaxone).

La classification d'Amblar les divise en :

a. Carbapénémases de la classe A d'Amblar :

Elles sont rares phénotypiquement, on distingue deux groupes :

Groupe 1: Présente un haut niveau de résistance à l'ATM et une sensibilité presque normale aux C3G, ces enzymes sont inhibées par l'acide clavulanique et par l'acide boronique, il n'y a pas de synergie entre Carbapénèmes et Cloxacilline. Elles ne sont pas inhibées par l'EDTA ou l'acide dipicolinique et l'ATM est hydrolyse par ces enzymes.

Groupe 2 : GES-2 présente une résistance de haut niveau à l'Imipénème et aux C3G.

Elles peuvent être détectées par :

1-Une synergie entre AMC et IMP, Cependant les souches productrices de ce type d'enzymes sont souvent multi résistantes avec la participation de plusieurs mécanismes de résistance enzymatique ou non. Pour cela, la détermination de la CMI d'une Carbapénème en présence ou non d'acide clavulanique par une méthode de dilution avec des variations de l'inoculum sera préférée

2-Test de Hodge modifié (voir annexe 7) : 100% de sensibilité et de spécificité pour la mise en évidence des KPC.

3-Méthode de référence : PCR et séquençage.

b. Carbapénèmases de classe B d'Ambler : Métallo-Carbapénèmases :

Il s'agit d'enzymes dépendantes du Zn⁺⁺ et inhibées par l'EDTA, d'origine plasmidique (les Gènes sont dans des cassettes au sein d'intégrons de type 1 sauf pour les gènes de l'enzyme SPM-1) .Elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique, Tazobactam, Sulbactam ou par l'acide boronique.

Les enzymes confèrent la résistance aux Pénicillines (la sensibilité à la Pipéracilline est variable selon le type d'enzyme), aux Carbapénèmes, aux C3G et aux Cephamycines ; seul l'Aztreonam n'est pas inactivé.

Il existe 3 groupes phylogéniquement différents : IMP, VIM, SPM-1.

Détectées par :

1-Inhibition par l'EDTA (Voir annexe 8)

2-Test de Hodge modifié : 100% de sensibilité et de spécificité pour détecter les Métallo-Carbapénèmases (même technique que pour l'enzyme KPC).

3-PCR+ Séquençage.

c. Carbapénèmases de classe D :

Les Oxacillinases ayant une activité de Carbapénèmase ont été décrites presque uniquement chez *Acinetobacter baumannii*, plus rarement chez *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les gènes ne sont pas portés par des intégrons.

Elles sont détectées par le test de ROSCO (Voir annexe 9).

IV.3.6.2.3. Céphalosporinase : ^[93]

Elle est suspectée lorsqu'il existe une résistance acquise aux C3G avec un test de synergie négatif en particulier chez les espèces non productrices de Case telles que : *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *Salmonella spp.* , *P.mirabilis*. Les Cases transférables (AmpC) inactivent les Aminopénicillines, l'Amoxicilline+Acide clavulanique, les uréidopénicillines, la Ticarcilline, les C1G, C2G, C3G et même les Céphamycines, Latamoxef et l'Aztréonam mais elles n'ont aucune activité vis-à-vis du Céfépime, du Cefpirome et des Carbapénèmes. Il est noté l'absence de synergie avec l'Acide clavulanique et avec l'EDTA.

Les Cases de type AmpC sont inhibées par divers inhibiteurs tels que la Cloxacilline, Le test à la Cloxacilline (voir annexe 10) est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de Cloxacilline à celui réalisé sur MH sans Cloxacilline.

IV.4. Un nouveau test de dépistage rapide : ^[94]

Pour détecter de manière précoce la septicémie, des chercheurs chinois ont mis au point un test qui reconnaît 10 des agents pathogènes bactériens les plus fréquemment retrouvés dans cette infection.

Les chercheurs de l'Hôpital de Zhejiang (Chine) ont mis au point un système de détection par PCR (Polymerase Chain Reaction), le « TaqMan Multiplex Real-Time PCR » qui est capable de détecter rapidement à partir d'échantillons de sang, 10 des agents pathogènes bactériens les plus fréquemment retrouvés dans les septicémies.

Ce système reconnaît les fragments d'ADN résiduels de la bactérie même si entre temps la charge bactérienne a été éliminée par le traitement ou le système immunitaire.

Chapitre V

Moyens de lutte contre les Bactériémies nosocomiales

V. Moyens de lutte contre les bactériémies nosocomiales :

Chaque établissement de santé définit sa propre stratégie de surveillance des infections nosocomiales en tenant compte des priorités nationales. C'est le CLIN qui a la charge d'établir cette politique avec la participation de l'ensemble des services concernés. La politique ainsi définie doit obtenir l'adhésion de la commission ou conférence médicale d'établissement et le soutien de la direction de l'établissement. Le CLIN définit précisément, en liaison avec la structure ou l'équipe opérationnelle d'hygiène hospitalière, les modalités de cette surveillance : services et patients concernés, types d'infections sous surveillance et informations collectées, modalités de collecte d'information (incidence, prévalence, personnels impliqués dans le recueil), règles pour la circulation de l'information et le respect de la confidentialité (déclaration à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés pour le traitement d'informations nominatives). Il est indispensable que la surveillance s'appuie sur une méthodologie validée (définitions standardisées, méthode de recueil validée...). (<http://solidarites-sante.gouv.fr>)

Les bactériémies liées aux cathéters intra-vasculaires sont des cibles de premier choix à inscrire dans un programme de surveillance du fait de leur sévérité et de leur caractère évitable. Les méthodes de prévention des bactériémies liées au cathéter sont maintenant bien connues. En pratique elles regroupent les points suivants : ^[95] L'insertion des cathéters veineux centraux en stricte asepsie chirurgicale (que le cathéter soit posé au bloc opératoire ou au lit du malade dans le service de réanimation) ; L'observance élevée de l'hygiène des mains lors de la manipulation des cathéters (du point d'insertion aux rampes et aux lignes veineuses) ; L'utilisation d'un antiseptique à base de Chlorhexidine pour l'insertion et l'entretien du cathéter veineux central ; L'utilisation d'un pansement transparent pour la surveillance visuelle quotidienne de l'état du point d'insertion ; La discussion quotidienne de l'indication du maintien du cathéter avec son retrait immédiat dès qu'il n'est plus nécessaire à la prise en charge du patient. Une observance élevée de l'hygiène des mains, en particulier de la friction hydro-alcoolique qui est actuellement la technique de référence de désinfection des mains, est un élément-clé de la prévention de la transmission des infections d'origine manuportée. En pratique, un seuil d'observance minimum de 70 % semble associé à une diminution des transmissions manuportées de micro-organismes ^[96]. L'informatisation de la gestion des informations sur les infections nosocomiales est systématiquement envisagée, le cas échéant après une période de mise au point manuelle. Le système d'information médicale développé dans l'établissement devrait contribuer à la surveillance des infections nosocomiales d'une part en facilitant l'accès aux informations utiles pour la surveillance des infections nosocomiales : diagnostics principaux et associés, actes et gestes thérapeutiques ou diagnostiques réalisés (notamment les actes de chirurgie), d'autre part en permettant l'enregistrement des infections nosocomiales dans les résumés standardisés de sortie sous réserve de la définition de modalités de codage adaptées.

La surveillance des bactéries multi-résistantes (BMR) peut permettre de détecter l'apparition de cas groupés d'infections ou d'épidémies. Toutefois, cet objectif oblige à une surveillance en temps réel et surtout à un retour d'information en temps réel qui est associé à une charge de travail lourde au quotidien et donc pose des problèmes de faisabilité. Ce qui explique qu'en pratique, c'est souvent le laboratoire de microbiologie qui alerte sur l'apparition de cas éventuellement groupés. Tous les services de réanimation ne présentent pas la même écologie en matière de BMR. Il est donc recommandé avant d'établir un programme de surveillance de ces bactéries de déterminer celles qui sont les plus prévalentes dans le service pour éviter de surveiller des événements rares, donc peu rentables au regard de la charge de travail associée à la

surveillance. Une fois le choix fait, il peut être intéressant d'organiser un dépistage des malades porteurs à l'admission et des acquisitions dans le service en incluant les colonisations et les infections. En général, les cibles BMR sélectionnées sont les staphylocoques dorés résistant à la méticilline (SARM), les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu, *Pseudomonas aeruginosa* multirésistants et/ou *Acinetobacterbaumannii*. Surveiller les SARM permet de disposer d'un indicateur de transmission manuportée des micro-organismes dans le service, ce qui n'est pas aussi clair pour les autres BMR qui émergent plutôt suite à une pression de sélection antibiotique. ^[97]

Partie

Pratique

1. Objectifs d'étude :

1. Déterminer la fréquence des bactériémies diagnostiquées à la clinique HBB du CHU de Blida.
2. Identifier les espèces bactériennes isolées des hémocultures à la clinique HBB du CHU de Blida.
3. Etudier l'antibiorésistance des bactéries isolées des hémocultures à la Clinique HBB du CHU de Blida.

2. Type d'étude :

Il s'agit d'une étude rétro-prospective descriptive du profil bactériologique des hémocultures à la clinique Hassiba Ben Bouali sur une période allant de mois de Mars 2016 au mois de Mars 2018 et un travail de paillasse de trois mois : de Janvier à Mars 2018.

3. Lieu d'étude :

Notre étude a été réalisée au niveau de laboratoire de Microbiologie de la clinique Mère-Enfant Hassiba Ben Bouali (HBB) du Centre Hospitalo- Universitaire de Blida.

4. Matériels et méthodes :

4.1. Matériels d'étude :

Durant notre étude, on a enregistré un total de 1660 flacons d'hémocultures reçues au niveau de laboratoire de Microbiologie de la clinique HBB.

4.1.1. Critères d'inclusion :

Nous avons inclus des patients hospitalisés au niveau des différents services de la clinique HBB : Pédiatrie, Néonatalogie, Oncologie-Pédiatrique, Réa-Gynécologie, Centre de chirurgie infantile (CCI) et même des malades hospitalisés en dehors de la clinique c'est-à-dire des externes, venus d'un autre établissement de Santé ex : EPH, où sont consultés chez un médecin spécialiste en Pneumologie, en Orthopédie.

Les flacons d'hémocultures inclus dans notre étude sont bien étiquetés (nom du malade, service, la date et l'heure exact du prélèvement), accompagnés d'une fiche de renseignement bien remplie (Nom et prénom du malade, l'âge, service, date de prélèvement, renseignements cliniques liés au patients), on a incriminé aussi les deux sexes.

4.1.2. Critères d'exclusion :

Tout flacon non étiqueté, toute fiche de renseignement où y'avait pas le Nom du malade ou la griffe du service a été refusée.

4.2. Méthode d'étude :

Les prélèvements reçus au laboratoire avec leur fiche de renseignement sont enregistrés dans un registre spécial pour les prélèvements d'hémocultures.

Les flacons sont mis directement à l'étuve ou à l'automate.

4.2.1. Etude bactériologique: de 1 Janvier au 31 Mars 2018

4.2.1.1. Examen macroscopique :

- **Méthodes conventionnelles** : les flacons d'hémocultures sont examinés chaque jour à partir de la 6^{ème} heure d'incubation pour rechercher des signes témoignant d'une croissance visible. La surveillance des flacons est visuelle, basée sur recherche d'un trouble, d'une voile en surface, d'une hémolyse, d'un coagulum.
- **Systèmes automatisés** : le principe de détection de la croissance bactérienne est la mesure du CO₂ libéré dans les flacons. A la clinique HBB, le système d'automate utilisé est BD BACTEC FX40

4.2.1.2. Examen microscopique et mise en culture :

Toutes les manipulations sont effectués dans des conditions strictes d'asepsie pour éviter les faux résultats (éventuelle contamination à l'origine des faux positifs) et le risque de transmission au manipulateur de certains germes dangereux (Brucella) d'autre part, la raison pour laquelle le port d'un masque et de gants et même un travail sous hotte bactériologique à flux laminaire sont indispensables.

Une fois les critères de positivité des flacons sont mise en place, l'examen microscopique et la mise en culture ont été faits de façon systématique à 24h, 5^{ème} jour et à la fin de la période de surveillance des flacons (entre 10 à 15 jours).

Nous avons fait un repiquage sur des milieux permettant la croissance de germes exigeants et non exigeants :

- Gélose au sang fais et cuit, incubées à 37°C sous une atmosphère de CO₂.
- Milieu Chapman sélectif pour les Staphylocoques et milieu Hecktoen ou BCP sélectif pour les Bacilles Gram négatifs incubés en atmosphère ordinaire.

Pour chaque flacon positif, on a déterminé l'aspect des colonies par la coloration de Gram (voir annexe 3).

4.2.1.3. Identification biochimique :

Nous avons fait des tests à l'oxydase et à la catalase.

On a réalisé la galerie classique d'identification des Entérobactéries (voir annexe 11), également des galeries type Api 20E, Api Staph, Api Strepto. (Selon prospectus)

4.2.1.4. Etude de sensibilité aux antibiotiques :

Durant notre étude bactériologique de trois mois, on a effectué quelques antibiogrammes standards avec leur antibiogramme d'urgence et des tests complémentaires.

4.2.1.4.1. Antibiogramme standard :

Nous avons effectué des antibiogrammes selon les recommandations du CLSI, par la technique de diffusion de disque sur milieu gélosé.

La technique : On a préparé une suspension bactérienne 0,5MF à partir d'une culture pure de 24h, puis on a ensemencé la gélose Mueller-Hinton (séché avant l'emploi) à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans l'inoculum.

On a appliqué les disques d'antibiotiques testés selon la bactérie isolée (mentionné dans la Standardisation nationale, 2011) et également les bandelettes des E-test.

Incubation : 24h à l'étuve.

Lecture : on a mesuré avec précision le diamètre d'inhibition autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse ou pour les E-test, on a déterminé la CMI (concentration minimale inhibitrice), elle correspond à la graduation, située à la jonction entre l'ellipse (dessinée par l'inhibition de la culture bactérienne) et la bandelette E-test.

On a comparé les diamètres retrouvés avec les valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. (Standardisation nationale, 2011) et on a classé la bactérie dans la catégorie R ou S ou I.

4.2.1.4.2. Antibiogramme d'urgence :

La technique : *selon les travaux de M.-H. Nicolas-Chanoine ^[84]

On a préparé une suspension bactérienne de quelques gouttes (3 gouttes) du mélange sang-bouillon dans 10ml d'eau physiologique pour se rapprocher de 0,5MF (on a prélevé les gouttes à l'aide d'une seringue stérile et après désinfection du couvercle de flacon d'hémoculture par l'alcool), puis on a inoculé la suspension sur gélose Mueller-Hinton par la méthode d'inondation et éliminé le surplus.

On a laissé la boîte près de bec bunsen pour bien sécher, la boîte est maintenue fermée.

On a appliqué les disques d'antibiotiques suivants : Céfotaxime(CTX), Ertapénème(ETP), Amikacine(AKN), Gentamycine(GM), Ciprofloxacine(CIP).

Incubation : 24h à l'étuve.

Lecture : pareille à l'antibiogramme standard.

On a effectué 5 antibiogrammes d'urgence pour les flacons d'hémocultures positifs gazogènes Avec présence de BGN à la coloration de Gram.

Exemple de pratique : Flacon numéro 703 reçu le 20/03/2018

Service : Oncologie-Pédiatrique (LAM)

Age : non mentionné

Souche identifiée : *Klebsiella pneumoniae*



Figure 11 : Antibiogramme standard de la souche *Klebsiella pneumoniae*



Figure 12 : Antibiogramme d'urgence de la souche *Klebsiella pneumoniae*

On a comparé les diamètres d'inhibition pour les 2 techniques et on a trouvé (tableau 3) :

Tableau 3 : Comparaison des diamètres d'inhibition pour deux techniques d'antibiogramme

| Disques d'antibiotiques testés | Antibiogramme standard | Antibiogramme d'urgence |
|--------------------------------|------------------------|-------------------------|
| Ertapénème (ETP) | 29mm (S) | 26mm (S) |
| Ciprofloxacine (CIP) | Non testé | 14mm (R) |
| Gentamycine (GM) | 8mm (R) | 6mm (R) |
| Amikacine (AKN) | 19mm (S) | 16mm (I) |

D'après ce résultat, nous avons remarqué qu'il n'y a pas une différence significative entre les 2 antibiogrammes où les valeurs ont été presque pareilles ainsi que la présence d'une BLSE franchement exprimée par le bouchon de champagne révélant une synergie entre le disque d'AMC et CTX (Figure 12) ce qui nous permet de dire d'emblée qu'une prescription d'une C3G n'est pas recommandée chez ce patient avant même d'effectuer un antibiogramme standard.

4.2.1.4.3. Tests complémentaires : on a fait durant notre pratique 10 tests de synergie et 2 tests de Hogde modifié pour les entérobactéries.

4.2.1.4.3.1. Test de synergie :

La technique : on a travaillé dans les mêmes conditions standards de l'antibiogramme.

On a préparé une suspension bactérienne de 0,5 MF et on l'a ensemencé sur gélose MH.

On a appliqué un disque de l'AMC à 20mm centre à centre d'un disque de CTX pour que l'image de synergie soit bien évidente.

On a utilisé aussi les bandelettes E-test où une extrémité contient uniquement le CT et dans l'autre CT + inhibiteur (CTL).

Incubation : 24h à l'étuve

Lecture : on a obtenu une image de synergie (bouchon de champagne) qui témoigne la présence de BLSE.

Dans le cas des E-test, on a calculé le rapport de CMI : CT/CTL
Si $CT/CTL > 8$: présence de BLSE et si $CT/CTL < 8$: absence de BLSE.

Exemple de pratique :

Souche numéro 703 : *Klebsiella pneumoniae* BLSE positive

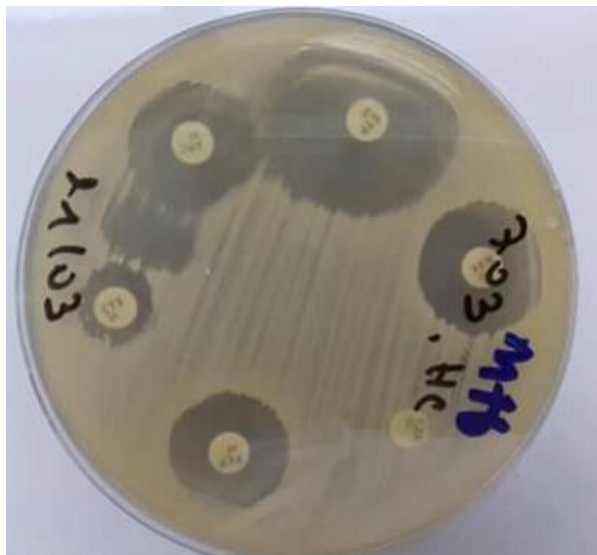


Figure 13 : *Klebsiella pneumoniae* BLSE+
(Bouchon de champagne)



Figure 14 : *Klebsiella pneumoniae* BLSE+
($CT/CTL > 8$) ; $CT=16\mu\text{g/ml}$; $CTL=0,47\mu\text{g/ml}$

4.2.1.4.3.2. Test de Hodge modifié :

Technique : on a préparé une suspension bactérienne d'E. coli ATCC 25922 à 0.5, puis on a dilué cet inoculum au 1/10ème et ensemencé sur gélose par écouvillonnage.

On a déposé au centre un disque d'Ertapénème 10 μg et à partir de ce disque on a fait une inoculation en trait avec la souche à tester et avec deux souches de référence déjà connues (*K.pneumoniae* ATCC BAA-1705 : carbapénèmase **positive**) et *K.pneumoniae* ATCC BAA-1706 : carbapénèmase **négative**).

Incubation : 24h à l'étuve.

Lecture : on a obtenu un aspect d'invagination de la culture témoignant la présence de Carbapénèmase.

Exemple de pratique : flacon numéro 480 reçu le 25/02/2018

Service : Néonatalogie

Age : 3jrs

Signes cliniques : fièvre + SDR

Souches identifiées : *Klebsiella pneumoniae* Carbapénèmase positive



Figure 15 : souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de Carbapénèmase

- 1 : *Klebsiella pneumoniae* (témoin positif connu)
- 2 : *Klebsiella pneumoniae* (témoin négatif connu)
- 3 : souche testée

4.2.2. Etude statistique:

Nous avons fait une étude rétro-prospective descriptive des hémocultures où les données sont recueillies à partir des registres d'hémocultures grâce à une fiche de renseignement (ordonnance) établie par le médecin, elle accompagne chaque flacon d'hémoculture destiné au laboratoire de Microbiologie pour une étude bactériologique ; les variables suivantes ont été notées :

- a. L'âge des patients : notre population a inclus des nouveau-nés (également des prématurés), enfants (1mois à 15ans), adultes (femmes post opérées), patients âgés (prélèvements externes).
- b. Le service : Néonatalogie, Pédiatrie, Oncologie-Pédiatrique, Réa-Gynécologie, Centre de Chirurgie Infantile et également autres service (Pneumologie, Rhumatologie).
- c. La date exacte de prélèvements
- d. Les renseignements cliniques liés aux malades : présence de fièvre ou de frissons lors du prélèvement, maladie sous-jacente (pneumopathie, cardiopathie, leucémie), antibiothérapie. Une fiche de renseignement bien remplie est indispensable pour l'interprétation des bactériémies et obtenir des résultats fiables (sans faux positifs et faux négatifs).

Des données Microbiologiques ont été prises en considération :

- a. Le résultat de la culture : positif, négatif ou contaminé.
- b. La qualité des germes isolés selon le Gram : Cocci Gram positif, Bacilles Gram négatif.
- c. Le résultat de l'antibiogramme : bactéries résistantes ou sensibles aux antibiotiques testés.

L'exploitation et l'analyse des données ont été réalisées avec le logiciel Excel 2013.

4.3. Contraintes :

A propos de notre étude, les contraintes étaient :

- Le nombre de flacons des prélèvements reçus au laboratoire dans la période Janvier-Mars 2018) était bas à cause de la grève des résidents dans les différents services de la clinique ;
- Manque de renseignements cliniques : l'état clinique du malade n'a pas été bien décrit chez la majorité des patients et surtout l'antibiothérapie non mentionnée pour la plus part des patients, parfois la fiche de renseignement a porté uniquement le nom du malade et le service dans ce cas on n'est pas arrivé à déterminer le sexe du malade notamment les nouveau-nés.

5. Résultats :

5.1. Description de notre population :

5.1.1. Nombre de prélèvements d'hémocultures reçus au laboratoire de Microbiologie de la clinique Hassiba Ben Bouali (HBB) :

Tableau 4 : Nombre des prélèvements reçus au laboratoire de Microbiologie

| Années | Nombre de cas enregistrés | Pourcentage par rapport au nombre total |
|---------------------------|---------------------------|---|
| 2016 (1Mars-31Décembre) | 643 | 38,73% |
| 2017(1Janvier-31Décembre) | 860 | 51,80% |
| 2018 (1Janvier-31 Mars) | 157 | 9,46% |
| Total | 1660 | 99,99% |

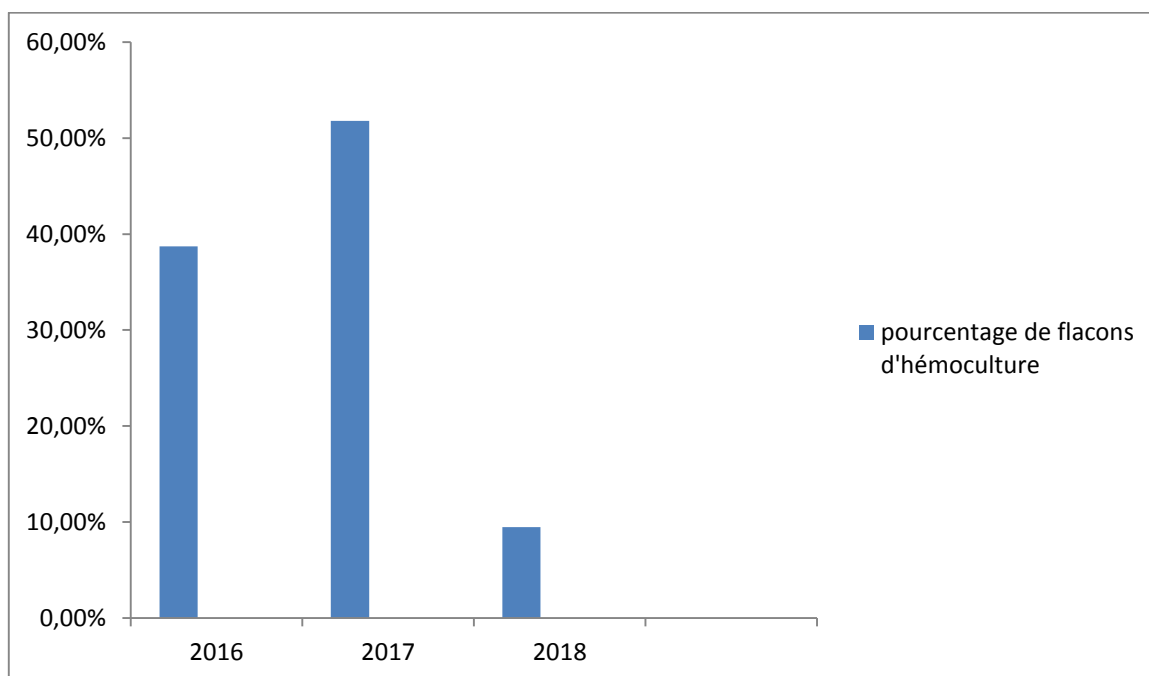


Figure 16 : Pourcentage des prélèvements reçus au laboratoire de Microbiologie n=1660

Tableau 5 : Nombre des prélèvements reçus selon le service

| Service | Nombre de flacons d'hémocultures reçus | Pourcentage % |
|-----------------------|--|---------------|
| Pédiatrie | 712 | 42,89% |
| Néonatalogie | 561 | 33,79% |
| Réa-Gynécologie | 107 | 6,44% |
| Oncologie-Pédiatrique | 189 | 11,40% |
| CCI | 51 | 3,07% |
| Autres services | 40 | 2,41% |
| Total | 1660 | 100% |

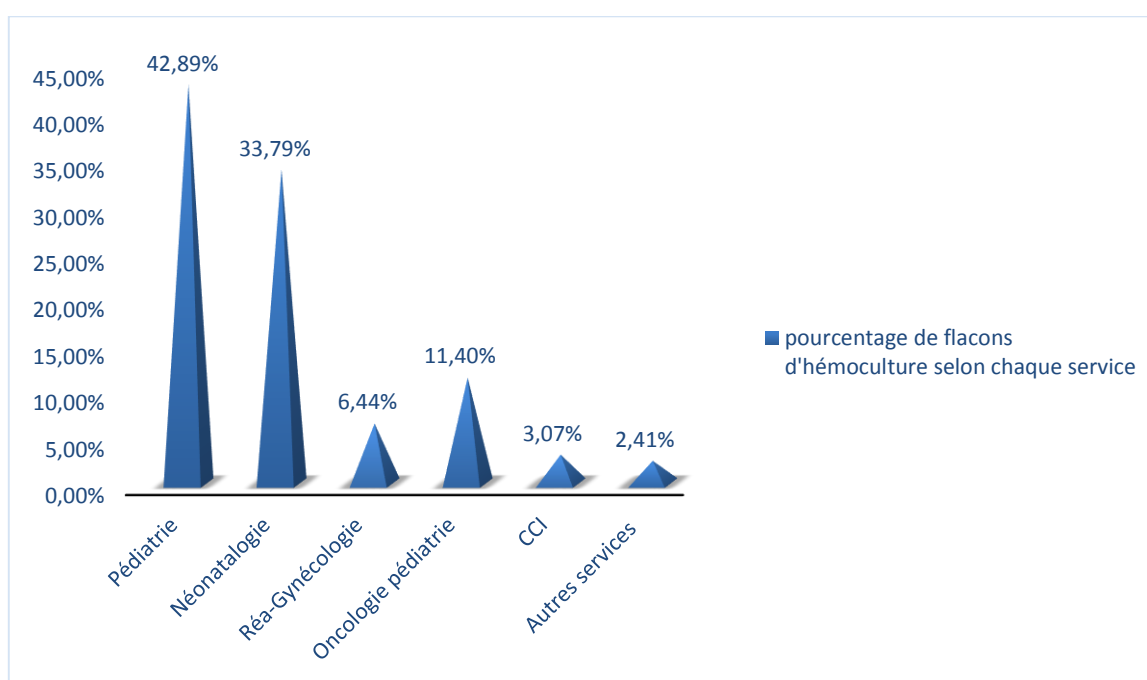


Figure 17 : Pourcentage de prélèvements reçus au laboratoire de Microbiologie selon le Service n=1660

5.1.2. Fréquence des bactériémies diagnostiquées à la clinique HBB du CHU de Blida :

Tableau 6 : Fréquence des bactériémies diagnostiquées

| | | |
|---------------------------|-------------|---------------|
| Flacons positifs | 296 | 17,83% |
| Flacons négatifs | 1187 | 71,51% |
| Flacons contaminés | 177 | 10,66% |
| Total | 1660 | 100% |

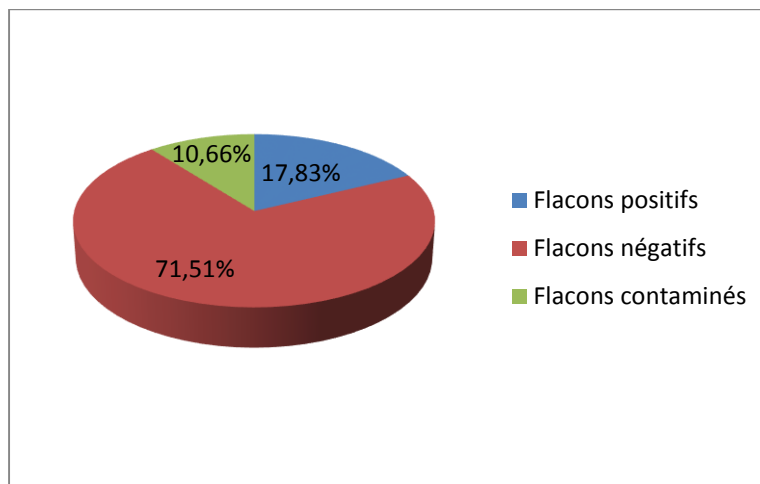


Figure 18 : Fréquence de bactériémies diagnostiquées n=1660

Tableau 7 : Fréquence des bactériémies selon le service

| Service | Positive | Négative | Contaminants | Total |
|------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------|
| Pédiatrie | 58 (8,15%) | 587 (82,44%) | 67 (9,41%) | 712(100%) |
| Néonatalogie | 173 (30,84%) | 296 (52,76%) | 92 (16,40%) | 561 (100%) |
| Réa-gynécologie | 11 (10,28%) | 90 (84,11%) | 06 (5,61%) | 107(100%) |
| Oncologie-Pédiatrique | 40 (21,16%) | 143 (75,66%) | 06 (3,18%) | 189 (100%) |
| CCI | 10 (19,61%) | 38 (74,51%) | 03 (5,88%) | 51 (100%) |
| Autres services | 04 (10%) | 33 (82,5%) | 03 (7,5%) | 40(100%) |
| Total | 296 | 1187 | 177 | 1660 |

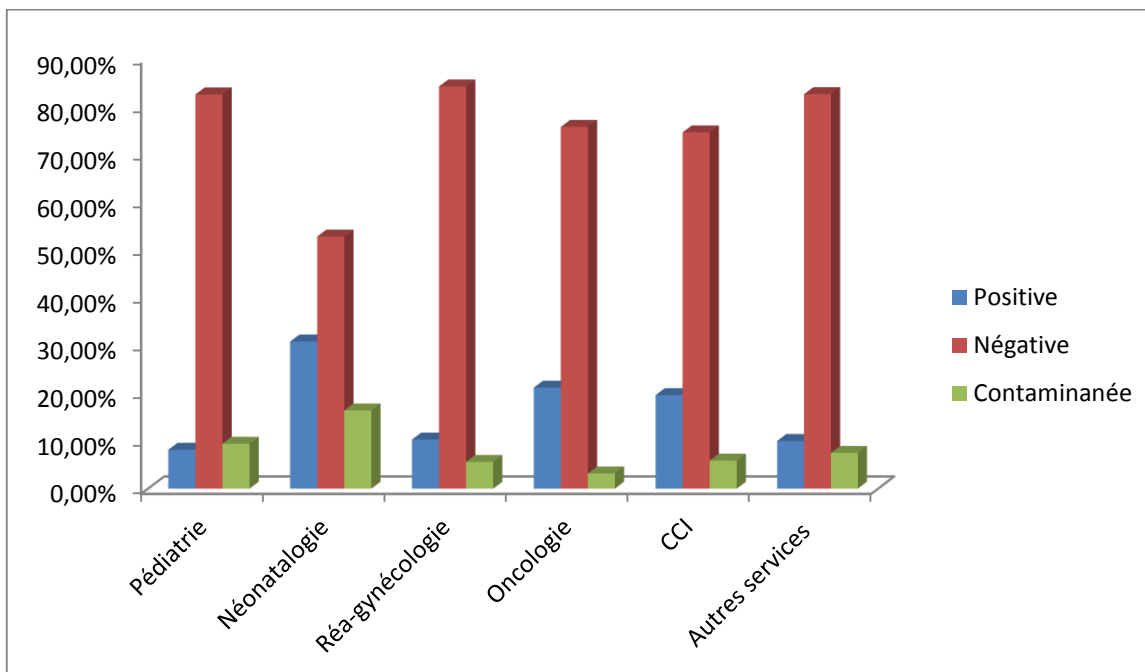


Figure 19 : Fréquence de bactériémies diagnostiquées selon le service n=1660

5.1.3. Répartition des bactériémies selon leur origine à la clinique HBB :

Tableau 8 : Répartition des bactériémies selon leur origine

| Bactériémie | Nombre (n) | Pourcentage % |
|----------------|------------|---------------|
| Nosocomiale | 273 | 92,22% |
| Materno-fœtale | 06 | 2,03% |
| Communautaire | 17 | 5,74% |
| Totale | 296 | 100% |

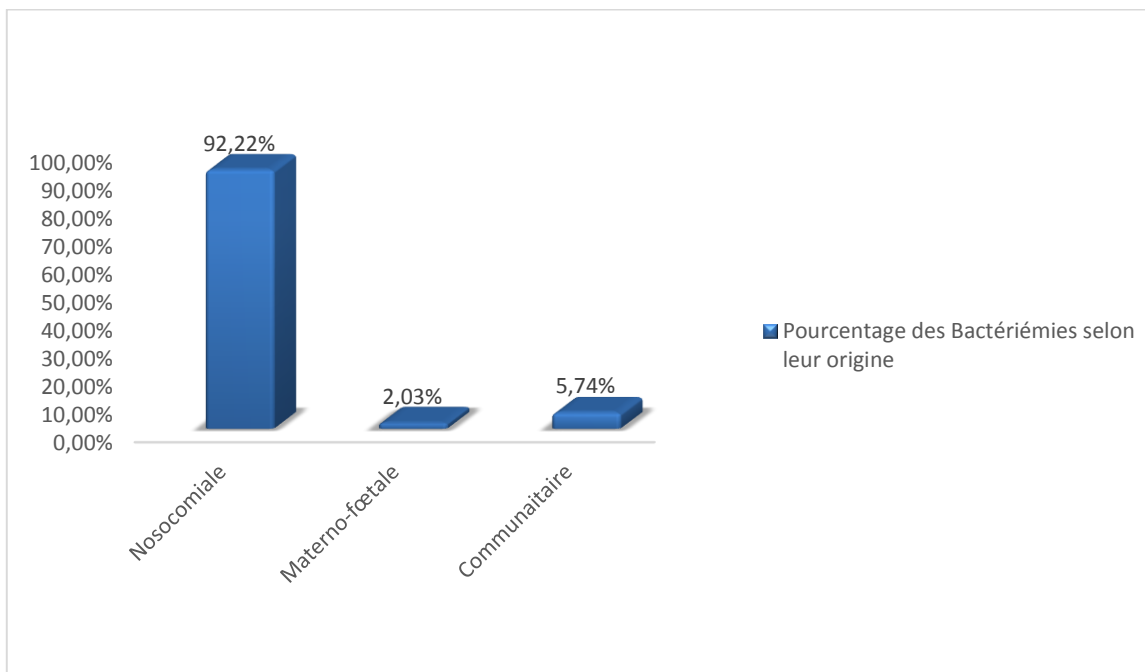


Figure 20 : Pourcentage des bactériémies selon leur origine n=296

5.1.4. Répartition des bactériémies nosocomiales selon chaque service :

Tableau 9 : Répartition des bactériémies nosocomiales selon le service

| Service | Nombre de bactériémies nosocomiales | Pourcentage de bactériémies nosocomiales % |
|-------------------------------------|-------------------------------------|--|
| Pédiatrie | 49 | 17,95% |
| Néonatalogie | 161 | 58,97% |
| Réa-Gynécologie | 09 | 3,29% |
| Oncologie-Pédiatrique | 40 | 14,65% |
| Centre de Chirurgie Infantile (CCI) | 10 | 3,66% |
| Autres services externes | 4 | 1,46% |
| Total | 273 | 99,98% |

5.1.5. Répartition des bactériémies selon les signes cliniques dans chaque service :

Tableau 10 : Répartition des bactériémies selon les signes cliniques

| Signes cliniques | Pédiatrie | Néonatalogie | Réa- Gynécologie | Oncologie- Pédiatrique | Centre de Chirurgie Infantile |
|---|------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------------|--|
| Fièvre | 43 | 59 | 09 | 27 | 06 |
| Hypothermie | 00 | 09 | 01 | 00 | 00 |
| Pneumopathie | 05 | 03 | 00 | 00 | 02 |
| Syndrome de détresse respiratoire | 06 | 63 | 00 | 00 | 00 |
| Prématurité | 00 | 84 | 00 | 00 | 00 |
| Post-opératoire | 01 | 00 | 04 | 00 | 01 |
| Endocardite infectieuse | 07 | 01 | 00 | 00 | 00 |
| Méningite | 03 | 01 | 00 | 00 | 00 |
| Choc septique | 06 | 89 | 01 | 01 | 03 |
| Gastro-entérite- aigue | 03 | 03 | 00 | 01 | 00 |
| Aplisie fébrile | 01 | 00 | 00 | 07 | 00 |
| Leucémie | 00 | 00 | 00 | 35 | 00 |
| Total des bactériémies dans chaque service | 58 | 173 | 11 | 40 | 10 |

5.2. Profil bactériologique des hémocultures positives à la clinique HBB :

5.2.1. Répartition des bactéries responsable des bactériémies à la clinique HBB :

Tableau 11 : Répartition des bactéries responsable des bactériémies

| Gram | Nombre des bactéries | Pourcentage % |
|-----------------------------|----------------------|---------------|
| Bacilles Gram négatif (BGN) | 230 | 77,70% |
| Cocci Gram positif (CGP) | 66 | 22,30% |
| Total | 296 | 100% |

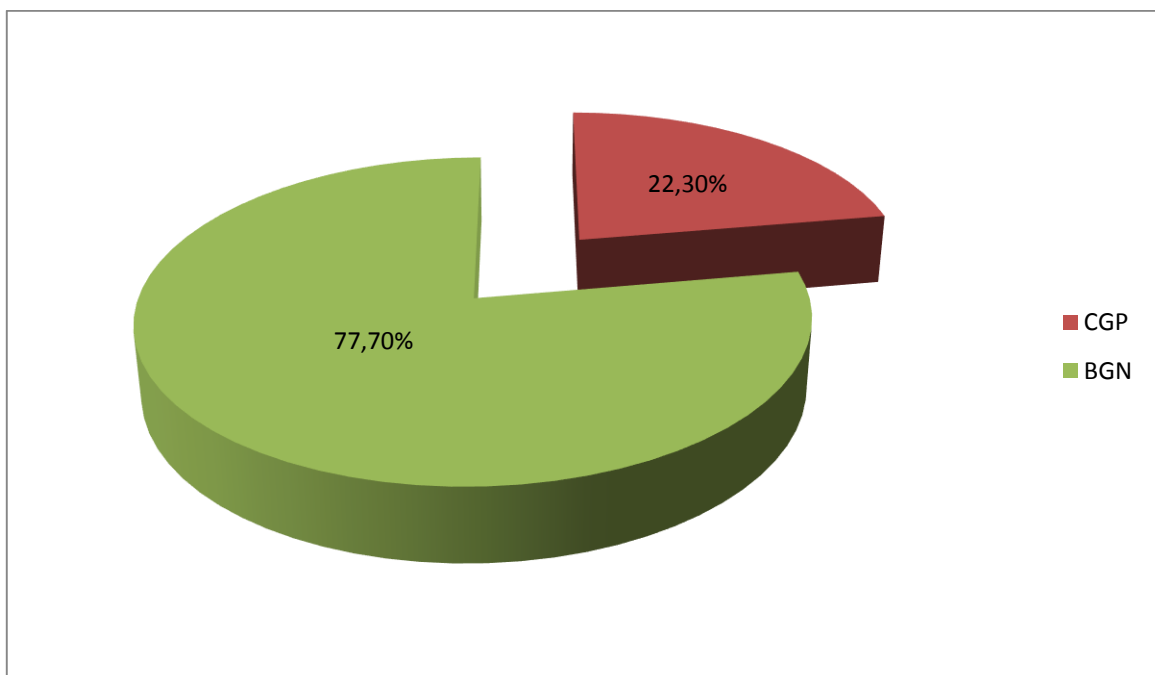


Figure 21 : Pourcentage des bactéries responsables des bactériémies selon le Gram n=296

Tableau 12 : Répartition des bactéries selon le service

| Service | Gram | | Total |
|-----------------------|-----------------------|--------------------|--------------|
| | Bacilles Gram Négatif | Cocci Gram Positif | |
| Pédiatrie | 35 (60,34%) | 23 (39,65%) | 58 (99,99%) |
| Néonatalogie | 138 (79,76%) | 35 (20,23%) | 173 (99,99%) |
| Réa-Gynécologie | 08 (72,72%) | 03 (27,27%) | 11 (EF) |
| Oncologie-Pédiatrique | 35 (87,5%) | 05 (12,5%) | 40 (100%) |
| CCI | 10 (100%) | 00 (0%) | 10 (EF) |
| Autres | 04 (100%) | 00 (0%) | 4 (EF) |
| Total | 230 | 66 | 296 |

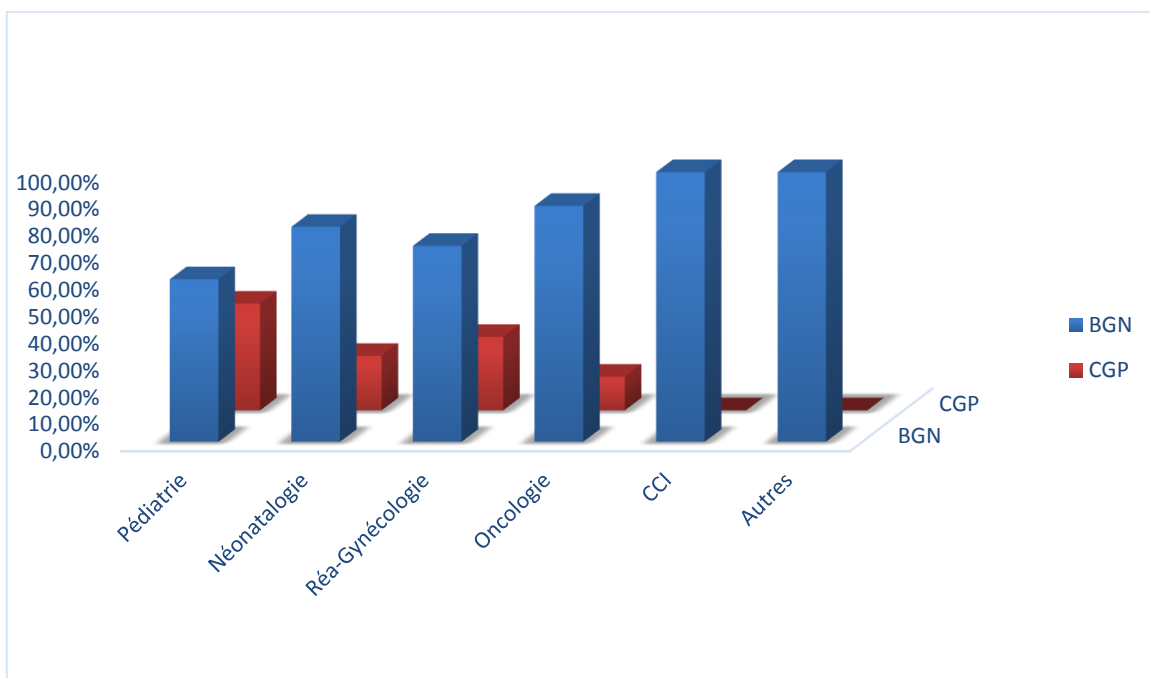


Figure 22 : Pourcentage des bactéries selon le Gram pour chaque service n=296

5.2.1.1. Répartition des BGN retrouvés à la clinique HBB :

Tableau 13 : Répartition des BGN

| BGN | Nombre | Pourcentage % |
|-----------------|------------|---------------|
| Entérobactéries | 180 | 78,26% |
| BGN oxydatifs | 36 | 15,65% |
| Autres BGN | 14 | 6,09% |
| Total | 230 | 100% |

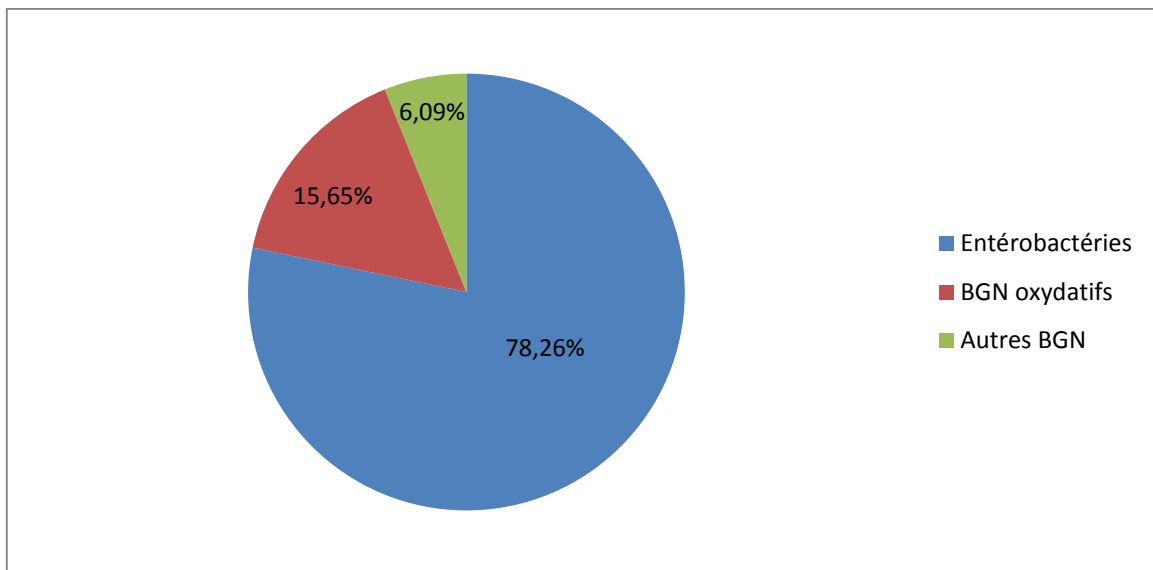


Figure 23 : Pourcentage des Bacilles Gram négatif n=230

Tableau 14 : Répartition des BGN selon le service

| Service | Bacilles Gram Négatif (BGN) | | | Total |
|-----------------------|-----------------------------|---------------|-------------|--------------|
| | Entérobactéries | BGN oxydatifs | Autres BGN | |
| Pédiatrie | 22 (62,86%) | 09 (25,71%) | 04 (11,42%) | 35 (99,99%) |
| Néonatalogie | 124 (89,85%) | 11 (7,97%) | 03 (2,17%) | 138 (99,99%) |
| Réa-Gynécologie | 05 | 02 | 01 | 08 (EF) |
| Oncologie-Pédiatrique | 21 (60%) | 10 (28,57%) | 04 (11,43%) | 35 (100%) |
| CCI | 07 | 03 | 00 | 10 (EF) |
| Autres | 01 | 01 | 02 | 04 (EF) |
| Total | 180 | 36 | 14 | 230 |

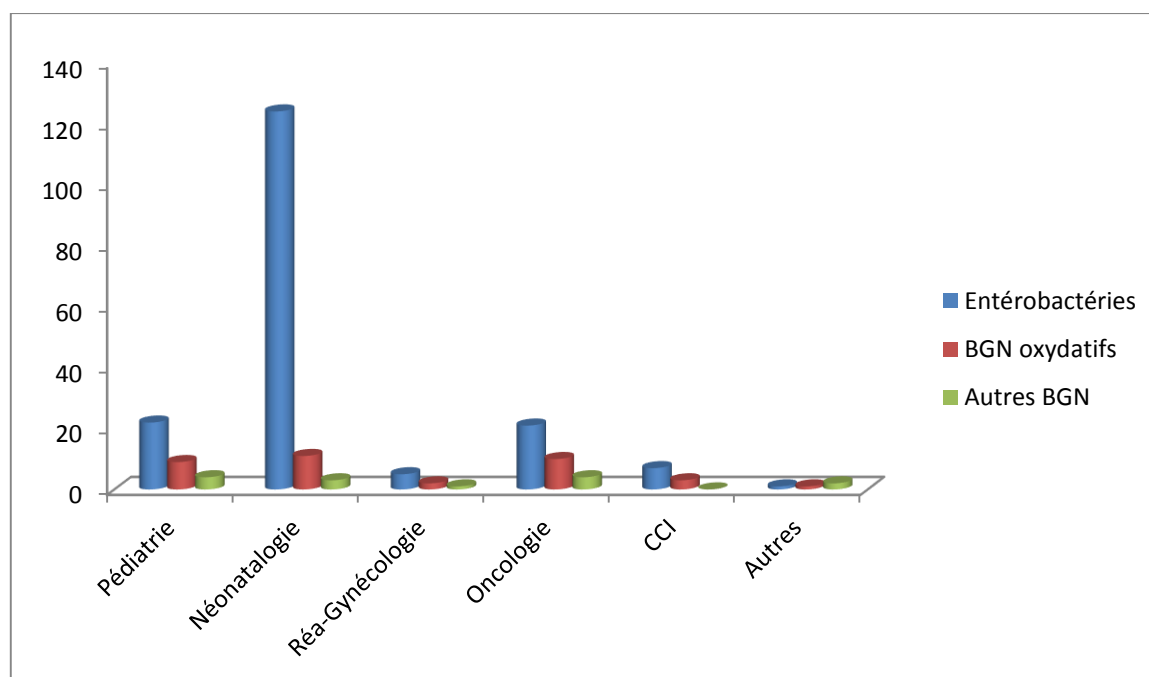


Figure 24 : Nombre des BGN dans chaque service n=230

5.2.1.1.1. Répartition des Entérobactéries selon les espèces retrouvées à la clinique HBB :

Tableau 15 : Répartition des Entérobactéries selon les espèces retrouvées

| Entérobactéries | Nombre | Pourcentage % |
|-----------------------------------|------------|---------------|
| <i>Escherichia coli (non K1)</i> | 12 | 6.66% |
| <i>Enterobacter sp</i> | 19 | 10.55% |
| <i>Klebsiella pneumoniae (Kp)</i> | 100 | 55.55% |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 04 | 2.22% |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 01 | 0.55% |
| <i>Serratia marcesens</i> | 42 | 23.33% |
| <i>Serratia liquefaciens</i> | 01 | 0.55% |
| <i>Salmonella sp</i> | 01 | 0.55% |
| Total | 180 | 100% |

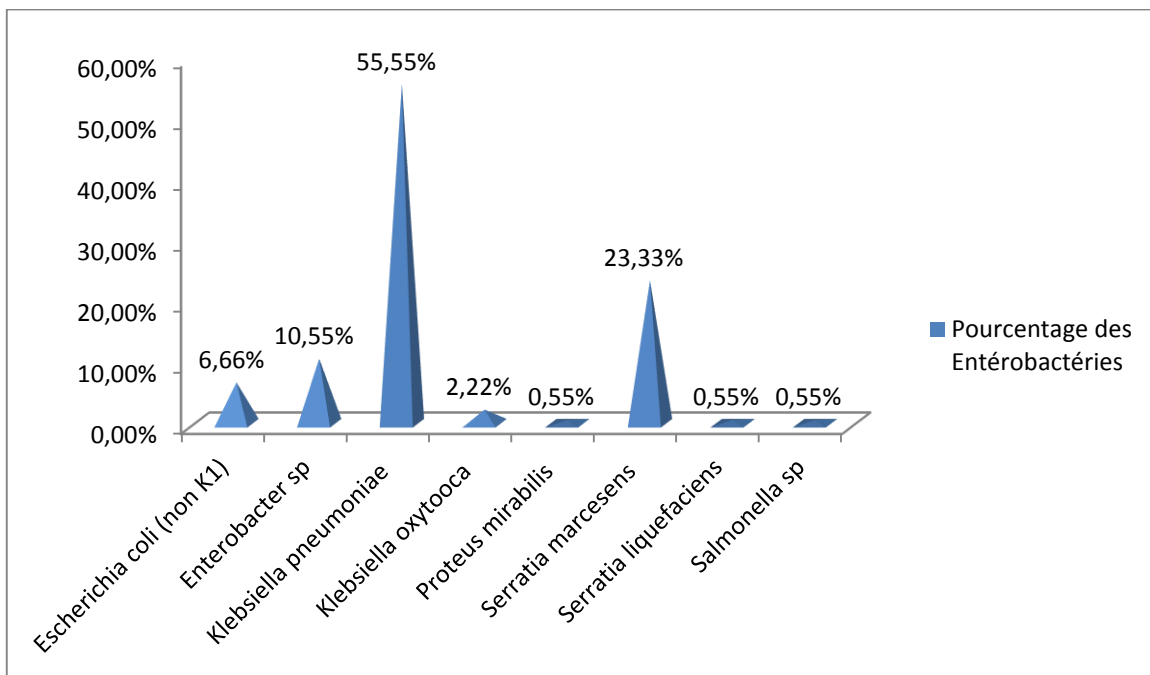


Figure 25 : Pourcentage des Entérobactéries selon les espèces retrouvées n=180

Tableau 16 : Répartition des Entérobactéries selon les espèces pour chaque service

| Entérobactéries | Services | | | | | |
|------------------------------|-----------|--------------|-----------------|-----------------------|-----------|-----------|
| | Pédiatrie | Néonatalogie | Réa-Gynécologie | Oncologie pédiatrique | CCI | Autres |
| <i>Escherichia coli</i> | 03 | 03 | 03 | 02 | 01 | 00 |
| <i>Entérobacter sp</i> | 04 | 04 | 02 | 05 | 04 | 00 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 10 | 76 | 00 | 13 | 01 | 00 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 01 | 02 | 00 | 01 | 00 | 00 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 00 | 00 | 00 | 00 | 01 | 00 |
| <i>Serratia marcesens</i> | 03 | 38 | 00 | 00 | 00 | 01 |
| <i>Serratia liquefaciens</i> | 00 | 01 | 00 | 00 | 00 | 00 |
| <i>Salmonella sp</i> | 01 | 00 | 00 | 00 | 00 | 00 |
| Total | 22 | 124 | 05 | 21 | 07 | 01 |

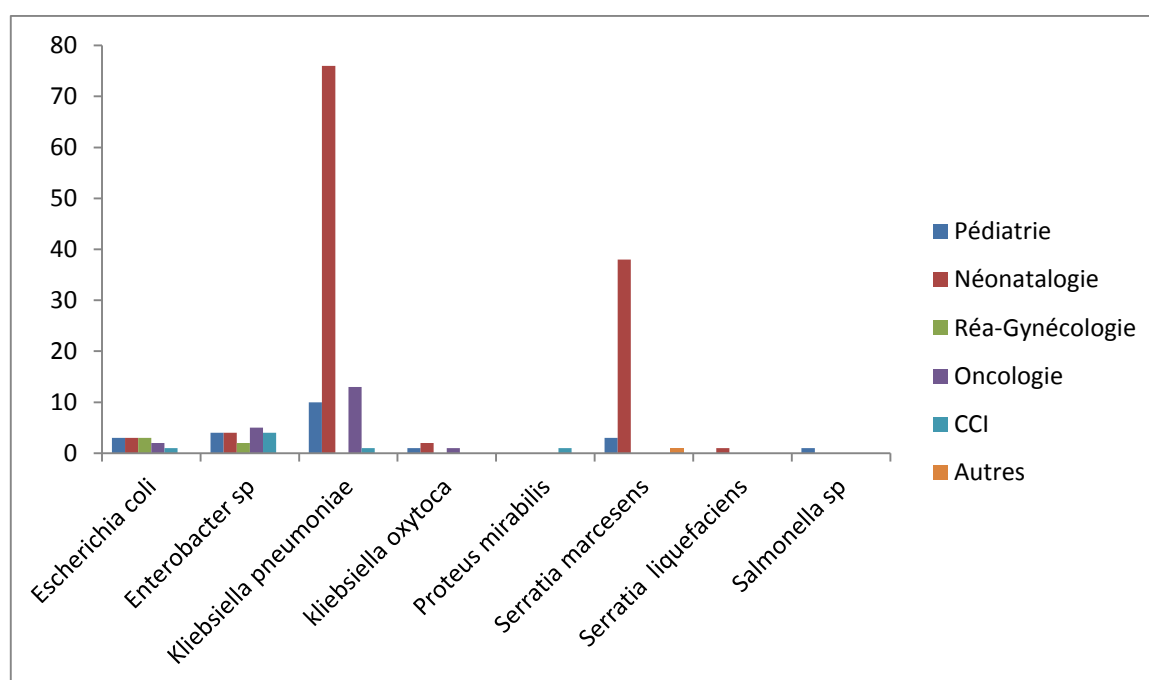


Figure 26 : Répartition des Entérobactéries selon les espèces retrouvées dans chaque service
n=180

5.2.1.1.2. Répartition des BGN oxydatifs selon les espèces retrouvées à la clinique HBB :

Tableau 17 : Répartition des BGN oxydatifs selon les espèces retrouvées

| BGN oxydatifs | Nombre | Pourcentage % |
|--------------------------------|-----------|---------------|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 18 | 50% |
| <i>Acinetobacter iwoffii</i> | 01 | 2.77% |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 14 | 38.88% |
| <i>Pseudomonas putida</i> | 01 | 2.77% |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> | 02 | 5.55% |
| Total | 36 | 100% |

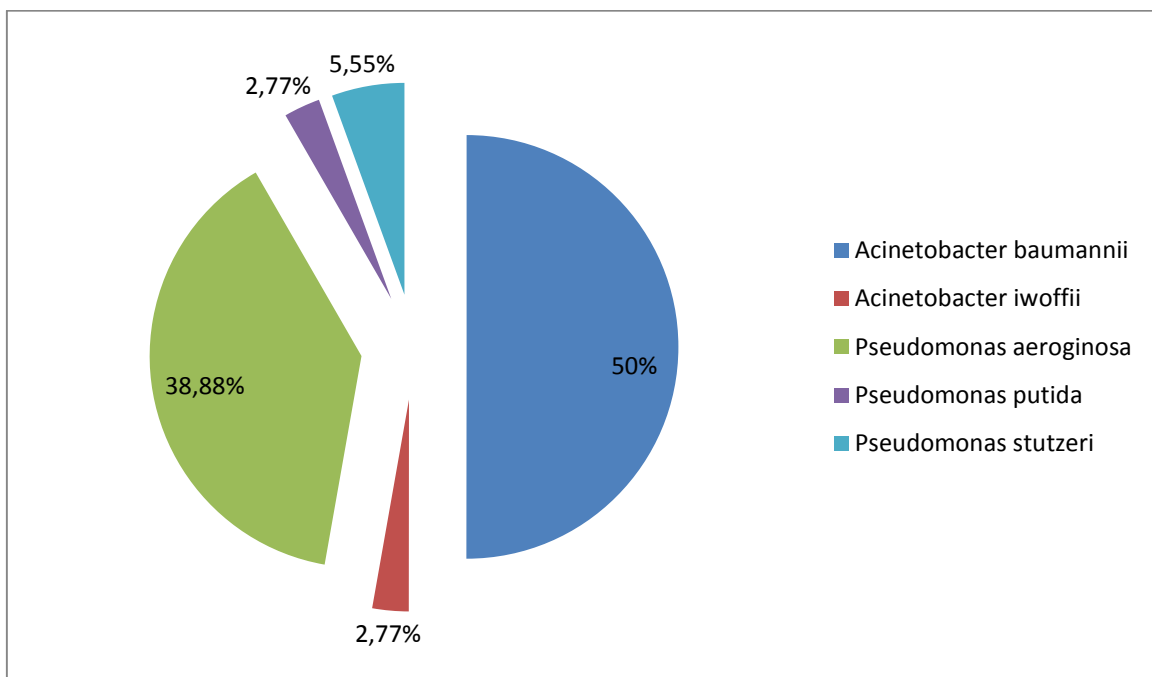


Figure 27 : Pourcentage des BGN oxydatifs n=36

Tableau 18 : Répartition des BGN oxydatifs selon les espèces pour chaque service

| BGN oxydatifs | Service | | | | | |
|--------------------------------|-----------|--------------|-----------------|-----------------------|-----------|-----------|
| | Pédiatrie | Néonatalogie | Réa-Gynécologie | Oncologie-Pédiatrique | CCI | Autres |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 03 | 08 | 01 | 04 | 01 | 01 |
| <i>Acinetobacter iwoffii</i> | 00 | 00 | 00 | 01 | 00 | 00 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 05 | 03 | 01 | 02 | 02 | 00 |
| <i>Pseudomonas putida</i> | 00 | 00 | 00 | 02 | 00 | 00 |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> | 01 | 00 | 00 | 01 | 00 | 00 |
| Total | 09 | 11 | 02 | 10 | 03 | 01 |

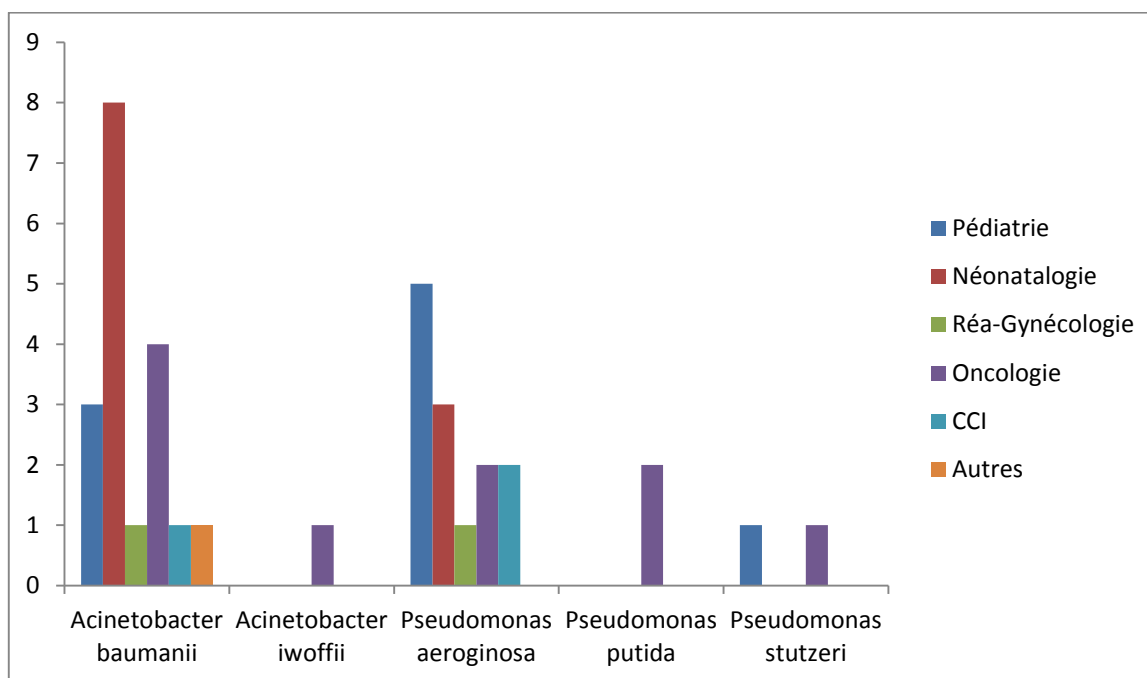


Figure 28 : Répartition des BGN oxydatifs dans chaque service n=36

5.2.1.1.3. Répartition d'autres BGN selon les espèces retrouvées à la clinique HBB :

Tableau 19 : Répartition d'autres BGN selon les espèces retrouvées

| Autres BGN | Nombre |
|-----------------------------|-----------|
| <i>Alcaligenes feacalis</i> | 06 |
| <i>Aeromonas sp</i> | 02 |
| BGN non déterminés | 06 |
| Total | 14 |

Tableau 20 : Répartition d'autres BGN selon les espèces pour chaque service

| Autres BGN | Service | | | | | |
|-----------------------------|-----------|--------------|-----------------|-----------------------|-----------|-----------|
| | Pédiatrie | Néonatalogie | Réa-Gynécologie | Oncologie-Pédiatrique | CCI | Autres |
| <i>Alcaligenes feacalis</i> | 02 | 02 | 00 | 01 | 00 | 01 |
| <i>Aeromonas sp</i> | 01 | 00 | 00 | 01 | 00 | 00 |
| BGN non déterminés | 01 | 01 | 01 | 02 | 00 | 01 |
| Total | 04 | 03 | 01 | 04 | 00 | 02 |

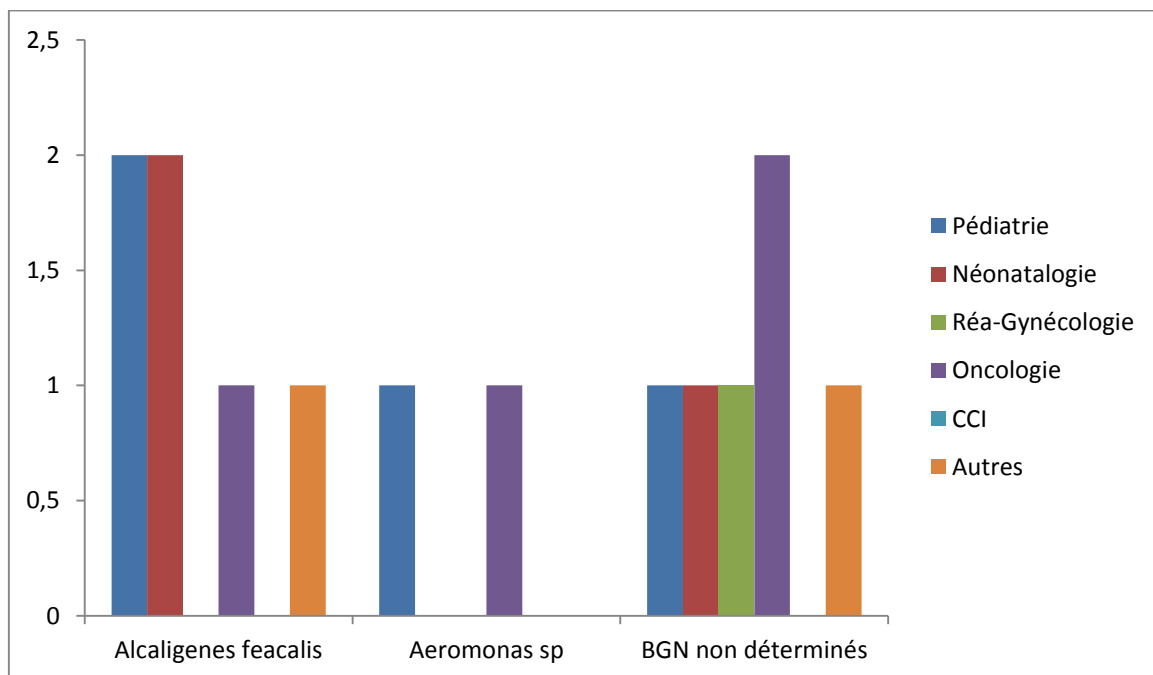


Figure 29 : Autres BGN selon le service n=14.

5.2.1.2. Répartition des CGP retrouvées à la clinique HBB :

Tableau 21 : Répartition des CGP

| Cocci Gram Positif | Nombre | Pourcentage % |
|----------------------------|--------|---------------|
| Staphylocoques | 38 | 57.57% |
| Streptocoques-Entérocoques | 25 | 37.87% |
| Autres CGP | 03 | 4.54% |
| Total | 66 | 100% |

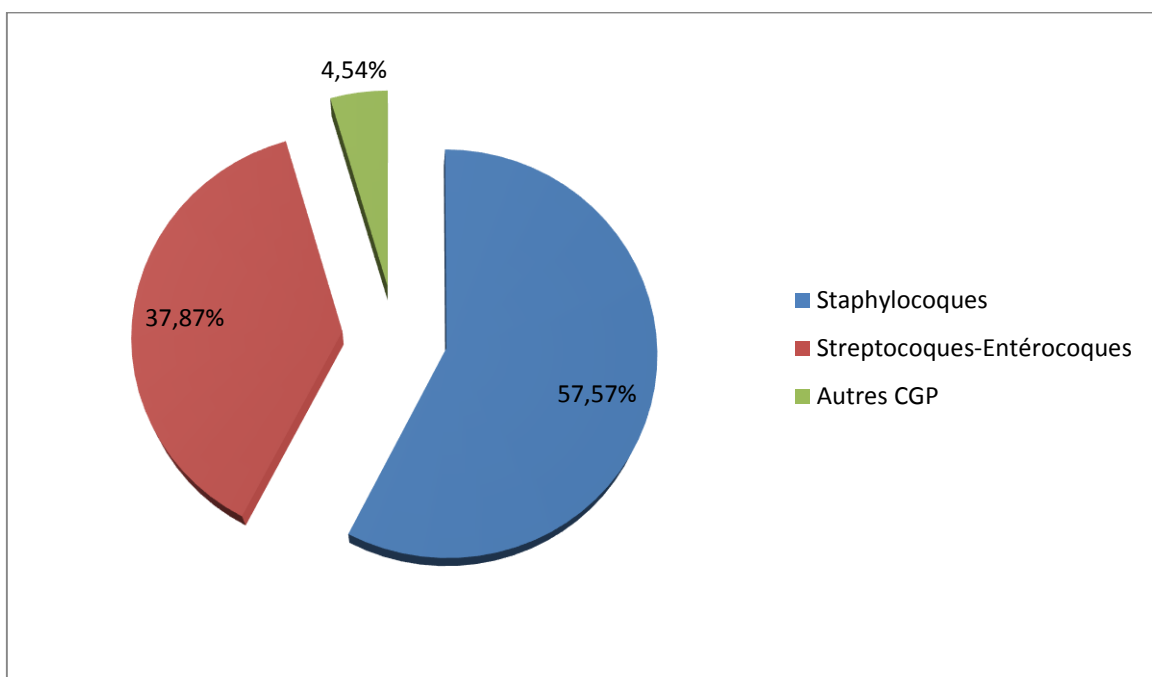


Figure 30 : Pourcentage des Cocci Gram positif n=66

Tableau 22 : Répartition des CGP selon le service

| Cocci Gram Positif | Services | | | | | |
|----------------------------|-----------|--------------|-----------------|-----------------------|-----------|-----------|
| | Pédiatrie | Néonatalogie | Réa-Gynécologie | Oncologie-Pédiatrique | CCI | Autres |
| Staphylocoques | 14 | 18 | 01 | 05 | 00 | 00 |
| Streptocoques-Entérocoques | 08 | 15 | 02 | 00 | 00 | 00 |
| Autres CGP | 01 | 02 | 00 | 00 | 00 | 00 |
| Total | 23 | 35 | 03 | 05 | 00 | 00 |

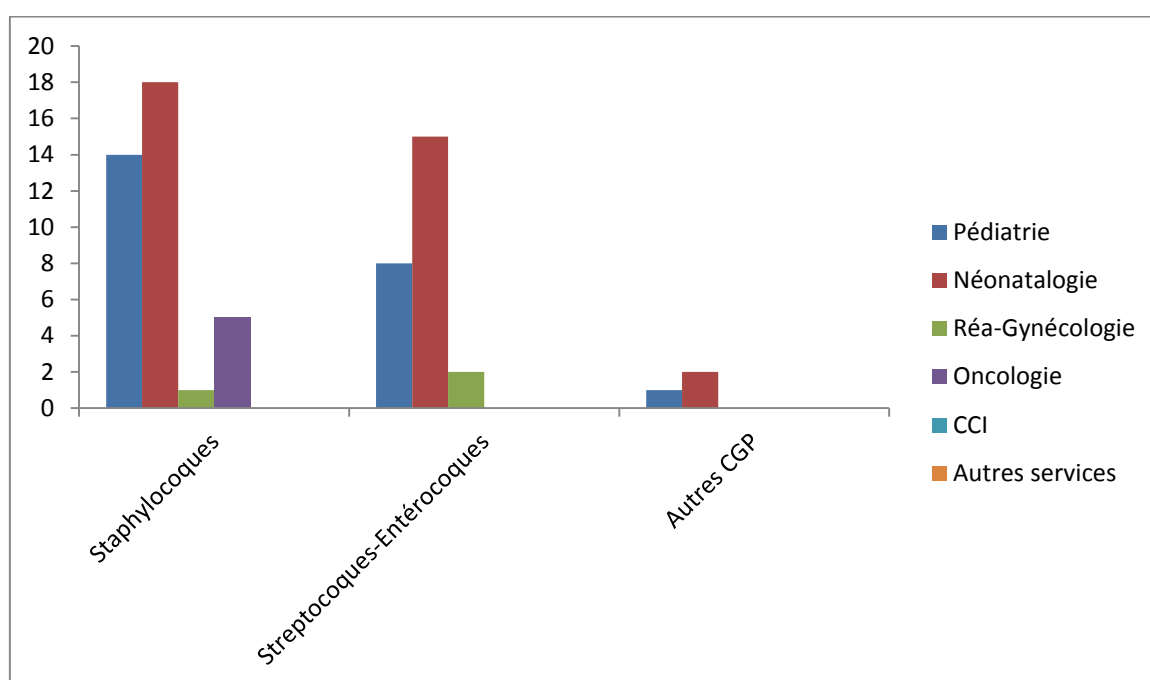


Figure 31 : Nombre des CGP dans chaque service n=66

5.2.1.2.1. Répartition des Staphylocoques selon les espèces retrouvées à la clinique HBB :

Tableau 23 : Répartition des Staphylocoques selon les espèces retrouvées

| Staphylocoques | Nombre | Pourcentage % |
|--|-----------|---------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 08 | 21.05% |
| <i>Staphylococcus coagulase négative (SCN)</i> | 30 | 78.95% |
| Total | 38 | 100% |

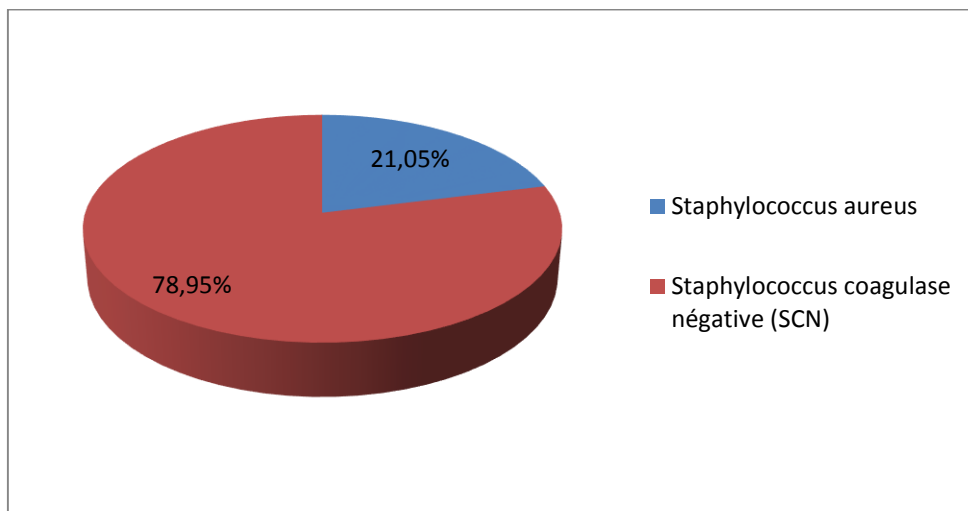


Figure 32 : Pourcentage des staphylocoques selon les espèces retrouvées n= 38

Tableau 24 : Répartition des Staphylocoques selon les espèces pour chaque service

| Staphylocoques | Service | | | | | |
|--|-----------|--------------|-----------------|-----------------------|-----------|-----------|
| | Pédiatrie | Néonatalogie | Réa-Gynécologie | Oncologie-Pédiatrique | CCI | Autres |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 03 | 05 | 00 | 00 | 00 | 00 |
| <i>Staphylococcus coagulase négative (SCN)</i> | 11 | 13 | 01 | 05 | 00 | 00 |
| Total | 14 | 18 | 01 | 05 | 00 | 00 |

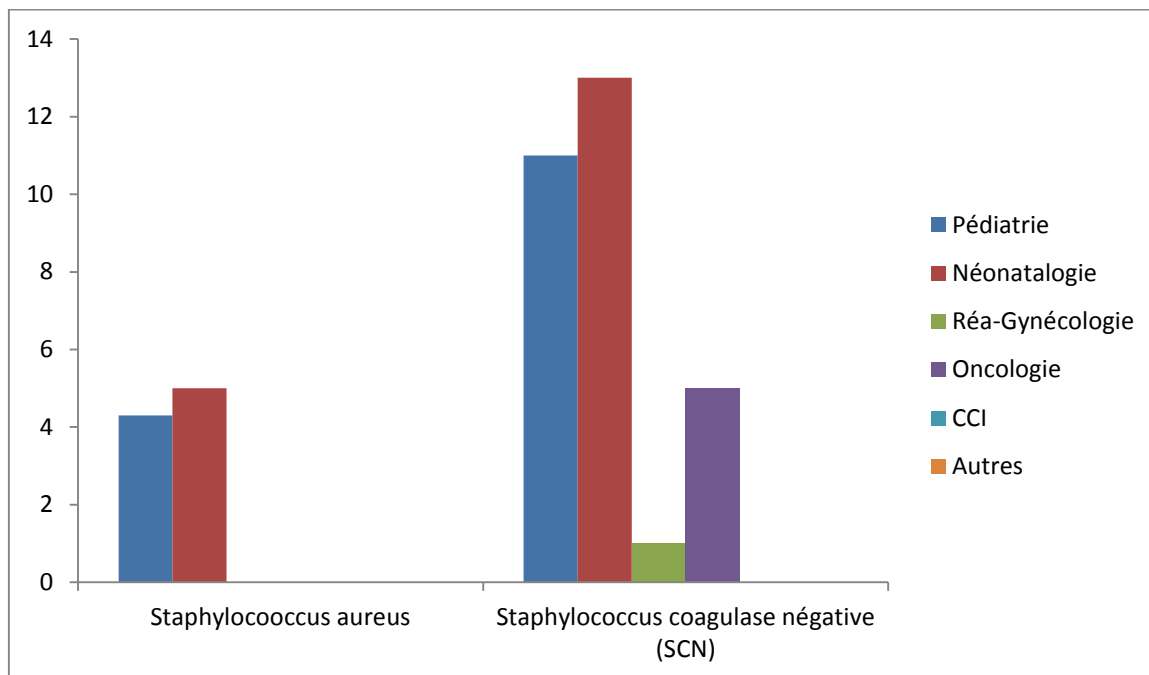


Figure 33 : Répartition des Staphylocoques selon les espèces retrouvées dans chaque service
n= 38

5.2.1.2.2. Répartition des Streptocoques-Entérocoques selon les espèces retrouvées à la Clinique HBB :

Tableau 25 : Répartition des Streptocoques-Entérocoques selon les espèces retrouvées

| Streptocoques-Entérocoques | Nombre |
|---------------------------------|-----------|
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 02 |
| <i>Streptococcus sp</i> | 11 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 01 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 05 |
| <i>Enterococcus sp</i> | 06 |
| Total | 25 |

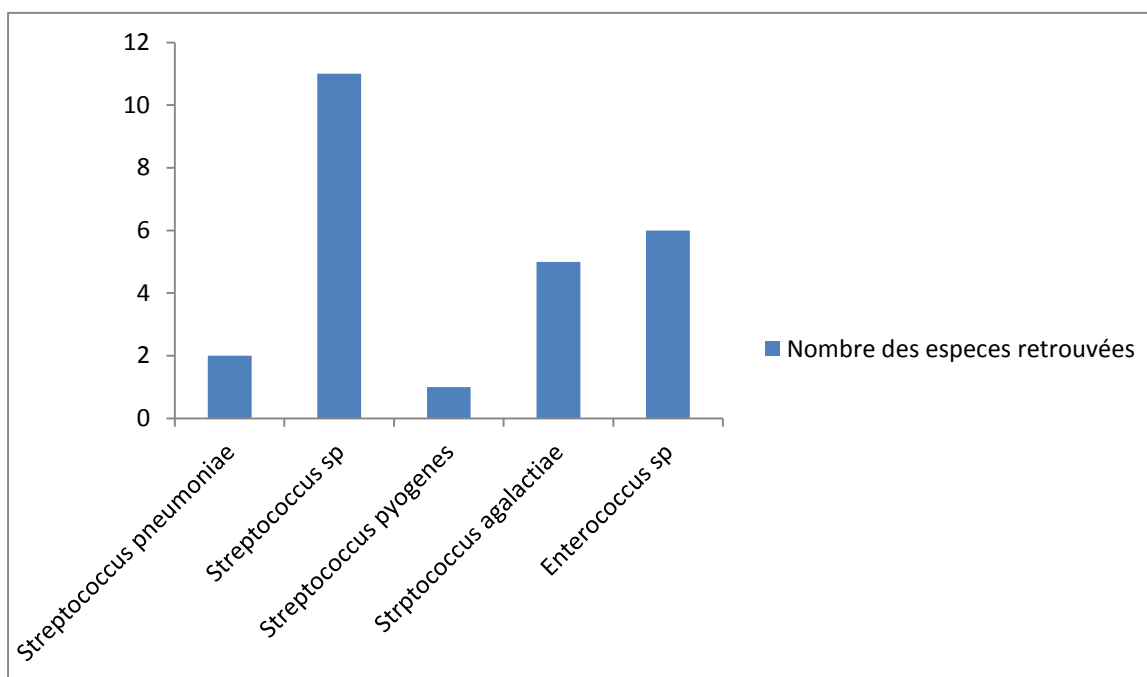


Figure 34 : Répartition des Streptocoques-Entérocoques selon les espèces retrouvées n=25

Tableau 26 : Répartition des Streptocoques-Entérocoques selon les espèces pour chaque service

| Streptocoques-Entérocoques | Services | | | | | |
|---------------------------------|-----------|--------------|-----------------|-----------------------|-----------|-----------|
| | Pédiatrie | Néonatalogie | Réa-Gynécologie | Oncologie-Pédiatrique | CCI | Autres |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 02 | 00 | 00 | 00 | 00 | 00 |
| <i>Streptococcus sp</i> | 04 | 06 | 01 | 00 | 00 | 00 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 01 | 00 | 00 | 00 | 00 | 00 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 01 | 03 | 01 | 00 | 00 | 00 |
| <i>Enterococcus sp</i> | 00 | 06 | 00 | 00 | 00 | 00 |
| Total | 08 | 15 | 02 | 00 | 00 | 00 |

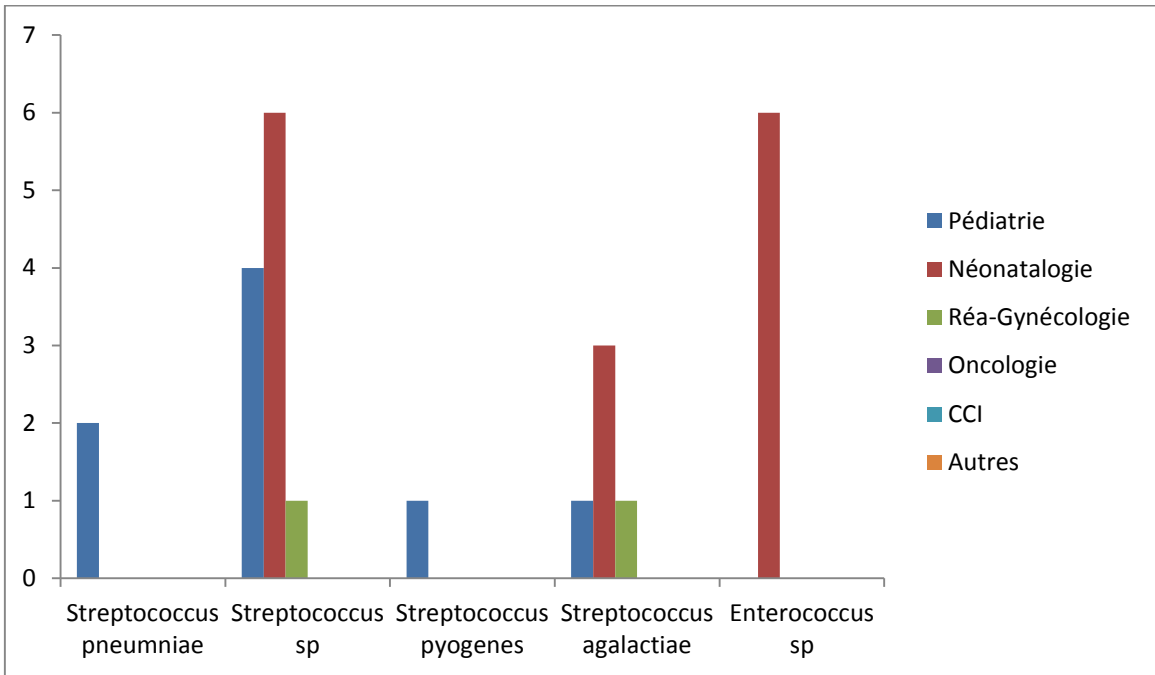


Figure 35 : Répartition des Staphylocoques-Entérocoques selon les espèces dans chaque Service n=25

5.3. Profil de résistance aux antibiotiques :

5.3.1. Antibiorésistance des BGN selon les espèces bactériennes isolées à la Clinique HBB :

5.3.1.1. Etude de la résistance des Entérobactéries aux principaux antibiotiques :

Tableau 27 : Profil global de résistance des Entérobactéries n=180

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|--|----------------|---------------|-------------|
| Ampicilline | 167 | 04 | 171 |
| Amoxicilline + Ac.clavulanique | 97 | 24 | 121 |
| Céphalosporines de 1ère génération (C1G) | 131 | 16 | 147 |
| Céphalosporines de 3ème génération (C3G) | 113 | 57 | 170 |
| Imipenème | 02 | 133 | 135 |
| Amikacine | 11 | 110 | 121 |
| Gentamycine | 26 | 29 | 55 |
| Acide nalidixique | 54 | 70 | 124 |
| Ciprofloxacine | 54 | 106 | 160 |
| Chloramphénicol | 01 | 25 | 26 |
| Fosfomycine | 00 | 03 | 03 |
| Bactrim | 66 | 58 | 124 |

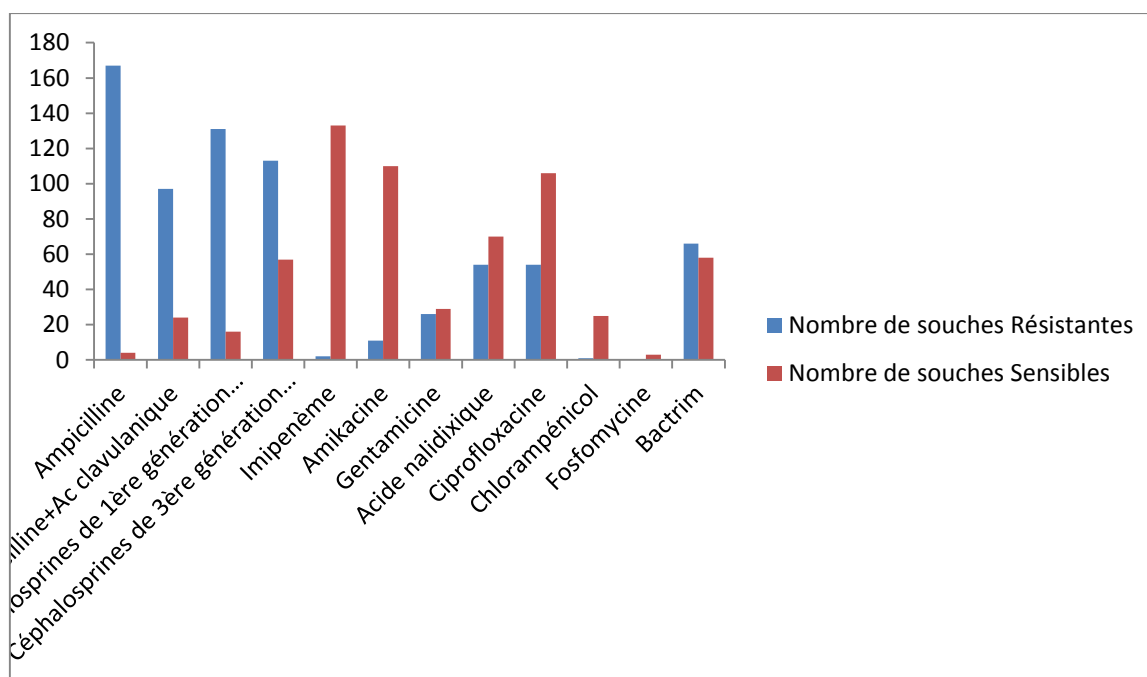


Figure 36: Profil de résistance des entérobactéries aux antibiotiques n=180

Tableau 28 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* n=100

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|--|----------------|---------------|-------------|
| Amoxicilline + Ac.clavulanique | 54 | 04 | 58 |
| Céphalosporines de 1ère génération (C1G) | 77 | 02 | 79 |
| Céphalosporines de 3ème génération (C3G) | 94 | 02 | 96 |
| Imipenème | 01 | 71 | 72 |
| Amikacine | 07 | 52 | 59 |
| Gentamicine | 21 | 05 | 26 |
| Acide nalidixique | 45 | 24 | 69 |
| Ciprofloxacine | 43 | 47 | 89 |
| Chloramphénicol | 00 | 19 | 19 |
| Bactrim | 53 | 12 | 65 |

Tableau 29 : Profil de résistance de *Serratia marcescens* n=42

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|--|----------------|---------------|-------------|
| Amoxicilline + Ac.clavulanique | 25 | 11 | 36 |
| Céphalosporines de 1ère génération (C1G) | 31 | 04 | 35 |
| Céphalosporines de 3ème génération (C3G) | 03 | 33 | 36 |
| Imipenème | 01 | 35 | 36 |
| Amikacine | 01 | 35 | 36 |
| Gentamicine | 01 | 17 | 18 |
| Acide nalidixique | 01 | 34 | 35 |
| Ciprofloxacine | 01 | 35 | 36 |
| Chloramphénicol | 00 | 02 | 02 |
| Bactrim | 01 | 35 | 36 |

Tableau 30 : Profil de résistance de l'espèce *Escherichia coli* n=12

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|--|----------------|---------------|-------------|
| Ampicilline | 10 | 02 | 12 |
| Amoxicilline + Ac.clavulanique | 05 | 01 | 06 |
| Céphalosporines de 1ère génération (C1G) | 05 | 05 | 10 |
| Céphalosporines de 3ème génération (C3G) | 04 | 08 | 12 |
| Imipenème | 00 | 08 | 08 |
| Amikacine | 00 | 08 | 08 |
| Gentamicine | 02 | 04 | 06 |
| Acide nalidixique | 01 | 05 | 06 |
| Ciprofloxacine | 04 | 07 | 11 |
| Chloramphénicol | 01 | 03 | 04 |
| Bactrim | 02 | 02 | 04 |

Tableau 31 : Profil de résistance de l'espèce *Enterbacter sp* n=19

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|--|----------------|---------------|-------------|
| Ampicilline | 16 | 01 | 17 |
| Amoxicilline + Ac.clavulanique | 09 | 05 | 14 |
| Céphalosporines de 1ère génération (C1G) | 13 | 02 | 15 |
| Céphalosporines de 3ème génération (C3G) | 09 | 08 | 17 |
| Imipénème | 00 | 12 | 12 |
| Amikacine | 02 | 09 | 11 |
| Acide nalidixique | 04 | 05 | 09 |
| Ciprofloxacine | 04 | 11 | 15 |
| Bactrim | 08 | 04 | 12 |

5.3.1.1.1. Répartition des Entérobactéries selon leur mécanisme de résistance :

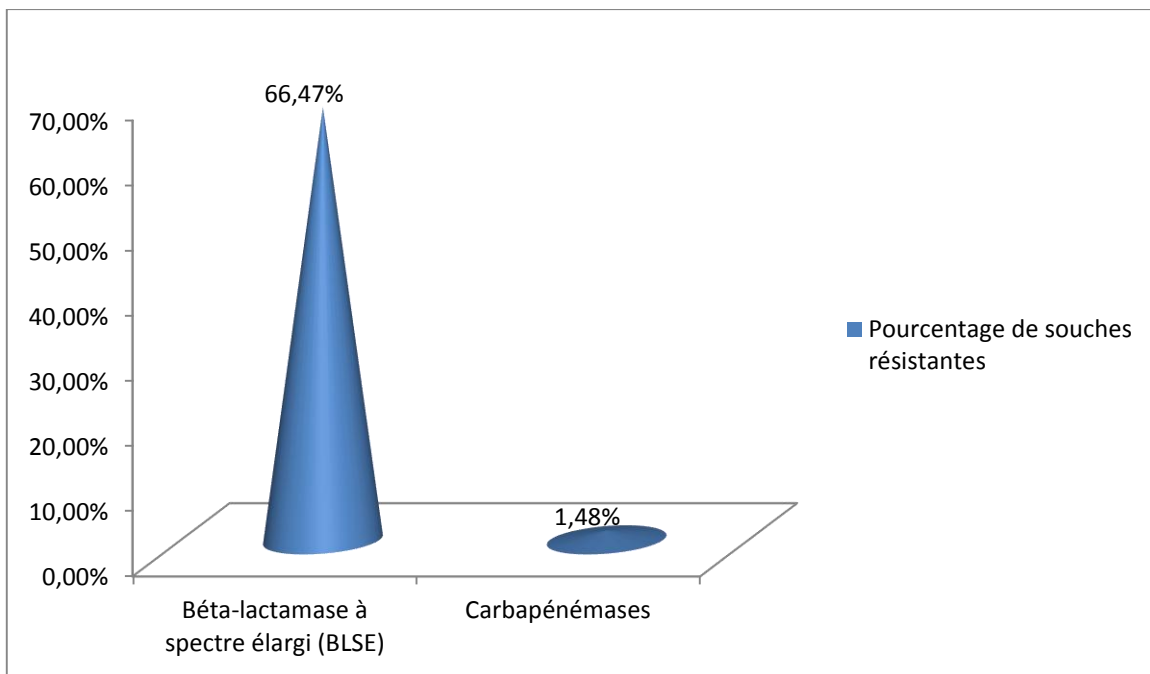


Figure 37 : Mécanismes de résistance des Entérobactéries

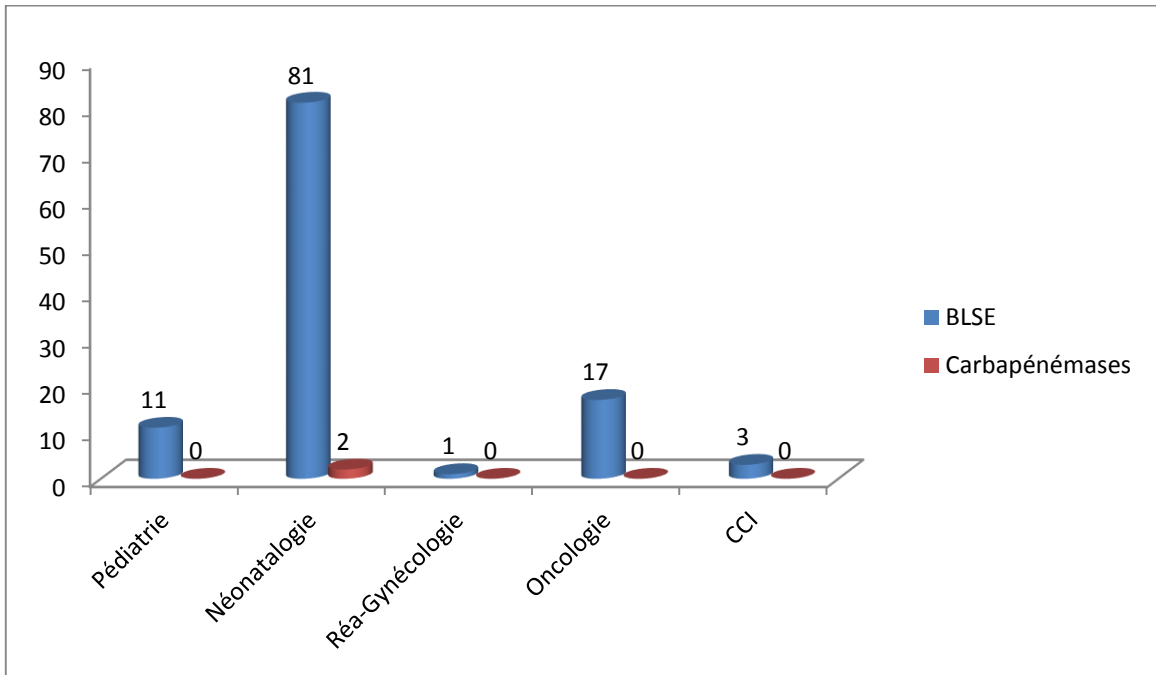


Figure 38 : Répartition des résistances des Entérobactéries dans chaque service

5.3.1.1.1. Répartition des Entérobactéries BLSE selon les espèces retrouvées :

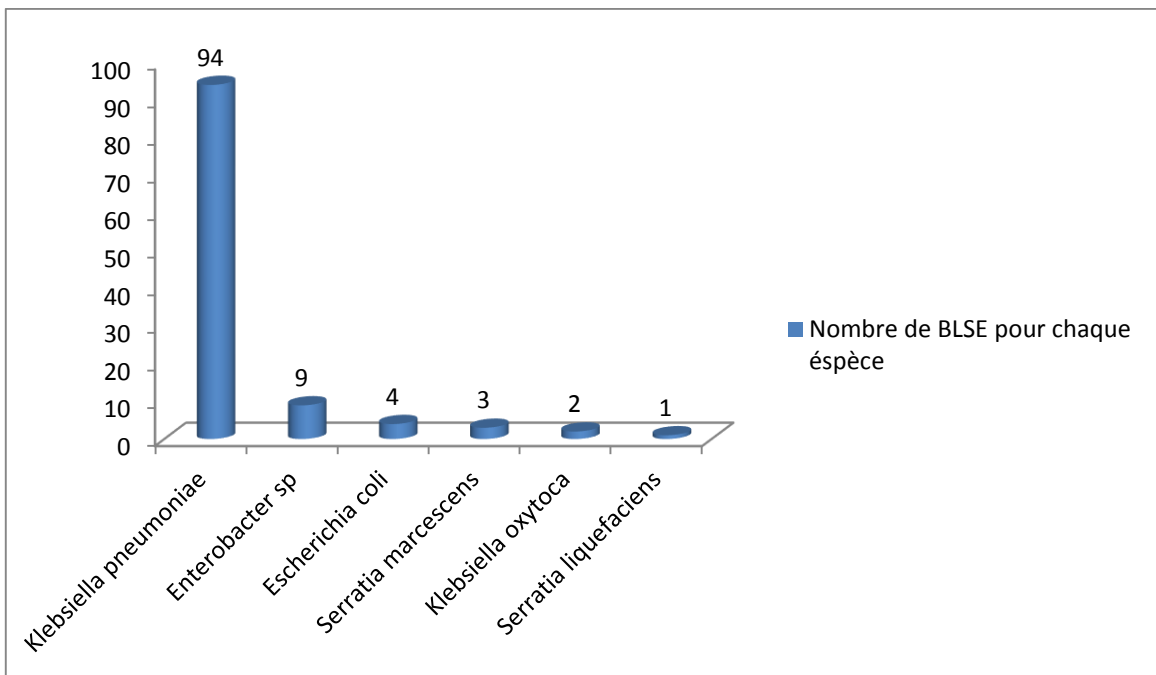


Figure 39 : Répartition des Entérobactéries BLSE selon les espèces isolées n=113

Tableau 32 : Répartition des espèces BLSE selon le service

| Service | <i>Kp</i> | Enterobacter sp | E.coli | Serratia marcescens | K. oxytoca | Serratia liquefaciens | Total |
|-------------------------------|-----------|-----------------|--------|---------------------|------------|-----------------------|-------|
| Pédiatrie | 09 | 01 | 01 | 00 | 00 | 00 | 11 |
| Néonatalogie | 71 | 04 | 00 | 03 | 02 | 01 | 81 |
| Réa-Gynécologie | 00 | 00 | 01 | 00 | 00 | 00 | 01 |
| Oncologie-Pédiatrique | 13 | 03 | 01 | 00 | 00 | 00 | 17 |
| Centre de Chirurgie Infantile | 01 | 01 | 01 | 00 | 00 | 00 | 03 |
| Total | 94 | 09 | 04 | 03 | 02 | 01 | 113 |

Tableau 33 : Profil de résistance des Entérobactéries BLSE n=113

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|--------------------------|----------------|---------------|-------------|
| Imipenème | 00 | 86 | 86 |
| Amikacine | 10 | 61 | 71 |
| Gentamicine | 25 | 07 | 32 |
| Acide nalidixique | 49 | 29 | 78 |
| Ciprofloxacine | 52 | 52 | 104 |
| Chloramphénicol | 01 | 18 | 19 |
| Bactrim | 61 | 16 | 77 |

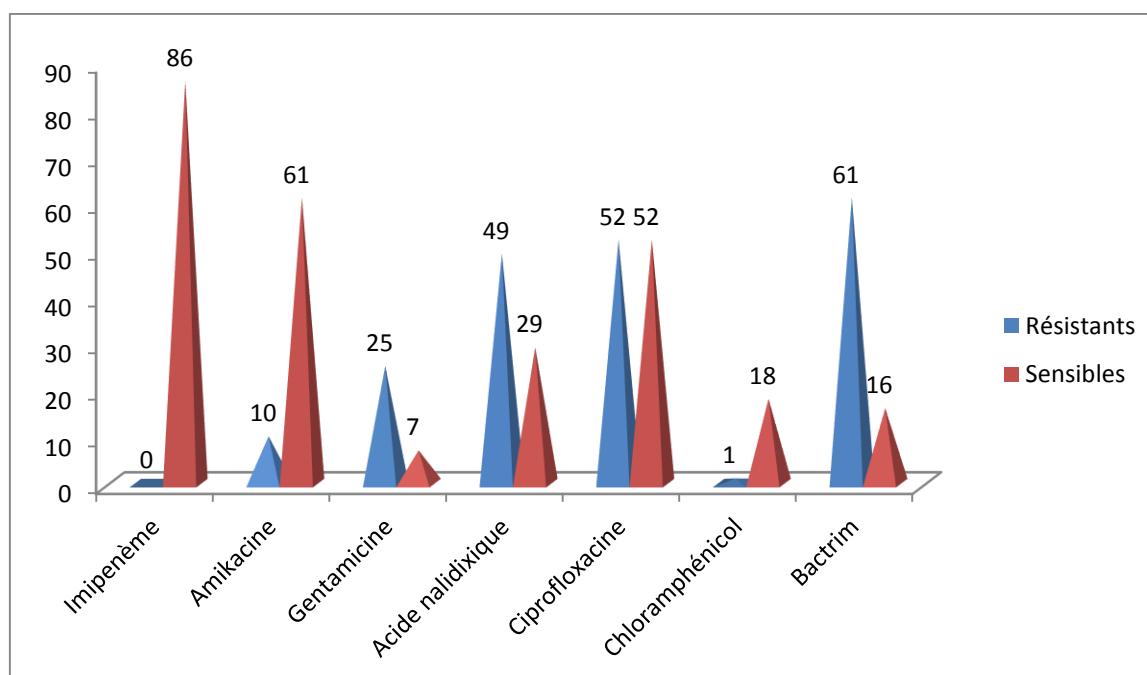


Figure 40 : Profil de résistance des Entérobactéries BLSE n=113

5.3.1.1.2. Répartition des Entérobactéries Carbapénèmases selon les espèces isolées :

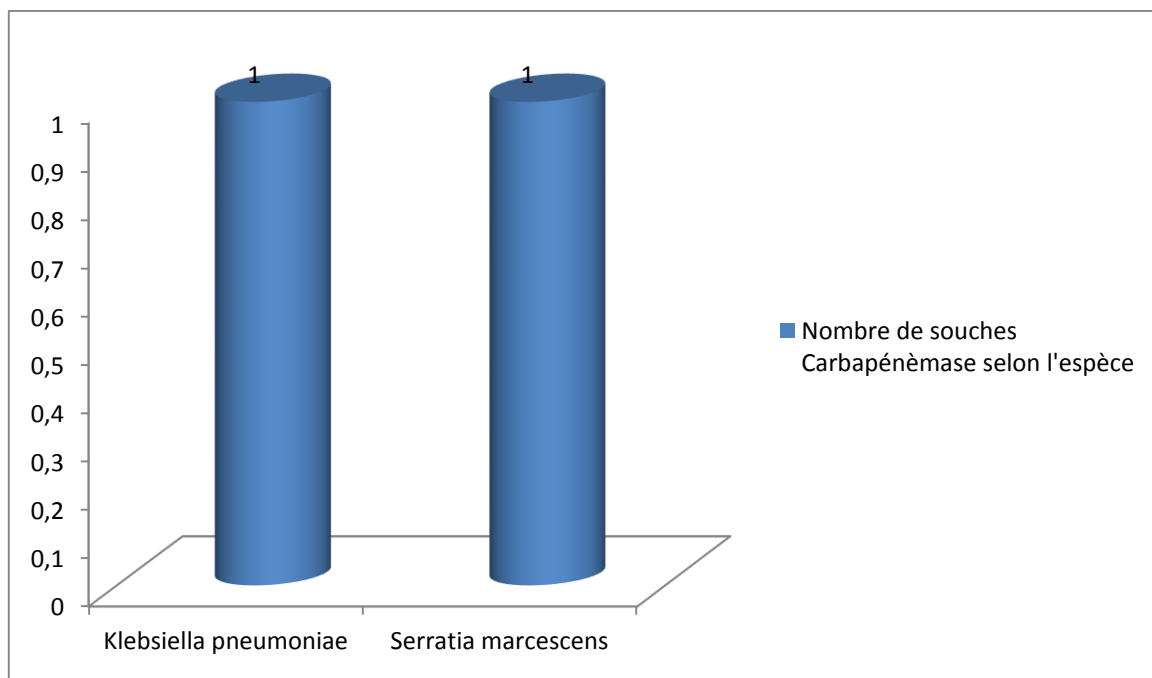


Figure 41 : Répartition des souches Carbapénèmases en Néonatalogie

5.3.1.2. Etude de la résistance des BGN oxydatifs aux principaux antibiotiques :

5.3.1.2.1. Profil de résistance des souches *Acinetobacter baumannii* :

Tableau 34 : Profil de résistance des souches *Acinetobacter baumannii* n=18

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|----------------|----------------|---------------|-------------|
| Ticarcilline | 12 | 05 | 17 |
| Pipéracilline | 13 | 03 | 16 |
| Céftazidime | 17 | 01 | 18 |
| Imipénème | 09 | 07 | 16 |
| Amikacine | 10 | 04 | 14 |
| Gentamycine | 09 | 02 | 11 |
| Ciprofloxacine | 12 | 06 | 18 |
| Lévofloxacine | 07 | 05 | 12 |
| Bactrim | 11 | 03 | 14 |
| Rifampicine | 00 | 07 | 07 |

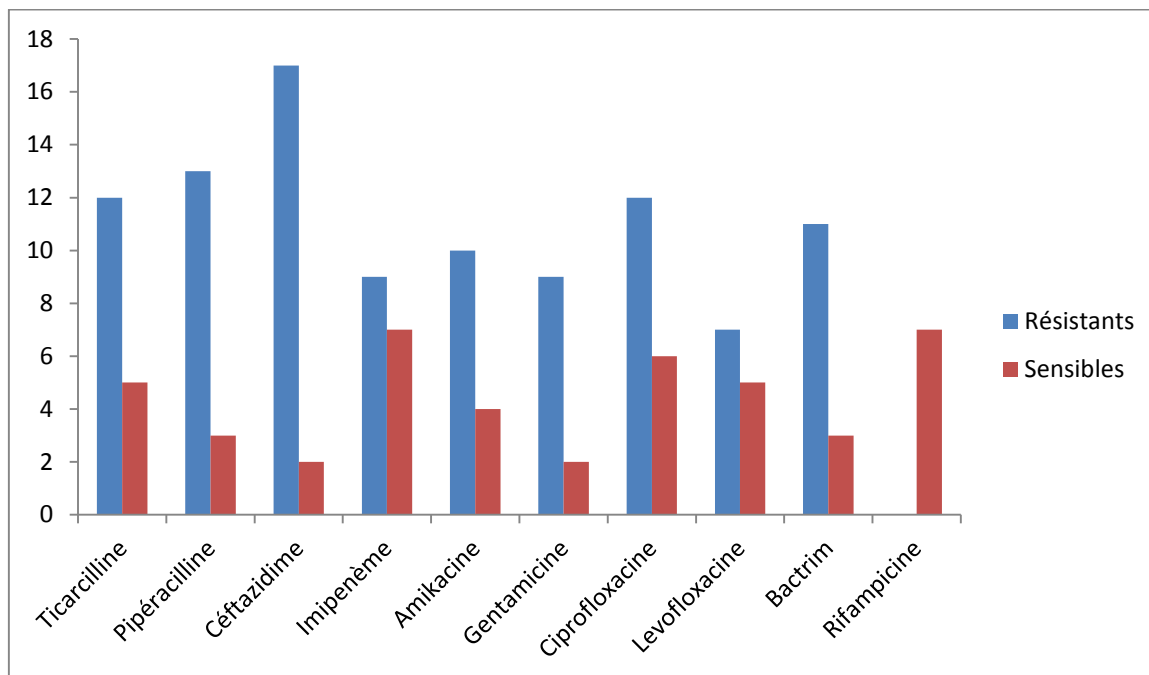


Figure 42 : Profil de résistance des souches *Acinetobacter baumannii* n=18

5.3.1.2.2. Profil de résistance des souches *Pseudomonas sp* :

Tableau 35 : Profil de résistance des souches *Pseudomonas sp* n= 17

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|-----------------------|----------------|---------------|-------------|
| Ticarcilline | 07 | 07 | 14 |
| Pipéracilline | 02 | 07 | 09 |
| Céftazidime | 02 | 14 | 16 |
| Imipénème | 03 | 10 | 13 |
| Amikacine | 02 | 13 | 15 |
| Gentamycine | 01 | 07 | 08 |
| Ciprofloxacine | 00 | 14 | 14 |
| Lévofloxacine | 00 | 12 | 12 |
| Bactrim | 00 | 00 | 00 |
| Rifampicine | 02 | 04 | 06 |

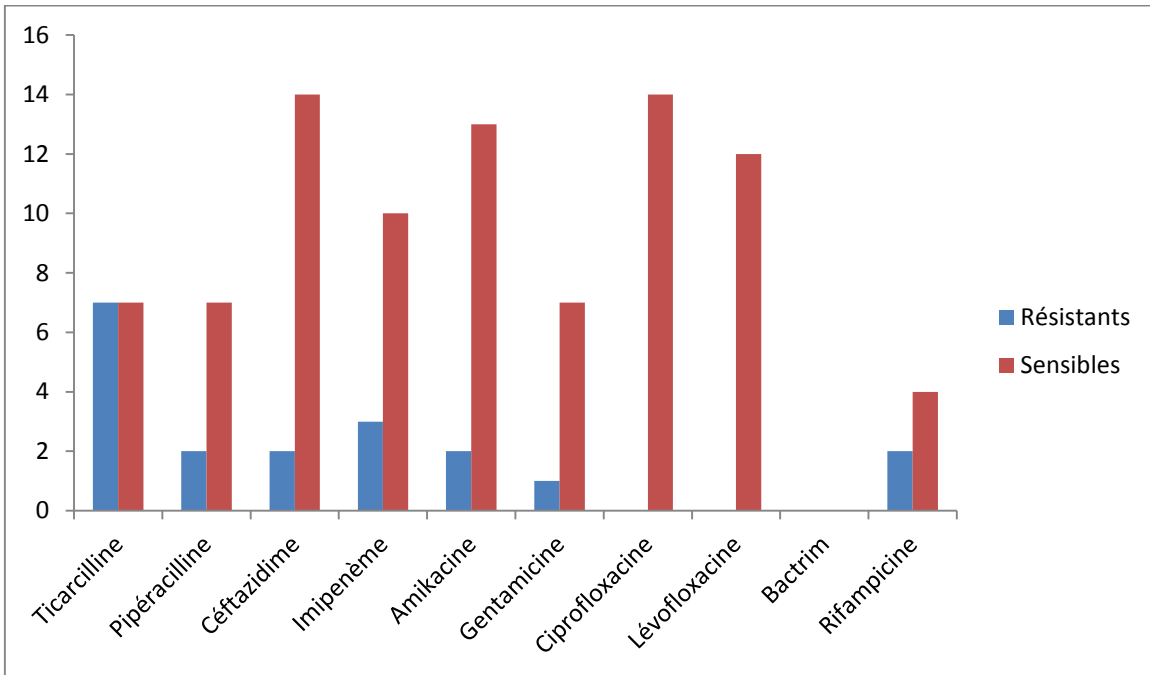


Figure 43 : Profil de résistance des souches *Pseudomonas sp* n=17

5.3.2. Antibiorésistance des CGP selon les espèces bactériennes retrouvées à la Clinique HBB :

5.3.2.1. Etude de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques :

5.3.2.1.1. Profil de résistance des souches *Staphylococcus aureus* :

Tableau 36 : Profil de résistance de *Staphylococcus aureus* n=8

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|-----------------|----------------|---------------|-------------|
| Cefoxitine | 05 | 02 | 07 |
| Gentamicine | 01 | 00 | 01 |
| Kanamycine | 03 | 01 | 04 |
| Erythromycine | 04 | 02 | 06 |
| Clindamycine | 02 | 04 | 06 |
| Vancomycine | 00 | 06 | 06 |
| Teicoplanine | 00 | 06 | 06 |
| Rifampicine | 02 | 01 | 03 |
| Tétracycline | 00 | 04 | 04 |
| Chloramphénicol | 00 | 04 | 04 |
| Pristinamycine | 00 | 06 | 06 |
| Acide fusidique | 03 | 03 | 06 |
| Fosfomycine | 01 | 05 | 06 |

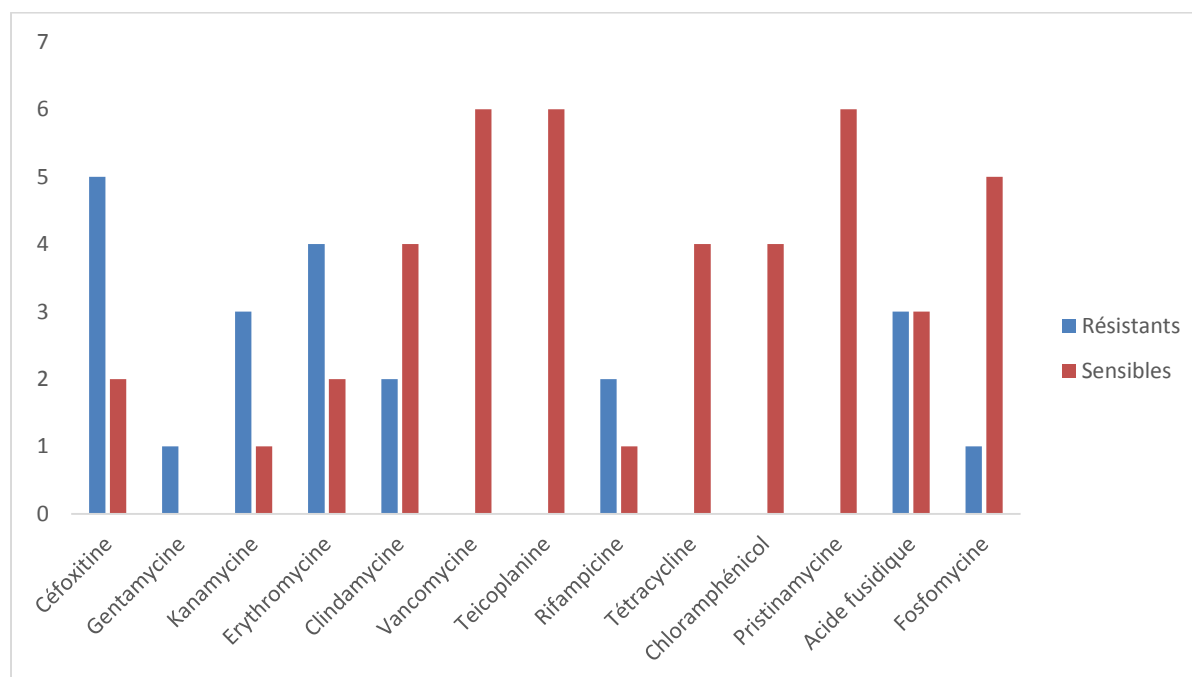


Figure 44: Profil de résistance des souches *Staphylococcus aureus* n=8

5.3.2.1.1.1. Répartition de *Staphylococcus aureus* Méricillino-résistant selon le service :

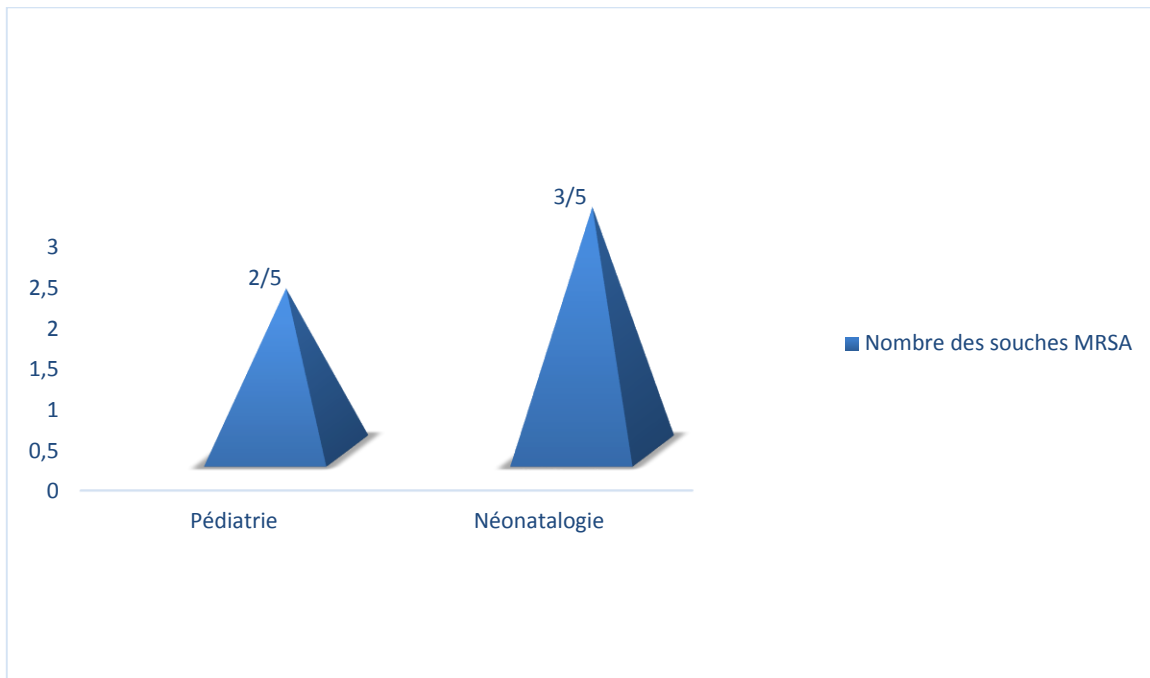


Figure 45: Nombre de souches MRSA dans chaque service n=5

5.3.2.1.2. Profil de résistance des souches *Staphylococcus coagulase négative* (SCN) :

Tableau 37 : Profil de résistance des SCN n=30

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|-----------------|----------------|---------------|-------------|
| Cefoxitine | 23 | 04 | 27 |
| Gentamicine | 06 | 04 | 10 |
| Kanamycine | 19 | 02 | 21 |
| Erythromycine | 17 | 12 | 29 |
| Clindamycine | 07 | 22 | 29 |
| Vancomycine | 01 | 28 | 29 |
| Teicoplanine | 00 | 27 | 27 |
| Ofloxacine | 13 | 15 | 28 |
| Rifmapicine | 09 | 12 | 21 |
| Tétracycline | 01 | 17 | 18 |
| chloramphénicol | 00 | 16 | 16 |
| Pristinamycine | 00 | 28 | 28 |
| Acide fusidique | 20 | 08 | 28 |
| Fosfomycine | 03 | 26 | 29 |

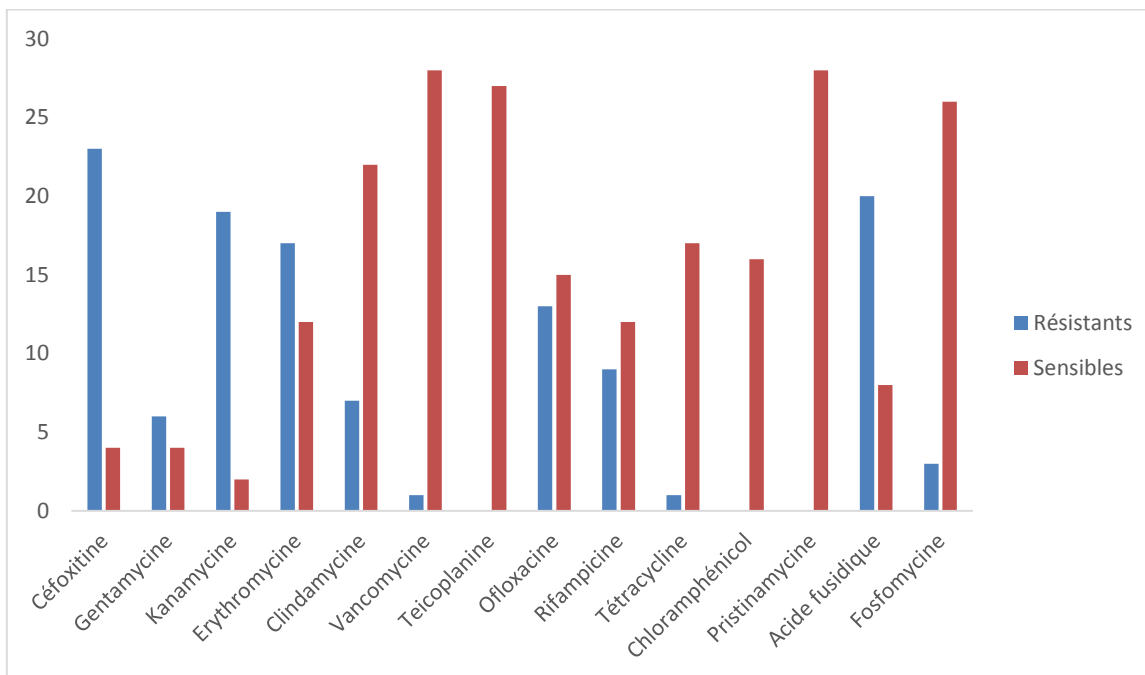


Figure 46 : Profil de résistance des SCN n=30

5.3.2.2. Profil de résistance des souches *Enterococcus sp* :

Tableau 38: Profil de résistance des souches *Enterococcus sp* n=6

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|-----------------|----------------|---------------|-------------|
| Ampicilline | 06 | 00 | 06 |
| Tétracycline | 04 | 00 | 04 |
| Vancomycine | 00 | 06 | 06 |
| Teicoplanine | 00 | 05 | 05 |
| Lévofloxacine | 06 | 00 | 06 |
| Erythromycine | 05 | 01 | 06 |
| Rifampicine | 03 | 03 | 06 |
| Fosfomycine | 01 | 00 | 01 |
| Chloramphénicol | 00 | 05 | 05 |

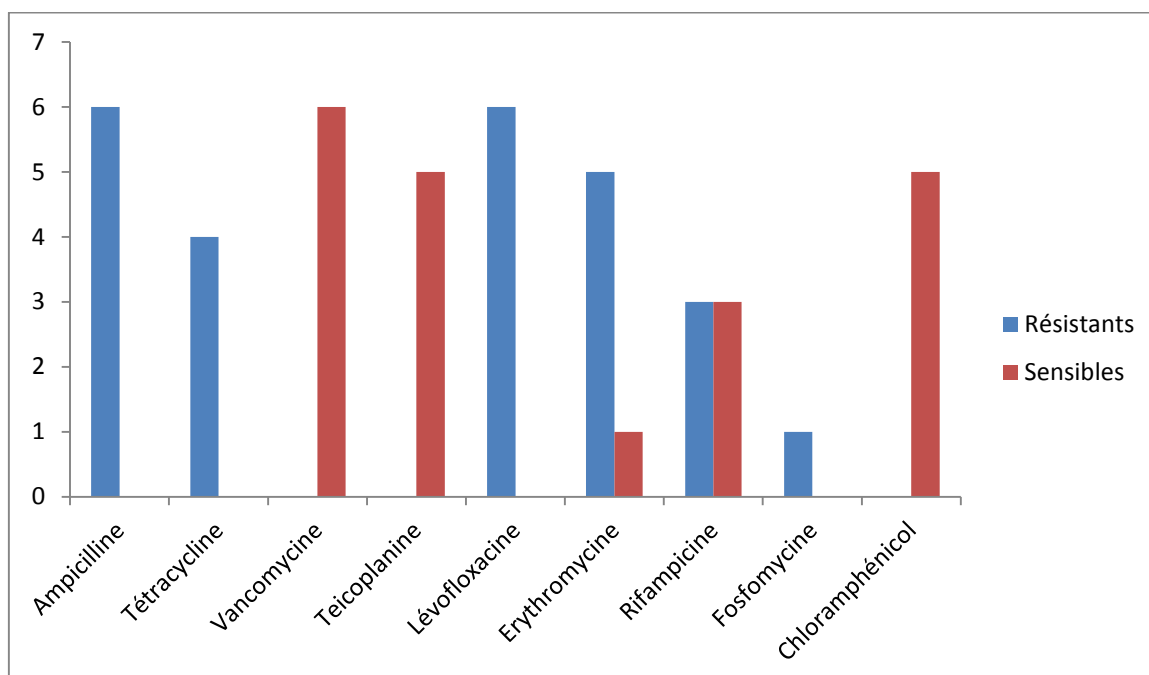


Figure 47 : Profil de résistance des souches *Enterococcus sp.* n=6

5.3.2.3. Etude de la résistance des Streptocoques aux antibiotiques :

5.3.2.3.1. Profil de résistance de *Streptococcus pneumoniae* :

Tableau 39 : Profil de résistance de *Streptococcus pneumoniae* n=2

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|------------------------|----------------|---------------|-------------|
| Amoxicilline | 00 | 02 | 02 |
| Céfotaxime | 00 | 02 | 02 |
| Imipénème | 00 | 02 | 02 |
| Vancomycine | 00 | 02 | 02 |
| Erythromycine | 00 | 02 | 02 |
| Clindamycine | 00 | 02 | 02 |
| Chloramphénicol | 00 | 02 | 02 |
| Pristinamycine | 00 | 02 | 02 |
| Fosfomycine | 00 | 02 | 02 |

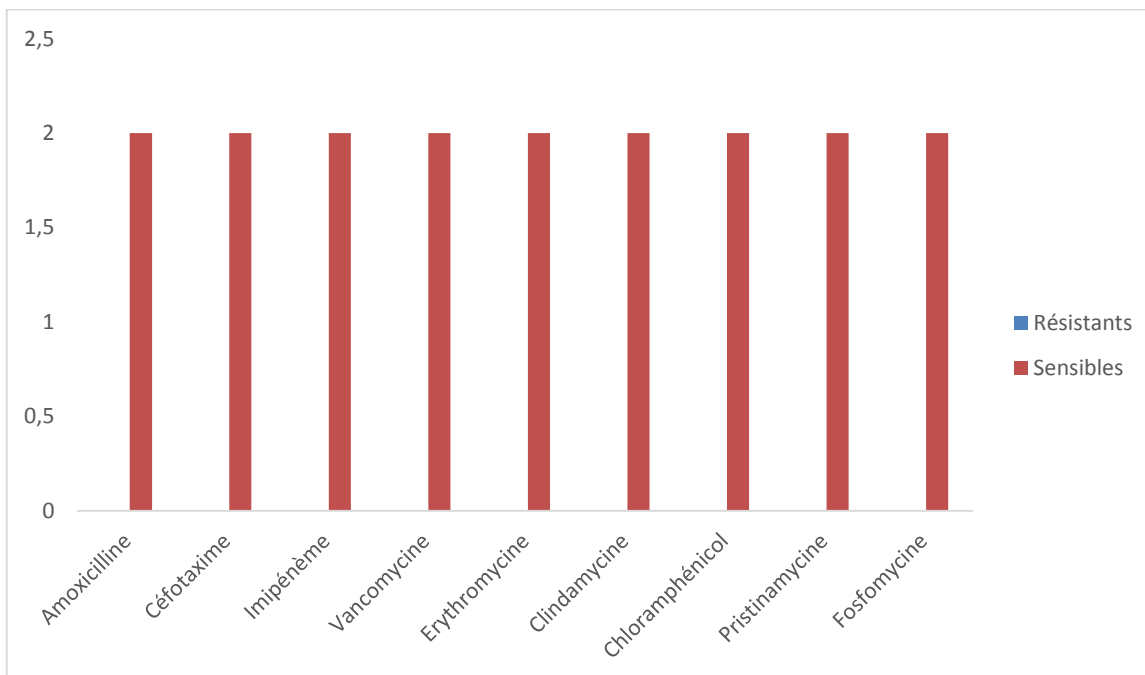


Figure 48 : Profil de résistance des souches *Streptococcus pneumoniae* n=2

5.3.2.3.2. Profil de résistance des souches Streptocoque B :

Tableau 40 : Profil de résistance de Streptocoque B n=5

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|-----------------|----------------|---------------|-------------|
| Ampicilline | 00 | 05 | 05 |
| Gentamicine | 00 | 01 | 01 |
| Erythromycine | 02 | 03 | 05 |
| Clindamycine | 03 | 02 | 05 |
| Vancomycine | 00 | 05 | 05 |
| Chloramphénicol | 00 | 05 | 05 |
| Rifampicine | 00 | 01 | 01 |

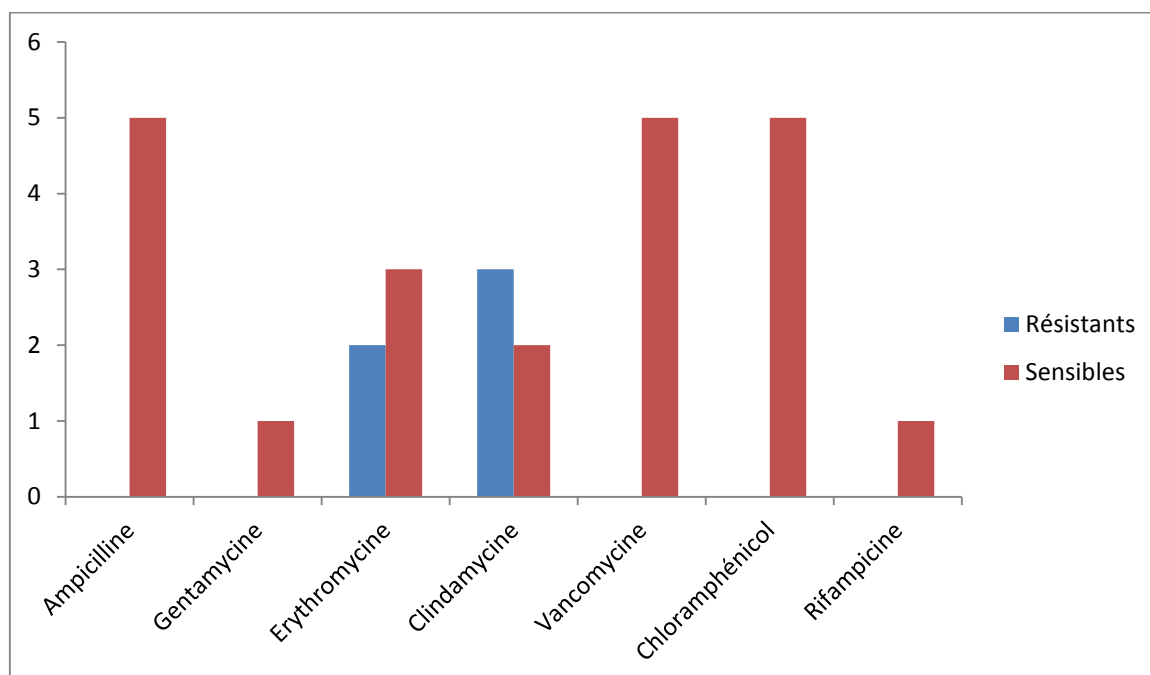


Figure 49 : Profil de résistance de souches Streptocoque B n=5

5.3.2.3.3. Profil de résistance des souches *Streptococcus sp* :

Tableau 41 : Profil de résistance de *Streptococcus sp* n= 12

| Antibiotiques | Résistants (R) | Sensibles (S) | Total (R+S) |
|-----------------|----------------|---------------|-------------|
| Ampicilline | 03 | 06 | 09 |
| Céfotaxime | 04 | 05 | 09 |
| Gentamycine | 01 | 01 | 02 |
| Erythromycine | 01 | 08 | 09 |
| Clindamycine | 03 | 07 | 10 |
| Tétracycline | 02 | 03 | 05 |
| Vancomycine | 00 | 10 | 10 |
| Chloramphénicol | 01 | 07 | 08 |
| Rifampicine | 01 | 04 | 05 |
| Pristinamycine | 00 | 09 | 09 |
| Lévofloxacine | 00 | 05 | 05 |

6. Discussion :

Les bactériémies présentent un énorme problème de santé publique par leur morbidité et mortalité significatives à travers le monde. Il s'agit d'une urgence diagnostique et thérapeutique et le meilleur moyen de diagnostic repose sur la réalisation des hémocultures.

Dans notre étude rétro- prospective qui a été réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie : Mère-Enfant-Clinique Hassiba Ben Bouali (HBB) du centre hospitalier universitaire CHU de Blida durant la période allant de Mars 2016 au Mars 2018, 1660 flacons d'hémocultures reçus au laboratoire de Microbiologie où 643(38,73%) cas enregistrés en 2016 (Mars-Décembre), 860 (51,80%) cas enregistrés en 2017 (Janvier-Décembre) et enfin 157(9,46%) cas enregistrés en 2018 (du Janvier au Mars).

Sur un total de 1660 flacons d'hémocultures, le pourcentage de positivité enregistré était de 17,83% (296/1660). Celui-ci indique le taux des bactériémies diagnostiquées à la clinique HBB. Contre 71,51% (1187/1660) flacons d'hémocultures négatifs.

Ce taux est inférieur à celui qui avait été retrouvé dans une étude de profil bactériologique des bactériémies à bacilles Gram négatif au niveau du laboratoire de Microbiologie du centre hospitalier universitaire CHU Benbadis de Constantine ^[5], sur une période d'une année (avril 2016 – avril 2017) ; le pourcentage de positivité enregistré était de 31% cas ce qui correspondait à 1073 sur un total de 3408 hémocultures reçues.

Dans les 1660 prélèvements d'hémocultures reçus au laboratoire de Microbiologie, le pourcentage des hémocultures enregistrées selon les services était : 712 (42,89%) hémocultures liées au service Pédiatrique, 561 cas (33,79%) en Néonatalogie, 107 cas (6,44%) en Réa-Gynécologie, 189 cas (11,40%) en Oncologie-Pédiatrique, 51 cas (3,07%) en CCI (Centre de Chirurgie Infantile) et enfin 40 cas (2,41%) d'hémocultures reçues au laboratoire par d'autres établissements de santé.

Aussi, on a trouvé un pourcentage égal à 10,66% (177/1660) d'hémocultures contaminées répartis par ordre de fréquence : 51,97% (92/177) en Néonatalogie, 37,85% (67/177) en Pédiatrie, 3% (6/177) pour le service d'Oncologie-Pédiatrique et Réa-Gynécologie, 1% (3/177) en CCI et autres services en dehors de la clinique HBB tels pneumologie, rhumatologie.

Donc 296 épisodes de bactériémies diagnostiquées sur un total de 1660 flacons d'hémocultures reçus au laboratoire de Microbiologie de la clinique Mère-Enfant Hassiba Ben Bouali ce qui correspond à 17,83%, c'est un taux très faible par rapport à notre échantillonnage, dans laquelle Deux cent soixante-treize (273/296) bactériémies étaient d'origine nosocomiale (92,22%), six (06/296) bactériémies étaient d'origine Materno-fœtale (2,03%) et dix-sept (17/296) étaient d'origine communautaire (5,74%). Ces pourcentages sont calculés en se basant sur la qualité des germes isolés ainsi pour l'origine nosocomiale des bactériémies, les patients hospitalisés avaient un séjour plus de 48H ce qui nous a orienté à incriminer certains germes comme pathogène nosocomiale.

Dans les 273 bactériémies nosocomiales, on a trouvé 58,97% attribués au service de Néonatalogie, 17,95% pour le service de Pédiatrie et 14,65% en Oncologie-Pédiatrique et en nombre faible 3,29% pour la Réa-Gynécologie, 3,66% pour le service de CCI.

Le profil bactériologique dans notre étude rétro-prospective est marqué par une prédominance des Bacilles Gram négatif (BGN) qui représentaient 230 /296 cas soit 77,70% par rapport aux

Cocci Gram positif (CGP) qui occupaient 66/296 cas soit 22,30%. Par rapport à ceux trouvés dans l'étude de Constantine sur le profil bactériologique des BGN pendant une année (2016-2017) [5], le profil était marqué par une légère prédominance des Cocci à Gram positif qui représentaient (51%) par rapport aux bactéries à Gram négatif (49%). Aussi l'étude qui a été faite au sein du service des maladies infectieuses du CHU de Bejaia [98] durant une période de six ans allant de mois de janvier 2011 au mois de décembre 2016 a publié des résultats similaires à ceux qu'on a trouvé dont 44,73% étaient des hémocultures positives à BGN et 13,16% cas des Hémocultures positives à CGP. La prédominance des BGN est inquiétante dans un service hospitalier car elle reflète la qualité de l'hygiène.

Parmi les BGN retrouvés, les Entérobactéries ont occupé la première position avec un pourcentage de 78,26% (180/230), les BGN non fermentaires (oxydatifs) viennent en seconde place 15,65% (36/230) et enfin autres BGN ont occupé 6,09% (14/230).

Cent quatre-vingt (180) Entérobactéries sont essentiellement représentées par 100/180 isolats (55,55%) de *Klebsiella pneumoniae*, 42/180 isolats (23,33%) de *Serratia marcescens*, 19/180 isolats (10,55%) de l'espèce *Enterobacter sp*, 12/180 isolats (6,66%) d'*Escherichia coli*, 4/180 isolats ce qui correspond à 2,22% de *Klebsiella oxytoca* et une seule espèce (1/180) pour *Proteus mirabilis* et (1/180) de *Salmonella sp* ont été retrouvés. Ceci diffère à ce qui a été trouvé dans l'étude de Constantine [5] sur une période d'une année où les Entérobactéries ont été dominées par *Escherichia coli* avec un pourcentage de 19,1%, suivie par *Klebsiella pneumoniae* 16,6%, *Enterobacter cloacae* 5,8%.

Sur les 36 BGN non oxydatifs, on a isolé essentiellement 18/36 souches (50%) de l'espèce *Acinetobacter baumannii* et 14/36 souches (38,88%) de *Pseudomonas aeruginosa*, 2/36 souches seulement (5,5%) de *Pseudomonas stutzeri* ont été trouvés.

Ainsi qu'on a trouvé 14 isolats des autres BGN, représentés par 6/14 souches *Alcaligenes faecalis* et 2/14 souches *Aeromonas sp*, le reste 6/14 souches pour des BGN non déterminés.

Par ailleurs, dans les 66/296 isolats (22,30%) de Cocci Gram positif ; on a retrouvé 38/66 isolats (57,57%) de Staphylocoques repartis essentiellement comme suit : Les *Staphylocoques coagulases négatives* (SCN) et le *Staphylococcus aureus* avec des taux respectifs 30/38 (78,94%) et 8/38 (21,05%).

Les Streptocoques-Entérocoques viennent après avec une fréquence de 25/66 isolats (37,87%) où les Streptocoques ont occupé 19/25 et les Entérocoques 6/25 souches.

On a trouvé 11/19 souches de *Streptococcus sp* (espèces non identifiées), 5/19 souches de *Streptococcus agalactiae*, le *Streptococcus pneumoniae* a pris 2/19 des souches et seulement une espèce Sur 19 de *Streptococcus pyogenes*. L'espèce *Enterococcus sp* est retrouvée dans six isolats (6/25) d'hémocultures positives à Cocci Gram positif.

Et enfin 4,54% pour autres CGP qui n'ont pas été identifiés.

Les Staphylocoques ont prédominé dans notre étude contrairement à l'étude réalisée en milieu hospitalier pédiatrique de Bamako (2002-2008) [72] où 5,20% (1141/ 21923) de flacons d'hémocultures étaient positifs à CGP avec *Streptococcus pneumoniae* était le chef de file avec un taux de 4,35% (952/1141) suivi par le *Staphylococcus aureus* qui a occupé 0,86% (189/1141).

Sur les 177 flacons d'hémocultures contaminés, on a défini 93,22% soit 165/177 à *Staphylocoque coagulase négative*, 1,7% (3/177) à des Bacilles Gram positif (*Bacillus*,

Corynebacterium), 1% (2/177) à *Candida albicans* et 3% (7/177) répartis en *Lactococcus lactis* ; *Micrococcus*, *Sphingobacterie*. Ces contaminants sont répartis sur les différents services de la clinique HBB.

Nous avons diagnostiqué 296 bactériémies réparties sur 6 services. On a constaté que le service de Néonatalogie a enregistré le taux le plus important de bactériémies dont : 173/296 (58,44%), suivi par le service de Pédiatrie avec 58/296 (19,59%), suivi par l'Oncologie-Pédiatrique avec 40/296 (13,5%). En revanche, la plus basse distribution est enregistrée au service de Réa-Gynécologie, CCI dont le taux respectifs de 11/296 (3,71%) et 10/296 (3,38%) bactériémies, et enfin 4 /296 (1%) bactériémies ont été attribuées aux autres services y compris Pneumologie, Rhumatologie et Chirurgie.

Dans cette optique, on a étudié le profil bactériologique des hémocultures de chaque service à part.

Le pourcentage de positivité des hémocultures dans l'unité de Néonatalogie était de 30,84% (173/561) flacons d'hémocultures enregistrés durant notre étude.

Dans les 173 épisodes bactériémiques, on a trouvé 51% (89/173) des nouveau-nés hospitalisés étaient sous choc septique, 48% (84/173) sont déclarés prématurés, 36% (63/173) ont associés un SDR et 34% (59/173) étaient sous fièvre. Pour la pneumopathie et la gastro-entérite-aigue (GEA) sont mentionnées uniquement chez 2% (3/173) des nouveau-nés.

Le profil bactériologique dans l'unité de Néonatalogie est représenté par un nombre élevé des Bacilles Gram négatif avec une fréquence de 138/173 isolats (79,77%), alors que 35/173 isolats (20,23%) sont des Cocci Gram positif. ce qui reflète l'origine nosocomiale des bactériémies diagnostiquées en Néonatalogie.

Les 138 BGN isolés sont représentés essentiellement par les Entérobactéries : 89,85% (124 isolats sur 138) dont *Klebsiella pneumoniae* a occupé 61,29% (76/124) des entérobactéries isolées, 30,64% (38/124) de *Serratia marcescens*, en faible partie les espèces suivantes : *Enterobacter sp* et *Escherichia coli* avec respectivement 3,22% (4/124) et 2,42% (3/124).

Les BGN oxydatifs étaient 7,97% (11 isolats sur 138) de l'ensemble des BGN et sont réparties en *Acinetobacter baumannii* : 8 souches sur 11 et *Pseudomonas aerogenosa* : 3 souches sur 11.

Dans autres BGN, on a trouvé deux (2) souches de l'espèce *Alcaligenes faecalis*.

Aussi, dans les 35 isolats des CGP ; les Staphylocoques ont pris la moitié (51,43%) du total des isolats ce qui correspond à 18/35 souches ont été diagnostiquées suivi de 15/35 souches (42,86%) des Streptocoques-Entérocoques et 2/35 souches (5,71%) pour autres CGP.

Les 18 souches des Staphylocoques sont représentées par le *Staphylococcus aureus* où il a présenté 5 souches sur 18 et les *Staphylocoques coagulases négatives* 13 souches sur 18.

On a trouvé également 9 Streptocoques et 6 Entérocoques, le *Streptococcus sp* et l'*Enterococcus sp* ont eu le même nombre de souches (6 souches). Par ailleurs on a trouvé 3 souches sur 9 de *Streptococcus agalactiae*.

Les bactériémies néonatales (BN) sont surtout d'origine materno-foetale MF mais aussi nosocomiales N. Pour confirmer l'origine MF des bactériémies néonatales, des prélèvements chez le nouveau-né (liquide gastrique, méconium, des prélèvements périphériques des orifices) et chez la mère (liquide amniotique, lochies, ECBU) doivent être effectués en parallèles avec les hémocultures. Pour confirmer l'origine nosocomiales, des prélèvements des portes d'entrée (cathéters veineux centraux, sonde digestive, trachéale) et /ou ECBU et/ou prélèvements respiratoires du nouveau-né, sont nécessaires. Hors, dans notre étude, aucun prélèvement n'a été

reçu au laboratoire et nous n'avons aucune preuve bactériologique pour déterminer l'origine des bactériémies néonatales.

Toutefois, nous nous sommes basés sur les données épidémiologiques de la littérature:

Les bactéries impliquées dans les BN d'origine MF sont : Streptocoque B (40-60%), *E.coli K1* (20-30%), *Listeria monocytogenes* (5%). Les bactéries impliquées dans les BN d'origines nosocomiales sont les BGN (entérobactéries, pyocyaniques...) et Staphylocoques dorés et les bactéries multi résistantes. Dans notre étude, les bactériémies néonatales supposée d'origine nosocomiale a occupé 93,06% soit (161/173) contre 3,47% de bactériémies d'origine materno-fœtale soit (6/173). Ces chiffres sont inquiétants car ça reflétait l'état d'hygiène et le non-respect des bonnes pratiques d'asepsie dans cette unité de soin d'un côté, et de l'autre le taux des bactériémies d'origine materno-fœtale est sous-estimé car les prélèvements précoces chez le nouveau-né à l'admission et avant toute antibiothérapie ne sont hélas pas toujours réalisé dans cet ordre.

une étude sur les bactériémies néonatales a été réalisée à l'unité de microbiologie- Clinique Hassiba Ben Bouali- CHU Blida durant la période: Aout 2007-novembre 2011^[66], sur 182 flacons d'hémoculture positifs: 146 (78%) hémocultures étaient positives à des Bacilles Gram Négatif (BGN), dont *Serratia marcescens* a occupé 50% des BGN, suivi par *Klebsiella sp* 29.4%, *Pseudomonas sp* 7%, *Escherichia coli* 3.4%, *Enterobacter sp* : 3%.

36 (22%) hémocultures étaient positives à des Cocci Gram Positif (CGP) avec Streptocoque B : *Streptococcus agalactiae* 33%, Entérocoque 39%, *Staphylococcus aureus* 28%. Dans cette étude, les bactériémies néonatales supposées d'origine MF est de 17% soit (31 /182), ce taux est élevé par rapport à celui qu'on l'a trouvé (3,47%). Les bactériémies nosocomiales supposées d'origine nosocomiale étaient de 83% (151/182). Six ans après, nous constatons que le taux du diagnostic des bactériémies materno-fœtales avec preuve bactériologique à la clinique Hassiba Ben Bouali a baissé de 17% à 3,47% ce qui prouve la perte des bonnes habitudes des prélèvements d'hémocultures à l'admission du nouveau-né. Aussi, l'écologie microbienne de l'unité de Néonatalogie a évolué où on retrouve *Klebsiella pneumoniae* en tête de liste des étiologies des bactériémies néonatales prenant la place de *Serratia marcescens*.

Le nombre de flacons d'hémocultures contaminés était de 92/561 (16,40%), les contaminants sont répartis comme suit : 97,8% soit (90/92) à SCN dont *Staphylococcus hominis*, *S. epidermidis*, *S.heamolyticus* avec 2% soit (2/92) à *Lactococcus lactis*.

Le taux de positivité des hémocultures au sein du service de Pédiatrie est de 58/712 soit (8,15%) flacons enregistrés en Pédiatrie durant notre étude statistique.

Dans les 58 cas de bactériémies, 74% (43/58) des enfants hospitalisés étaient sous fièvre, 12% (7/58) mentionnés seulement, ont présenté une endocardite infectieuse, 10% (6/58) avaient un choc septique et un syndrome de détresse respiratoire (SDR), 8% (5/58) avaient une pneumopathie.

Le profil bactériologique est marqué par une légère dominance des BGN avec 60,34% (35 cas) par rapport à celui des CGP 39,66% (23 cas) sur un ensemble de 58 hémocultures positives diagnostiquées dans ce service.

Dans les BGN, les Entérobactéries ont occupé la première place (62,86%) soit 22 isolats sur 35, puis vient les BGN oxydatifs (25,71%) soit 9 isolats sur 35, avec autres BGN (11,43%) soit 4 isolats sur 35.

Parmi les entérobactéries diagnostiquées dans notre étude, *Klebsiella pneumoniae* avec un nombre de souches de 10/22, *Enterobacter sp* 4/22, *Serratia marcescens* et *Escherichia coli* avaient le même nombre de souches : 3/22, et une seule espèce de *Salmonella sp*.

Aussi, les 9 isolats des BGN oxydatifs sont partagés en : 5/9 de *Pseudomonas aerogenosa*, suivi de 3/9 de l'espèce *Acinetobacter baumannii* et une souche (1/9) de *Pseudomonas stutzeri*.

Nos résultats est proche à celui retrouvé dans le profil bactériologique des isolats d'hémocultures aux services de Pédiatrie et Chirurgie-Pédiatrique du CHU de Monastir-Tunisie^[64], 438 épisodes bactériémiques ont été diagnostiqué sur une période de cinq ans (2012-2016) où les bacilles à Gram négatif ont représenté 68% des isolats avec prédominance des entérobactéries (59,5% de l'ensemble des isolats), 261 entérobactéries ont été essentiellement représentées par 87/261 (33,33%) isolats de *Klebsiella pneumoniae*, 48/261 (18,39%) isolats de l'espèce *Escherichia coli*. Le *Pseudomonas aerogenosa* et *Acinetobacter baumannii* ont occupé respectivement des taux 62,16% et 37,84% sur un total de 37 souches isolées des BGN oxydatifs.

Dans autres BGN oxydatifs, on a mentionné *Alcaligenes fecalis* avec 2/4 des isolats, une souche de l'espèce *Aeromonas sp* et une seule souche des BGN non déterminés.

Par ailleurs, nos 23 isolats des CGP sont dominés par les Staphylocoques avec 14 souches sur 23 dont on a retrouvé des *SCN* (11/14) et *Staphylococcus aureus* (3/14).

Les Streptocoques-Entérocoques ont été 8 souches sur 23 dont 4/8 de *Streptococcus sp*, 2/8 de *Streptococcus pneumoniae*, une seule souche sur huit (1/8) a été mentionné pour le *Streptococcus pyogenes* et 1/8 de *Streptococcus agalactiae*.

Alors que dans les 32% isolats des CGP diagnostiqués dans le service de Pédiatrie du CHU de Monastir-Tunisie^[64], les *SCN* et *S. aureus* avaient respectivement 17,8% et 7,7% de l'ensemble des isolats. Et enfin dans autres CGP, une seule souche de l'espèce *Aerococcus sp* a été présente dans le service de Pédiatrie sur un total de 23 isolats des CGP.

Le pourcentage des hémocultures contaminées était de 41% (67/712), les germes inclus étaient 91% (61/67) à *SCN*, 4% (3/67) à Bacilles Gram positif tels que : *Bacillus* et *Corynebacterium*, 4% aussi (*Candida albicans* et *Lactococcus lactis*).

En Oncologie-Pédiatrique, nous avons diagnostiqué 21,16% hémocultures positives ce qui correspond à 40/189 flacons d'hémocultures reçus au laboratoire où 87% (35/40) des cas avaient une leucémie associée à des cas fébriles chez 67% (27/40) des enfants hospitalisés.

Le profil bactériologique ressemble à celui décrit précédemment où les BGN sont encore le chef de file de l'ensemble des isolats du service avec 87,5% (35 isolats sur 40) et seulement 12,5% (5 isolats sur 40) des CGP, il y'avait toujours une prédominance du caractère nosocomiale des bactériémies.

Dans les BGN on a trouvé les entérobactéries comme majoritaire avec 60% (21 isolats sur 35), suivi par les BGN oxydatifs ont occupé 28,57% (10 isolats /35) et 11,43% (4 isolats sur 35) pour autres BGN.

Les 21 entérobactéries sont essentiellement représentées par 13 souches de *Klebsiella pneumoniae*, 5 souches de l'espèce *Enterobacter sp* et 2 souches de l'espèce *Escherichia coli*.

Les BGN oxydatifs sont répartis en 4 souches sur 10 pour *Acinetobacter baumannii*, 2/10 souches pour *Pseudomonas aerogenosa* et 2/10 pour *Pseudomonas putidae* avec une seule souche sur 10 de l'espèce *Acinetobacter iwoffi* et de l'espèce *Pseudomonas stutzeri*.

On a trouvé dans autres BGN, 1 souche sur 4 (1/4) de l'espèce *Aeromonas sp* et de l'espèce *Alcaligenes fecalis* et 2 souches sur 4 (2/4) des BGN non déterminés.

En contrepartie, les cinq bactériémies à des Cocci Gram Positif (CGP) sont exprimées totalement par le *Staphylocoque coagulase négative* (SCN) comme *S.epidermidis*, *S.hominis*.

On voit dans notre étude les BGN ont dominé le tableau des bactéries. Les CGP étaient tous des *staphylocoques coagulases négatives* (SCN), dominés par *S. epidermidis* (14/18). Dans les Bacilles Gram négatif, les BGN non fermentaires étaient majoritaires (10/13), dominés par *S. maltophilia*, *B. cepacia* et *A. baumannii*, suivis des entérobactéries (3/13).

On a trouvé 3% (6/189) flacons d'hémocultures contaminés en Oncologie, représentés totalement par les *Staphylococcus coagulase négative* (SCN) dont *S. epidermidis*.

Concernant le service de Réa-Gynécologie, nous avons diagnostiqué 10,28% bactériémies ce qui correspond aux 11 hémocultures positives sur 107 flacons d'hémocultures reçus, dans lesquelles 4 cas ont été des femmes post-opérées (accouchement par césarienne).

Les BGN ont occupé : 8/11 et les CGP : 3/11 des isolats.

Dans les BGN, on a retrouvé les entérobactéries ont pris 5/8 de cas, les BGN oxydatifs 2/8 de cas et une seule souche à BGN non déterminés.

Dans les entérobactéries, on a trouvé 3/5 de l'espèce *Escherichia coli* et 2/5 de l'espèce *Enterobacter sp*, les autres germes de la famille ont été absents.

Les deux souches des BGN oxydatifs sont représentées par *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aerogenosa* Versus 3 hémocultures positives à des Cocci Gram positif réparties en : SCN, *Streptococcus sp*, *Streptococcus agalactiae*.

Le nombre de flacons contaminés était 6 flacons sur 107 reçus (5,61%) à SCN.

En CCI, on a enregistré 51/1660 flacons d'hémocultures reçus au laboratoire soit 3,07%, où 10/51 (19,61%) sont positifs à des Bacilles Gram négatif, on a marqué absence totale des Cocci Gram positif. On a trouvé dans ce service seulement 6 patients avaient une fièvre et 3 étaient sous choc septique.

Les 10 BGN sont partagés en 7/10 entérobactéries et 3/10 BGN oxydatifs, dont on a trouvé 4/7 souches *Enterobacter sp*, 3 souches sur 7 Entérobactéries réparties en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis*. Les 3/10 BGN oxydatifs en CCI sont représentés par le *Pseudomonas aerogenosa* où il a occupé un taux de 2/3 avec une souche de l'espèce *Acinetobacter baumannii* (1/3).

Un taux de 3/51 flacons d'hémocultures contaminés soit 5,88% répartis en 2 types de souches : les SCN et une souche de *candida albicans*.

On a incriminé dans notre étude autres services provenant d'autres établissements de soins, exemple : service de pneumologie, rhumatologie et chirurgie.

Le taux de positivité des flacons d'hémocultures est de 4/10, celui-ci est attribué totalement aux BGN tels que : *Serratia marcesens*, *Acinetobacter baumannii* et *Alcaligenes fecalis*. Une fréquence de 3/40 (7,5%) des flacons reçus ont été contaminées (SCN).

Pour la majorité des patients on n'est pas arrivé à déterminé leur situation par manque de renseignements cliniques car leur fiche de renseignements n'a pas été bien remplie, surtout en Pédiatrie en en Néonatalogie où le nombre des prélèvements était le plus élevé (42,89% et 33,79% respectivement), ce qui pose des problèmes lors du diagnostic des bactériémies, dont la fiabilité de ce dernier est la base d'une antibiothérapie appropriée et réussite.

D'après le profil bactériologique qu'on a établi, nous avons fait attention sur la répartition des *Staphylocoques Coagulases Négatives* (SCN) en fonction du service où on les a considérés d'une part comme pathogènes c'est-à-dire responsables de bactériémies et comme contaminants en d'autre part. En Néonatalogie, on a inclus les SCN comme agent causal de bactériémies selon les critères d'inclusion de *Staphylocoque coagulase négative* chez le nouveau-né, ainsi la prématurité et la chronologie de positivité des flacons d'hémocultures (dans les 24h d'incubation) constituent les critères d'inclusion. Aussi en Pédiatrie on les a incriminés comme pathogènes si les patients présentent une cardiopathie. Et en Oncologie-pédiatrique, l'inclusion des SCN est liée à la présence d'une aplasie médullaire.

On a trouvé également les espèces : *Aeromonas sp* et *Alcaligenes faecalis* comme agents pathogènes et leur incrimination dans les bactériémies est liée à la présence des renseignements suivants : pneumopathie, prématurité, syndrome de détresse respiratoire.

La fiche de renseignement bien remplie trouve toute sa place dans ces situations où l'implication des germes opportunistes est intimement liée à l'état clinique du patient.

Nous avons exclus de notre étude 177/1660 flacons d'hémocultures contaminés répartis dans tous les services de la clinique HBB pour des raisons diverses : manque de renseignements cliniques ou la nature du germe (*Bacillus sp*, *Corynebacterium sp*).

La Néonatalogie et la Pédiatrie ont eu respectivement 51,97% (92/177) et 37,8 % (67/177) flacons contaminés (par rapport au total des flacons d'hémocultures contaminés reçus au laboratoire de Microbiologie) où le SCN apparaît sur la tête. Cela reflétait le non-respect des bonnes pratiques d'hygiène au moment du prélèvement. Effectivement, cette étape est très importante pour éviter les flacons contaminés, c'est pour cela le prélèvement de sang doit obéir aux règles d'hygiènes et effectué par des personnes hautement qualifiées.

On a remarqué que le pourcentage des contaminants dans le service d'Oncologie était très bas voire nul 3% soit 6 flacons sur 177 si on le compare à celui de service de Néonatalogie et de Pédiatrie, ça nous révélait la qualité d'hygiène pratiquée par les personnels de cette unité.

Le nombre des hémocultures négatives était assez élevé (1187/1660).

Une hémoculture négative peut cacher une bactériémie devant les situations suivantes : patient était sous antibiothérapie lors du prélèvement ou il a été prélevé en dehors du pic fébrile, parfois il s'agit des bactéries non cultivables ou volume du sang non respecté (insuffisant). Egalement, dans l'unité HBB, ils ne prélèvent pas les 2 flacons (aérobie/anaérobie) car d'un côté le malade est difficile à le piquer et d'autre côté ils prélèvent un seul flacon pour conserver les flacons pour tous les patients en cas de rupture ce qui diminue la chance d'avoir des bactéries dans le sang. Le service de Pédiatrie a été en tête de la liste des flacons d'hémocultures négatifs (587) sur 712 prélèvements effectués dans ce service, ce qui reflète le mauvais timing des prélèvements réalisés en Pédiatrie. La fiche de renseignement joue un rôle primordial dans cette situation notamment la prise d'antibiothérapie doit être mentionnée sur l'ordonnance du patient à tout moment de son prélèvement.

D'après nos résultats, le profil bactériologique est dominé par les Bacilles Gram négatif dont les Entérobactéries étaient le chef de file suivi des BGN oxydatifs, cet ordre est apparu dans tous les services de la clinique HBB. De ce fait l'origine nosocomiale des bactériémies est majoritaire à celui communautaire. Les bactéries impliquées dans l'épisode nosocomiale sont : les Bacilles Gram négatif dont les Entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp*, *Serratia*

marcescens), BGN oxydatifs (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*), les Cocci Gram positif tels *Staphylococcus aureus*, SCN (incrimination selon les signes cliniques), l'espèce *Enterococcus sp* et également les espèces opportunistes (*Aeromonas sp*, *Alcaligenes faecalis*). Sur les deux cent soixante-treize (273) bactériémies d'origine nosocomiale, le service de Néonatalogie était en premier avec un taux de 161/273 (58,97%) puisque les malades ont une immunité faible contre les bactéries surtout les nouveau-nés prématurés, sont à haut risque d'être colonisés en milieu hospitalier et aussi le nombre important des prélèvements effectués, mais dommage on est pas arrivé à confirmer l'origine nosocomiale de ces bactériémies puisque on a reçu que les flacons d'hémocultures au laboratoire et non pas les prélèvements des portes d'entrée (cathéters veineux centraux) . On a trouvé aussi le service de Pédiatrie a occupé la deuxième place avec 16,72% (49/273) puis Oncologie-Pédiatrique 14,65% (40/273) et faiblement CCI et Réa-Gynécologie avec respectivement 3,6% (10/273), 3,2% (9/273).

On a signalé la fréquence remarquable des souches *Acinetobacter baumannii* au niveau du service de Néonatalogie et Oncologie-Pédiatrique (patients immunodéprimés), le *Pseudomonas aeruginosa* en Pédiatrie.

Les dix-sept (17) cas de bactériémies d'origine communautaire sont inclus deux souches de *Streptococcus pneumoniae* ont été présentes seulement en Pédiatrie, et des *Streptococcus sp*.

Selon les germes isolés, on a remarqué que les bactériémies nosocomiales ont trouvé leur importance à la clinique surtout en Néonatalogie aux dépens des bactériémies communautaires. Celles-ci étaient très faibles et sa revient à la mauvaise habitude du prélèvement notamment patients non prélevés à l'admission et après instauration du traitement d'antibiotique.

L'origine materno-fœtal des bactériémies concerne le service de Néonatalogie avec inclusion de *Streptococcus agalactiae* (groupe B) et *Escherichia coli* sensible aux céphalosporines de troisième génération (C3G). Ces taux ont été très faibles et décevant car on aurait pu isoler plus de souches si des hémocultures étaient prélevées avant l'admission et avant toute antibiothérapie.

Nous avons entrepris ce travail pour définir le profil bactériologique des bactériémies et étudier l'antibiorésistance des bactéries isolées des hémocultures à la clinique HBB.

NB : Le pourcentage de la résistance ou la sensibilité d'une souche à un antibiotique est calculé par rapport au nombre de disques d'antibiotique testés et non pas au nombre total des espèces isolées.

On n'a pas mentionné les pourcentages pour les souches qui ont eu un total de résistance ou de sensibilité moins de trente (< 30).

Concernant le profil de résistance des Bacilles Gram négatif, les entérobactéries isolées dans notre étude ont présenté une résistance de 97,66% (167/171) à l'Amoxicilline, 89% (131/147) aux Céphalosporines de première génération (C1G), 66,47% (113/170) aux Céphalosporines de troisième génération (C3G) notamment au Céfotaxime, 33,75% (54/160) à la Ciprofloxacine, 43,5% (54/124), 53,2% (66/124) à l'association Sulfaméthoxazole+Triméthoprimine (SXT) et une résistance à l'Imipénème de 1% (2/135). Les taux sont répartis à tous les services de l'unité HBB.

Par contre, ces entérobactéries identifiées dans notre étude, avaient une sensibilité élevées à l'Imipénème de 98,5% (133/135), 90,9% (110/121) à l'Amikacine, 66,25% (106/160) à la Ciprofloxacine et 25/26 des souches étaient sensibles au Chloramphénicol.

Notre étude a révélé néanmoins que l'Imipénème restait actif par rapport à l'étude de Constantine ^[5] où 16% des souches étaient résistantes à l'Imipeneme et 50% résistantes au Céfotaxime (n=315).

Pour la *Klebsiella pneumoniae* (Kp): 93% (54/58) souches testées étaient résistantes à l'Amoxicilline + Acide clavulanique, 97% (77/79) des souches ont été résistantes aux C1G (Céphalexin) et 97% (94/96) aux C3G (Cefotaxime). On a trouvé une souche de Kp résistante à l'Imipénème (1/72). Une sensibilité élevée des souches aux Aminosides notamment l'Amikacine de 88% (52/59) et aussi aux fluoroquinolones (Ciprofloxacine) de 52,8% (47/89) a été trouvée. La plupart des Kp testées 81,5% (53/65) ont été résistantes au SXT.

En ce qui concerne *Serratia marcescens* : 69% (25/36) souches testées ont été résistantes à l'association Amoxicilline + Acide clavulanique, la résistance des souches *S.marcescens* aux C1G était 88,5% (31/35) et C3G 8% (3 souches sur 36 testées). 1% de *S.marcescens* était résistante à l'Imipénème (1/36). Aussi, 97% (35/36 souches testées) ont été sensibles aux disques d'antibiotiques suivants : Amikacine, Ciprofloxacine et Bactrim.

La résistance de l'espèce *Escherichia coli* était comme suit : sur 12 souches testées, on a trouvé 10 souches résistantes à l'Amoxicilline et 4 souches aux C3G. Aucune souche n'a été résistante à l'Imipénème, sept souches sur onze testées ont été sensibles à la Ciprofloxacine.

À propos de l'espèce *Enterbacter sp* : neuf souches (9/17) ont été résistantes au Céfotaxime, aucune résistance à l'Imipénème n'a été mentionnée.

Concernant les BGN oxydatifs, les taux de résistance de l'espèce *Acinetobacter baumannii* (AB) étaient comme suit : 12/17 des souches à la Ticarcilline, 13/16 au Pipéracilline, 17/19 au Céftazidime, 9/16 à l'Imipénème, 10/14 à l'Amikacine et 12/18 à la Ciprofloxacine. Notre résultat ressemble à peu près à celui de l'étude de Constantine ^[5] où la résistance de l'espèce AB à la Ciprofloxacine a été de 94% et une sensibilité de 6%, donc on a vu une diminution de l'activité de cet antibiotique pour cette espèce. Toutes les souches testées (7) d'AB ont été sensibles à la Rifampicine.

Pour le *Pseudomonas aeruginosa*, le profil est tend vers la sensibilité de la majorité des souches testées : à la Ticarcilline (7/14), au Pipéracilline (7/9), au Céftazidime (14/16), à l'Amikacine (13/15), la totalité des souches ont été sensibles à la Ciprofloxacine et 3 souches sur 13 étaient résistantes à l'Imipénème.

L'antibiorésistance des Cocci Gram positif (CGP) observée dans notre étude était comme suit : 5/7 de *Staphylococcus aureus* étaient résistants à la Céfoxitine, 3/4 à la Kanamycine et 4/6 à l'Erythromycine. Alors qu'on a marqué une sensibilité importante des souches *S.aureus* aux disques d'antibiotiques suivants : Vancomycine, Clindamycine, Pristinamycine et la Fosfomycine. Le schéma de résistance des SCN ressemble à celui de *S.aureus* où 23/27 des souches étaient résistantes à la Céfoxitine, 19/21 à la Kanamycine et 17/29 à l'Erythromycine. Versus une sensibilité de la totalité des SCN testés à la Vancomycine, Teicoplanine et Pristinamycine.

Concernant l'espèce *Enterococcus sp*, toutes les souches testées (6) étaient résistantes à l'Ampicilline et à Lévofloxacine et aussi sensibles à la Vancomycine et au chloramphénicol.

Pour le *Streptococcus pneumoniae*, on a trouvé deux espèces dans l'ensemble des souches isolées et qui ont été toutes sensibles à la Céfotaxime, l'Imipénème, Vancomycine, Erythromycine, Chloramphénicol et Pristinamycine.

Le Streptocoque B notamment l'espèce *agalactiae* isolé dans notre étude avait le profil suivant : cinq (5) souches testées ont été sensibles à l'Ampicilline, Vancomycine, Chloramphénicol, une seule souche testée était sensible à la Gentamycine.

Alors que, 3/9 souches testées de *Streptococcus sp* ont été résistantes à l'Ampicilline et 4/9 au Céfotaxime. Une sensibilité élevée des souches aux disques d'antibiotiques suivants :

Erythromycine (8/9), Clindamycine (7/10), Chloramphénicol (7/8). Tous les *Streptococcus sp* testés ont été sensibles à la Vancomycine et la Pristinamycine.

Dans notre étude, 66,47% Entérobactéries testées (113/170) ont été productrices de Béta Lactamase à Spectre Elargi dont 94 souches de *Klebsiella pneumoniae*, 09 souches de l'espèce *Enterobacter sp* et autres à nombre faible (3 souches de *Serratia marcescens*, 1 souche de *Serratia liquefaciens*, 4 souches de l'espèce *Escherichia coli* et 2 souches de *Klebsiella oxytoca*). Les 113 BLSE représentaient une sensibilité de 85,9% (61/71) à l'Amikacine, alors 79,2% (61/77) résistantes au SXT, 50% (52/104) à la Ciprofloxacine, et aucune résistance à l'Imipénème n'a été mentionné.

Les BLSE retrouvées dans notre étude sont réparties à tous les services de la clinique HBB où l'unité de Néonatalogie était le chef de file avec une fréquence de 81/113 souches de BLSE (71,68%), les espèces diagnostiquées étaient : *Klebsiella pneumoniae* a participé de 87,6% (71/81), puis *Enterobacter sp* 4,9% (4/81) et faiblement 3/81 de *Serratia marcescens*, 2/81 de *Klebsiella oxytoca* et 1/81 de *Serratia liquefaciens*.

Le service d'Oncologie-Pédiatrique a représenté un taux égal à 17/113 BLSE (15%) dont les espèces étaient : *Klebsiella pneumoniae* a représenté 13/17 des souches, suivi de 3/17 de l'espèce *Enterobacter cloacae*, et une seule souche (1/17) de l'espèce *Escherichia coli* BLSE.

On a trouvé aussi 11/113 souches BLSE en Pédiatrie (9,7%) réparties comme suit : 9/11 souches de *Klebsiella pneumoniae*, une souche sur 11 de l'espèce *Escherichia coli* et également de l'espèce *Enterobacter sp*.

En CCI, 3/113 souches BLSE dont : *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Enterobacter sp*. Et enfin une seule souche BLSE a été identifiée en Réa-Gynécologie de type *Escherichia coli*.

On a trouvé aussi deux Entérobactéries à Carbapénémase (confirmée par le test de Hodge) en Néonatalogie, les espèces étaient : *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia marcescens*. Où un malade a présenté un choc septique associé au syndrome de détresse respiratoire et aucun renseignement clinique n'a été mentionné pour le deuxième nouveau-né.

Egalement, 23/27 souches testées des SCN ont été Méricillino résistantes et cinq sur sept souches (5/7) de *Staphylococcus aureus* étaient résistantes à la Méricilline (MRSA) réparties en deux services : Néonatalogie (3/5) et Pédiatrie (2/5).

Concernant le profil de résistance, l'évolution de la sensibilité bactérienne est caractérisée par l'apparition plus ou moins rapide de nouveaux facteurs de résistance. Plusieurs études nationales américaines (SCOPE, ICAPE, NNIS) et européennes se sont intéressées à ce sujet.

Notre résultats a montré que les Entérobactéries ont présenté de forts taux de résistance aux Béta-lactamines : l'Amoxicilline (ou Ampicilline), cette résistance est liée à la production de pénicillinases acquises ou de β -lactamases chromosomiques naturelles où la *Klebsiella pneumoniae* était en premier rang de cette résistance surtout en Néonatalogie, la Pédiatrie et de loin Oncologie-Pédiatrique, une résistance élevée au C3G : Céfotaxime (marqueur de BLSE) a été révélé, l'unité de Néonatalogie a été trouvée en première position dans ce mécanisme de résistance suivie par le service d'Oncologie-Pédiatrique et la Pédiatrie.

Pour les autres résistances associées aux Béta-lactamines, on a retrouvé un nombre faible de résistance des entérobactéries aux aminosides (Amikacine, Gentamycine) ; à la Ciprofloxacine par contre les entérobactéries productrices de BLSE étaient moins ou faiblement inhibées par ces antibiotiques. Selon notre étude deux souches d'entérobactéries de sensibilité diminuée à l'Imipénème (ont synthétisé une Carbapénémase) sont enregistrées dans l'ensemble des isolats en Néonatalogie, cette résistance a été absente dans l'étude des bactériémies sur cinq ans (2007-2011) ^[66] et même dans une autre étude des bactériémies sur sept ans (2007-2014) à la clinique HBB. Deux ans après, on a eu une émergence des Entérobactéries sécrétrices de Carbapénémase inhibitrices des Carbapénèmes en Néonatalogie, ce qui nous a reflété la prescription abusive de l'Imipénème dans cette unité de soin.

Les entérobactéries BMR ont été trouvées en unité de Néonatalogie et Oncologie-Pédiatrique et en Pédiatrie avec prédominance de l'espèce *Klebsiella pneumoniae* BMR ce qui nous a témoigné l'origine nosocomiale des bactériémies, c'est un problème de santé publique vu la fragilité des patients surtout en Oncologie où se sont des malades immunodéprimés et risque de propagation par le manu portage.

Une émergence de la résistance des souches *Acinetobacter baumannii* (AB) en milieu hospitalier notamment en Néonatalogie, ce germe est un pathogène nosocomiale opportuniste et possède plusieurs mécanismes de résistance et d'échappement à l'action des antibiotiques, une résistance de ce germe aussi marquée aux disques d'antibiotiques des Carbapénèmes (Imipénème).

La résistance accrue aux antibiotiques chez les souches d'AB peut affecter significativement la prise en charge thérapeutique des patients, et donc l'issue clinique.

Aucune résistance des Cocci Gram positif n'a été signalée à la Vancomycine.

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

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

Des chiffres alarmants d'antibiorésistance ont été observés à la clinique HBB en particulier dans le service de Néonatalogie, Oncologie pédiatrique où l'utilisation de procédures invasives, la fragilité du terrain et la prescription empirique des antibiotiques exercent une pression de sélection favorable à l'antibiorésistance.

La rationalisation de la prescription de l'antibiothérapie et la mise en place d'un système de surveillance des Bactéries multi-résistantes devront être mises en œuvre en urgence afin de limiter l'émergence de bactéries multi résistantes dans nos structures de soins.

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

CONCLUSION

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

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

La fréquence des bactériémies selon notre statistique à la clinique Hassiba Ben Bouali durant la période Mars 2016-Mars 2018 est de 17,83% (296 épisodes bactériémiques), c'est un taux assez faible par rapport à notre échantillonnage 1660 flacons d'hémocultures reçus au laboratoire de Microbiologie de la clinique HBB vu le non-respect des bonnes conditions de prélèvement notamment un prélèvement avant tout antibiothérapie et le respect de la fenêtre thérapeutique qui pourra augmenter la fréquence des flacons positifs.

La qualité des germes des espèces étiologiques des hémocultures retrouvés ont montré que les bactériémies d'origine nosocomiale sont beaucoup plus fréquentes que les bactériémies d'origine communautaire ce qui reflète l'état d'hygiène et le non-respect d'asepsie à la clinique HBB, les services les plus concernés sont la Néonatalogie et la Pédiatrie où les bactéries multi résistantes sont fréquemment isolées.

L'émergence des mécanismes de résistance est un problème de santé publique et notamment à la clinique HBB où on a retrouvé cent treize (113) bactéries à BLSE et deux (2) bactéries ont synthétisé une Carbapénémase, cette dernière est d'apparition récente dans l'unité de Néonatalogie.

L'implication de certaines bactéries en particulier le *Staphylocoque coagulase négative* (SCN) a besoin d'une corrélation clinique c'est la raison pour laquelle la fiche de renseignement doit être bien remplie surtout dans les bactériémies néonatales où les SCN sont obligatoirement incriminés comme espèces pathogènes chez le nouveau-né prématuré.

À la lumière de notre étude, nous faisons les recommandations suivantes:

1. Prélever au bon moment et au pic fébrile et avant tout antibiothérapie ;
2. Prélever une quantité de sang suffisante et le nombre de flacons nécessaires ;
3. Respecter les bonnes recommandations de culture bactérienne en assurant des milieux de culture adéquats et les conditions d'incubation favorables ;
4. Respecter les conditions d'hygiène dans les unités de soins et surtout lavage des mains ;
5. Respecter les règles de bonne prescription des antibiotiques pour éviter la sélection des mutants résistants ;
6. Remplir bien la fiche de renseignement car l'implication de certains germes notamment les SCN en Néonatalogie doit impérativement corrélérer aux signes cliniques ;
7. Diffuser l'information entre les services car le problème des infections associées aux soins est un problème qui ne saurait que avec une équipe multidisciplinaire.

Références:

- [1] Lachhab Z. Les bactériémies aux services de la réanimation de l'HMIMV de Rabat. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V-Souissi, Rabat; 2014.
- [2] Lankoande H. Aspects épidémiologiques, Diagnostiques, Thérapeutiques et Pronostique des septicémies au C.H.N.S.S de Bobo- Dioulasso à propos de 522 cas. Thèse de Doctorat en médecine Université d'Ouagadougou Burkina Faso ; 2002.
- [3] Bactériémie : définition et explication 2015.
<http://www.aquaportail.com>
- [4] Définitions des infections nosocomiales .Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Groupe de travail « Infections Nosocomiales ». In: Cent recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. 1999.
- [5] Profil bactériologique des bactériémies à bacilles Gram négatifs au niveau de laboratoire de Microbiologie du CHU Benbadis de Constantine. Mémoire du master en Microbiologie. Université des Frères Mentouri Constantine 2017.
- [6] Pr. LAOUAR HOCINE Cours de Microbiologie, Bactériémies. P : 1-2.
- [7] Benzriouil B. Hémoculture : profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques à L'hôpital Ibn Sina de Rabat Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V Souissi, RABAT, 2010.
- [8] K. Moumile et al. Pathologie Biologie ; étude descriptive des bactériémies dans un hôpital gériatrique universitaire ; 2004.
<http://france.elsevier.com/direct/PATBIO/> consulté le 03/02/2018
- [9] Doc=septicémie- pm tout savoir sur l'infection bactérienne.
<http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx> consulté le 30/03/2018
- [10] Leonard A. Mermel,¹ Michael Allon,² Emilio Bouza,⁹ Donald E. craven,³ Patricia Flynn,⁴ Robert J. Shererertz,⁷ and David K. Warren⁸. Septicémie/Bactériémie/Fongémie de l'adulte 2015.
- [11] Oppliger E, Tsai DH, Revely JP, Que YA, Guessous I, Eggimann P. Analysis of 103 consecutive episodes of bacteremia occurring over one year in a large mixed ICU, 830, 2012.
- [12] Guide de l'utilisateur, Bactériémies: Surveillance 2016.
HPCI_W_FT_00364
- [13] http://nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/defIN_vcourte.pdf
- [14] Epidémiologie des maladies transmissibles. E.PILLY. Ouvrage du collège des universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales 2010, 22^e EDITION. P 19.
- [15] Bajolet-Laudinat O, Bussy-Malgrange V, Jebabli M. Gayet S et le Réseau Bactériémie C.CLIN Est. Hygiènes 1999.

- [16] Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC. Definitions for nosocomial infections. Am J Infect Control 1988.
- [17] Fresney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C. Précis de Bactériologie Clinique. BACTERIEMIE Paris: Editions ESKA; 2009.
- [18] Bearman GM, Wenzel RP. Bacteremias: a leading cause of death. Arch Med Res 2005 (NosoBase n°17131).
- [19] Microbiologiemedicale.fr /physiopathologie-et-diagnostic-des-infections.2013.
Consulté le 20/04/2018
- [20] <http://www.canalvie.com/sante-beaute/sante/index-des-maladies/empoisonnement-du-Sang>. Consulté le 20/04/2018
- [21] 2016-infectiologie medicale.fr
- [22] Dr Laurent HOCQUELOUX service des Maladies Infectieuses CHR d'Orléans – La Source BACTERIEMIE 2016.
- [23] Allan R. Tunkel, MD, PhD, Professor of Medicine and Medical Services; Associate Dean for Medical Education, Warren Alpert Medical School of Brown University. Bactériémie 2016.
- [24] Court O, Kumar A, Parrilo J, Kumar A. Clinical review :myocardial depression in sepsis and septic shock.Crit care me 2002.
- [25] Collèges des universitaires en Maladies Infectieuses et Tropicales Le POPI. Paris: Vivactis plus 2007.
- [26] E.PILLY. APPIT. Maladies infectieuses, Paris 2000.
- [27] Vaubaudolle M. Infectiologie 3ème édition. Collection le moniteur 2007.
- [28] doc-22 pdf distinction entre bactériémie et septicémie.
www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/bactériémies 20/04/2018
- [29] Trivalle C. La septicémie.In: Chassagne P, Frioucourt P, Gonthier R, Jeandel C, Nourhashémi F, Pfitzenmeyer P, Belmin J, Gériatrie. Gériatrie .2ème édition. Masson. Paris. 2009.
- [30] Moudjongue Omock S. Mise en place d'un système de surveillance des résistances Bactériennes aux antibiotiques: Cas des hémocultures au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako. Thèse de doctorat en pharmacie. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali, 2014.
- [31] Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J and the French bacteremia-sepsis study group. Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals.

[32] Etats infectieux. E.PILLY. Ouvrage du collège des universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales 2010, 22^e EDITION. P 21.

[33] Dr Buret Jennifer OMEDIT du centre ; Septembre 2015.

www.omedit-centre.fr consulté en 03/2018

[34] WEINSTEIN M.P. - Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology and interpretation of results. Clin. Infect. Dis. 1996; 23: 40-6.

[35] WEINSTEIN M.P., TOWNS M.L., QUARTEY S.M. et al. - The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology and outcome of bacteremia and fungemia in adults. Clin. Infect. Dis. 1997 ; 24 : 584-60.

[36] Blot F., Hémocultures quantitatives : avantages et intérêt. In." Dupont B., Gouin F.Jarlier V., Wolff M. (Eds), Outils d'investigation microbiologique en réanimation, Arnette, Paris (1998).

[37] Rodriguez F, Lorian V, Antimicrobial activity in blood cultures, J. Clin. Microbiol. Rev. 21 (1985)262-263.

[38] Bergogne-Bérézin E., La pratique de l'hémoculture en France : résultats d'une étude multicentrique, Rev.Fr. Lab. 244 (1992) 21-27.

[39] Tokars JI. Predictive value of blood cultures positive for coagulase negative staphylococci: implications for patient care and health care quality assurance. Clin Infect Dis 2004.

[40] LOULERGUE J, AVRIL JL, OMWANGA D. Etude des produits pathologiques : Hémocultures. Editions SIMEP, 1987, 41-5.

[41] PHILIPPON A, PAUL G, NEVOT P, 1983. L'hémoculture. Rev Prat; 33:1929- 1938.

[42] BARTLETT R.C., ELLNER P.D. ET WASHINGTON J.A. -- Blood cultures. Cumitech 1, American Society for Bacteriology, 1974.

[43] Capdevila J.A., Planes AM., Palomar M. et al, Value of differential quantitative blood cultures in the diagnosis of catheter-related sepsis, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 11 (1992) 403-407.

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

[45] www.infectiologie.com/UserFiles/File/.../2015-JNI-IDE-Hemocultures-jeanmaire.pdf

[46] Anaïs Mothes Infectiologue CH Draguignan, QUAND FAIRE DES HÉMOCULTURES ? 2016, P 6-12.

[47] Revue Française des Laboratoires, septembre 2001, N° 335.

- [48] ELLNER P.D. -- System for inoculation of blood in the laboratory. *Appl. Microbiol.*, 1968, 16, 1892-1894.
- [49] BARTLETT R.C. – Contemporary blood culture practices, in *Bacteremia : Laboratory and Clinical Aspects*, Sonnen wirth, A.C., Ed. Charles C. Thomas, Springfield, 1973.
- [50] WASHINGTON II J.A. -- Blood cultures. Principles and techniques. *Mayo. Clin. Proc.*, 1975, 50, 91-98.
- [51] TENNEY J.H., RELLER L.B., STRATTON C.W. ET WANG W.L.L. –Controlled evaluation of volume of blood cultured and atmosphere of incubation in detection of bacteremia. Abstr. No. 309, 16th Interscience Conf. On Antimicrobial. Agents and Chemotherapy, Chicago, octobre 1976.
- [52] NOBLE W.C. et SOMMERVILLE D.A, -- *Microbiology of human skin*. W.B. Saunders Philadelphia, 1974.
- [53] BARTLETT R.C., ELLNER P.D. ET WASHINGTON J.A. -- Blood cultures. *Cumitech 1*, American Society for Bacteriology, 1974.
- [54] GRAVES M.H., MORELLO J.A. ET KOCKA F.E. – Sodium polyanetholsulfonate sensitivity of anaerobicocci. *Appl. Microbiol.*, 1974, 27, 1131-1133.
- [55] EFFEFISOEP. -- The importance of the duration of incubation in the investigation of blood cultures. *ActaPathol. Microbiol. Scan.*, 1965, 65, 129-133.
- [56] LUCAS M. -- Bactériémies en milieu hospitalier. *These medecine Cochin -- Port-Royal*, 1977.
- [57] KAMOUN P, FREJAVILLE JP. *Guide des examens de laboratoire*, 3^{ème} édition. Médecine Sciences Flammarion : 473-505.
- [58] LE MINOR L, MICHEL V. 1989. *Bactériologie Médicale*. 2^{ème} Edition Paris: 396- 795.
- [59] AVRIL JL, DABERNAT H, DENIS F, MONTEIL H. *Bactériologie clinique* 3eme édition : 6-60.
- [60] Bio Mérieux B.V. *Bactériologie Mars 2003*. Réf. 247003.
- [61] CHRISTLA M, TATTEVIN P. *Septicémie. Maladies Infectieuses et Réanimation médicale*. CHU Pontchaillou.35033 Rennes Cedex 08/02/2007.
- [62] *Les infections associées aux soins : définitions, épidémiologie ; Cours IFSI 1ere A- SS-IAS-2016* p 22-23.
- [63] *Analyse des épisodes de bactériémies chez les patients nécessitant une prise en charge aux soins intensifs ; Mémoire de maitrise en médecine No 830 ; Université de Lausanne, Suisse. Décembre 2012* P : 19-20-21.
- [64] *Bactériémies sur cathéters centraux aux soins intensifs : résultats de surveillance 2016-2017* INSPQ - Institut National de Santé Publique - Québec.

- [65] S. FRIGUI¹, Y. CHEBBI¹, T. BEN OTHMEN², W. ACHOUR¹
Epidémiologie des bactériémies liées aux cathéters veineux centraux en onco-hématologie 2016.
- [66] S.oukid, W.djabi, N.boudis, T.ammad, A.Lalouti, R.belouni. Bactériémie néonatale : un diagnostic et des questions. Unité de microbiologie- Service de Laboratoire central- Clinique HBB- CHU Blida 2011.
- [67] H. PAILHORIES, C. TIRY, M. EVEILLARD, C. LEMARIE, C. MAHAZA, M. KEMPF
Caractérisation des bactériémies nosocomiales dues à *Acinetobacter calcoaceticus* -
Acinetobacter baumannii CHU Angers, Angers, France 2014.
- [68] M. Revest, P. Tattevin, PY Donnio, F. Fily, A. Cady, C. Arvieux, Y. Le Tulzo, C. Michelet.
Facteurs de risque de mortalité hospitalière des bactériémies à *Staphylococcus aureus*. Poster
CAD-01-01 p : 2-3.
- [69] <https://www.inspq.qc.ca/infections-nosocomiales/spin/SARM/surveillance-2016-2017>
Bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistant à la Mécilline : résultats de surveillance 2016-
2017.
- [70] O. HADDAD, Y. KADRI, H. DHIFAALLAH, A. ELARGOUBI, S. MHALLA,
S. NOOMEN, M. MASTOURI. Profil épidémiologique et antibiorésistance des isolats
d'hémocultures en milieu pédiatrique. Laboratoire de Microbiologie - CHU Fattouma Bourguiba,
Monastir, TUNISIE 2016.
- [71] Rémic, Référentielle en Microbiologie médicale, 4^{ème} édition 2010.
- [72] Bilan de sept (7) ans d'hémoculture en milieu hospitalier pédiatrique de Bamako. Mémoire
de fin d'étude 2009-2010.
- [73] <http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/bibliotheque/remic/17-Hmocu.pdf>
- [74] <http://www.chpau.fr/Labo/Niveau1/Niveau2/Liens-guide-microbio/prelevement-hemocs.pdf>
- [75] Nejla AISSA. Bonnes pratiques de prélèvements ; les hémocultures– Laboratoire de
Bactériologie Eliette JEANMAIRE – Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHRU
NANCY, 2015.
- [76] Lee et al. J Clin Microbiol 2007.
- [77] Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux Prélèvements microbiologiques,
CCLIN Sud-Est, 2004.
- [78] Salimdjelouatpublication.blogspot.com/2011/12/hemoculture-prescription-et-interpretation.
- [79] BATES D.W., COOK F., GOLDMAN L., LEE T.H. – Predicting bacteremia in hospitalized
patients. A prospective validated model. Ann. Intern. Med. 1990; 113: 495-500.
- [80] BEEBE J.L., KONEMAN E.W. - Recovery of uncommon bacteria from blood: association
with neoplastic disease. Clin. Microbiol. Rev. 1995; 8: 336-5.
- [81] MERMEL L.A., MALI G. - Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an
inadequate volume of blood. Ann.Intern. Med. 1993; 119: 270- 2.

- [82] Verroken A, Defourny L, le Polain de Waroux O, Belkhir L, Laterre P-F, Delmée M, et al. Clinical Impact of MALDI-TOF MS Identification and Rapid Susceptibility Testing on Adequate Antimicrobial Treatment in Sepsis with Positive Blood Cultures. *PloS One*. 2016 11(5):e0156299.
- [83] Bassetti M, Merelli M, Temperoni C, Astilean A. New antibiotics for bad bugs: where are we? *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2013.
- [84] L. Noussair, M.-H. Nicolas-Chanoine / *Pathologie Biologie* 55 (2007) 143–148.
<http://france.elsevier.com/direct/PATBIO/>
- [85] Zingg W, Eggimann P, Pittet D. Acute Bloodstream Infection. *Textbook of Critical Care*. Chap 132, 6e éd. Saunders; 2011.
- [86] Agnihotri N, Kaistha N, Gupta V. Antimicrobial susceptibility from neonatal septicemia. *Jpn J Infect Dis*, 2004 57: p.273-5.
- [87] FLANDROIS JP. *Bactériologie Médicale*. Edition Presses Universitaires de Lyon ; 1997.
- [88] FAUCHERE JL, AVRIL JL, 2002. *Bactériologie générale et médicale*. Ellipses ; Edition marketing S.A : 236-8.
- [89] BAUDAT V. d'Arnex-sur-Orbe, 2002. "Hémocultures positives à l'Hôpital Cantonal de Fribourg, 1997-1998 : signification clinique, microbiologie, épidémiologie, traitement et pronostic". Lausanne. .10248: 06-09.
- [90] Devulder G, Perriere G, Baty F, Flandrois JP. BIBI, a bioinformatics bacterial identification tool. *J Clin Microbiol* 2003 ; 41 :1785-1787.
- [91] Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 6^{ème} édition 2011.
- [92] https://www.jle.com/fr/revues/abc/e/docs/les_beta_lactamases_a_spectre_etendu_le_defi_saccentue_292315/article.phtml?tab=texte
- [93] Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. 2007, 2010 et 2011.
- [94] <https://www.topsante.com/medecine/votre-sante-vous/medecine-du-futur/septicemie-un-nouveau-test-de-depistage-rapide-618419>
- [95] Lorente L, Blot S, Rello J. Evidence on measures for the prevention of ventilator-associated pneumonia. *EurRespir J* 2007.
- [96] Boyce JM, Pittet D. Guideline for hand hygiene in health-care settings: recommendations of the healthcare infection control practices advisory committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA hand hygiene task force. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002.

[97] Pittet D, Mourouga P, Perneger TV, and the Members of the Infection Control Program. Compliance with handwashing in a teaching hospital. *Ann Intern Med* 1999.

[98] Aspects Epidémiologiques, Cliniques, Microbiologiques, Thérapeutiques et Evolutifs des Bactériémies au sein du service de maladies infectieuses du CHU de Bejaia. Thèse de fin d'étude en Médecine. Université Abderrahmane mira de Bejaia 2017.

Annexes

Annexe 1: Rappel sur la structure bactérienne.

Annexe 2: Les portes d'entrée et les principales localisations secondaires des bactériémies
Selon les micro-organismes.

Annexe 3: Identification bactérienne par la coloration de GRAM.

Annexe 4: Caractères biochimiques des Entérobactéries (galerie biochimique classique).

Annexe 5: Technique du test de synergie (Dr H. Ammari, Standardisation nationale,
6^{ème} édition 2011).

Annexe 6: Technique du double disque (Dr H. Ammari, Standardisation nationale, 2011).

Annexe 7: Technique du test de Hodge modifié (Dr M. N. Ouar- Korichi, Standardisation
Nationale 2011).

Annexe 8: Test à l'EDTA (Dr M. N. Ouar- Korichi, Standardisation nationale 2011).

Annexe 9: Test de ROSCO (Dr M. N. Ouar- Korichi, Standardisation nationale 2011).

Annexe 10: Test à la Cloxacilline (Dr M. N. Ouar- Korichi, Standardisation nationale 2011).

Annexe 11: Photos de pratique au niveau de laboratoire de Microbiologie de la clinique
Hassiba Ben Bouali.

Annexe 1 : Rappel sur la structure bactérienne

De la structure de la paroi bactérienne dépend l'appartenance des bactéries au groupe des bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. Les deux groupes possèdent en commun un constituant essentiel, spécifique au monde bactérien, le peptidoglycane.

Ce constituant confère à la bactérie sa forme et sa rigidité qui lui permet de résister à la pression osmotique intra cytoplasmique.

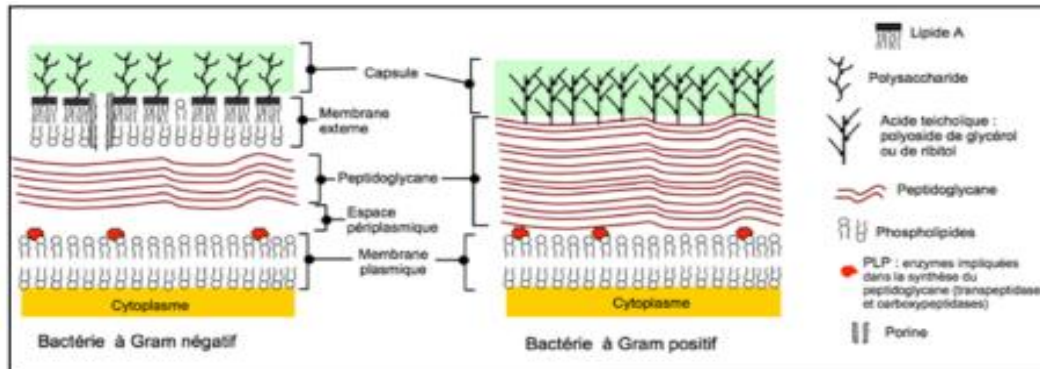


Figure 1 : Structure de la paroi bactérienne des bactéries Gram positif et Gram négatif

Bactéries à Gram positif (BGP) : le peptidoglycane est la partie la plus externe de la bactérie. Il est plus épais que chez les bactéries à Gram négatif et entoure la membrane cytoplasmique de la bactérie.

Bactéries à Gram négatif (BGN) : la paroi bactérienne contient un élément supplémentaire, la membrane externe, laquelle entoure le peptidoglycane qui est plus fine que chez les bactéries à Gram positif.

La membrane externe c'est un élément très important dans la physiologie des BGN constituant une structure de résistance aux facteurs de défense l'hôte. Son feuillet interne est essentiellement phospholipidique et son feuillet externe est majoritairement formé de Lipopolysaccharides (ou endotoxines) et sont responsables du choc endotoxinique des infections à Gram négatif.

L'espace situé entre les deux membranes est appelé espace péri plasmique, il contient donc le peptidoglycane mais aussi de nombreuses enzymes parmi lesquelles les Bétalactamases.

Les protéines liant les pénicillines (PLP) : sont des protéines ancrées dans la membrane cytoplasmique et émergent dans l'espace péri-plasmique, elles sont toutes porteuses d'activités enzymatiques notamment la synthèse du peptidoglycane (Transpeptidase et Glycosyltransférase) et peuvent être inhibées par les Bétalactamases.

Référence : livre le guide pratique des bactéries pathogènes édition **Société Marocaine d'Infectiologie Pédiatrique et de Vaccinologie ; 2017**

Annexe 2 : Les portes d'entrée et les principales localisations secondaires des bactériémies
Selon les micro-organismes.

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

Annexe 3 : Identification bactérienne par la coloration de GRAM

1. On réalise un frottis sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne : on agite la suspension afin de l'homogénéiser et d'éviter d'avoir un culot au fond du tube. Avec l'aide d'une anse que l'on aura préalablement stérilisé (en la passant sous le bec benzène), on prélève un peu de la solution bactérienne en prolongeant le fil de platine de la anse dans le tube à essai.
2. On dépose ensuite ce prélèvement au milieu de la lame en faisant des rotations jusqu'à séchage.
3. On procède à la fixation du frottis soit avec de l'éthanol à 90° (5 minutes) puis on enflamme la lame ou on directement 3 fois la lame dans la flamme du bec Bunsen.
4. La coloration au violet de Gentiane (colorant basique) : la lame est prolongée pendant 2 à 3 minutes (en fonction de la concentration) dans la coloration au violet de Gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau déminéralisée.
5. Mordantage au lugol (solution iodo-iodurée) : étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; Rincer à l'eau déminéralisée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.
6. Décoloration à l'alcool : verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Rincer à l'eau déminéralisée.
7. Contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine : laisser agir 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher à l'air ou en chauffant vers 40°C, 10 à 15 minutes. Les bactéries Gram négatif sont colorées en rose.
8. Observer à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile à immersion.

Exemples :

Les bactéries à Gram+ :

Les Staphylocoques apparaissent en grappe de raisin violette.

Les Streptocoques sous la forme d'une chaînette violette

Les bactéries à Gram- :

Escherichia coli (entérobactéries) apparaît sous la forme de bacille rose.

Référence : www.technobio.fr/article-16615932.html

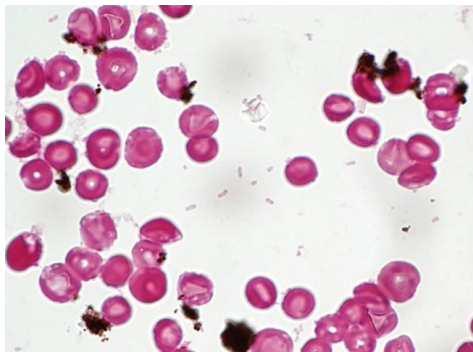


Figure 2 : Bacilles Gram négatif

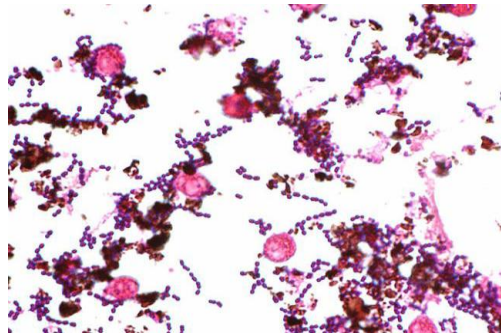


Figure 3 : Cocci Gram positif

Annexe 4 : Caractères biochimiques des Entérobactéries (galerie biochimique classique)

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

Annexe 5 : Technique du test de synergie (Dr H. Ammari, Standardisation nationale, 6^{ème} édition 2011)

1. Entérobactéries :

Pour la mise en évidence des TEM et SHV, La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline+acide clavulanique (AMC 20/10µg) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G (Céfotaxime : CTX 30µg ou Ceftriaxone : CRO 30µg).

Incubation : 18H à 35°C.

Pour les autres BLSE de classe A (CTX-M, CMT, ...), Le test de synergie doit être fait dans les mêmes conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'AMC à 30mm centre à centre d'un disque de : CAZ, CTX ou CRO et ATM en raison de l'existence de phénotypes de résistance différents (céfotaximase ou ceftazidimase ...).

Lecture : la production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques : AMC et CTX ; AMC et CAZ ; AMC et ATM.

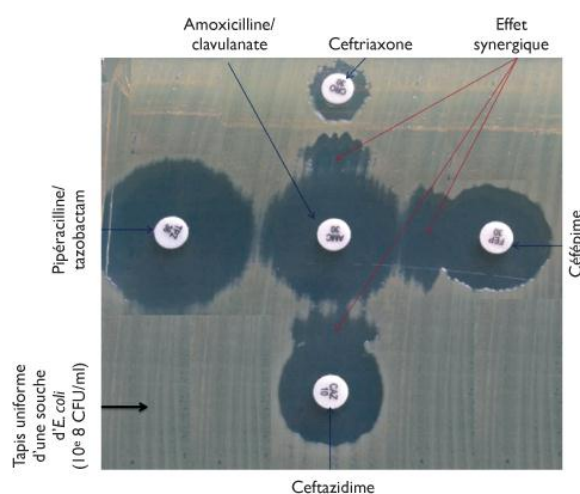


Figure 4 : souche *Escherichia coli* productrice de Bêta-Lactamase à Spectre Etendu : aspect «en bouchon de champagne». <https://www.revmed.ch/RMS/2014/RMS-N-450/Betalactamases-a-spectre-etendu-et-carbapenemases-chez-les-Enterobacteriaceae>

2. Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter spp :

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline+acide clavulanique (TCC 75/10µg) a 30mm (centre a centre) d'un disque de C3G : ceftazidime (CAZ 30µg), aztreonam (ATM 30 µg), cefepime (FEP 30 µg).

Incubation : 18h à 35 °C.

Lecture: le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie ou « bouchon de champagne » entre les disques : TCC et CAZ ; TCC et ATM ; TCC.

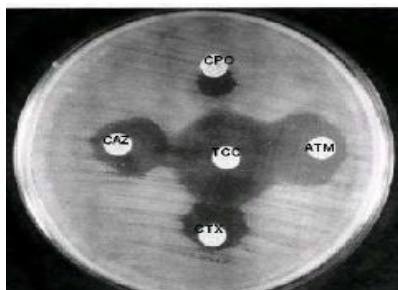


Figure 5: Souche de *Pseudomonas aeruginosa* productrice de B-Lactamase à Spectre Elargi. <http://www.sante.dz/aarn> à Spectre Elargi.

Annexe 6 : Technique du double disque (Dr H. Ammari, Standardisation nationale, 2011)

Dans les conditions standards de l'antibiogramme et l'application des disques d'antibiotiques se fait :

Pour les Entérobactéries : déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) a une distance de 30mm (centre à centre).

Pour *P.aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* : déposer un disque de TCC avec un disque de C3G (CAZ) ou monobactame (ATM) a une distance de 25mm.

Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, a la température ambiante, puis ôter le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de CTX ou CRO (ou CAZ).

Incubation : 18h à 35°C.

Lecture : Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est ≥ 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

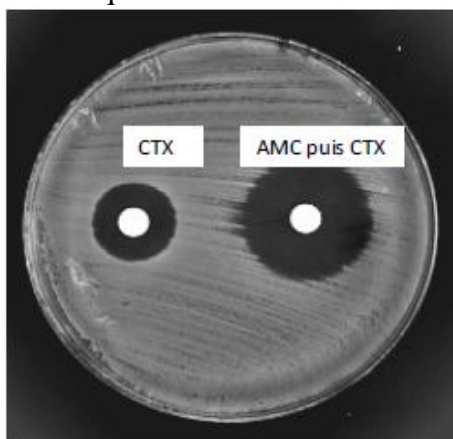


Figure 6 : *K. pneumoniae* productrice de BLSE :
Test du double disque positif



Figure 7 : Test de confirmation
<http://hesed.info/blog/esbl-test.abp>

Annexe 7 : Technique du test de Hodge modifié (Dr M. N. Ouar- Korichi, Standardisation nationale 2011)

Préparer une suspension bactérienne d'*E. coli* ATCC 25922 à 0.5 MF dans 5 ml d'eau Physiologique, puis diluer cet inoculum au 1/10ème (0,5 ml de la suspension de 0,5 MF + 4,5 ml d'eau physiologique).

Ensemencer une gélose MH par écouvillonnage et laisser sécher 3 a 5 mn.

Déposer au centre un disque d'Ertapénème 10µg (ou de Meropénème).

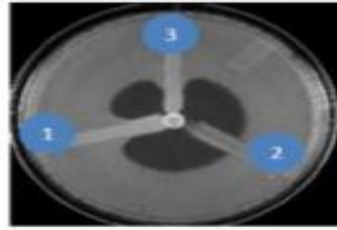
A partir du disque, faire une inoculation en trait avec la souche à tester et avec deux souches de reference (*K.pneumoniae* ATCC BAA-1705 : Carbapénèmase positive) et (*K.pneumoniae* ATCC BAA-1706 : Carbapénèmase négative).

Incubation : 35°C +/- 2°C pendant 16 à 24 heures.

Lecture :

Un test de Hodge modifié est positif quand *Escherichia coli* ATCC 25922 au contact d'une souche productrice de Carbapénèmase de type B, va pénétrer et croître dans le diamètre d'inhibition en donnant un aspect d'invagination de la culture.

Un test de Hodge modifié est négatif quand il n'y a aucune modification du diamètre d'inhibition d'*Escherichia coli* ATCC 25922 au contact des souches à étudier (CLSI 2011 M100-S21).



- 1: *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1705 (témoin positif)
- 2: *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1706 (témoin négatif)
- 3: Souche testée

Figure 8 : Test de Hodge modifié de la souche *Klebsiella pneumoniae*

Annexe 8 : Test à l'EDTA (Dr M. N. Ouar- Korichi, Standardisation nationale 2011)

Déposer 750ug d'EDTA (soit 4 µl d'une solution d'EDTA 0.5 M pH : 8) sur un disque d'Imipénème et comparer le diamètre obtenu avec celui d'un disque d'Imipénème seul.

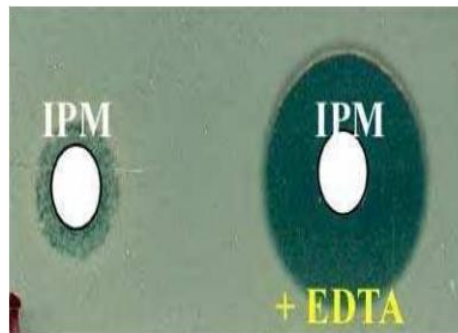
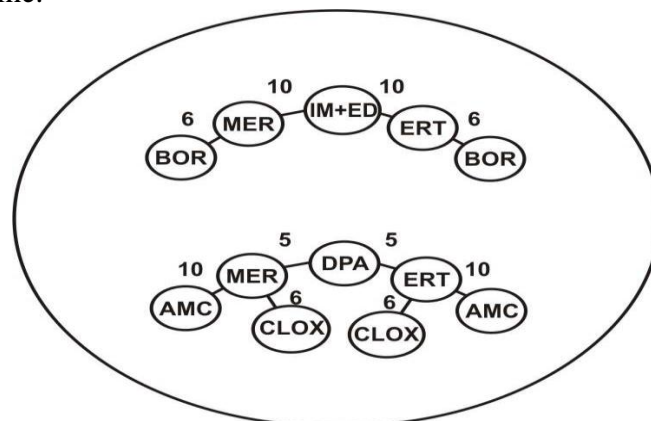


Figure 9: *P.aeruginosa* producteur de Carbapénémase de type B

Lecture : l'EDTA inhibe l'enzyme entraînant une augmentation du diamètre d'inhibition du disque IPM+EDTA par rapport au disque IPM seul.

Annexe 9 : Test de ROSCO (Dr M. N. Ouar- Korichi, Standardisation nationale 2011)

Ce schéma est proposé par ROSCO pour la détection des Carbapénèmases KPC, Métallo-B-Lactamases et Oxacilline.



Annexe 10 : Test à la Cloxacilline (Dr M. N. Ouar- Korichi, Standardisation nationale 2011)

L'antibiogramme sera réalisé sur MH additionné de Cloxacilline, l'Oxacilline peut être utilisée à la place de Cloxacilline.

Déposer, sur la surface gélosée et ensemencée, les disques d'antibiotiques (B-lactamines).

Incubation : 18 heures à 35°C.

Lecture : comparer l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de Cloxacilline à celui réalisé sur MH sans Cloxacilline (gardé la veille au frais).

Interprétation :

Inhibition de la Case entraîne :

Apparition des phénotypes sauvages de l'entérobactérie, de *P. aeruginosa* ou *d'acinetobacter spp*,

Apparition d'autres mécanismes de résistances acquises tels que : synthèse de BLSE, pénicillinase, imperméabilité.

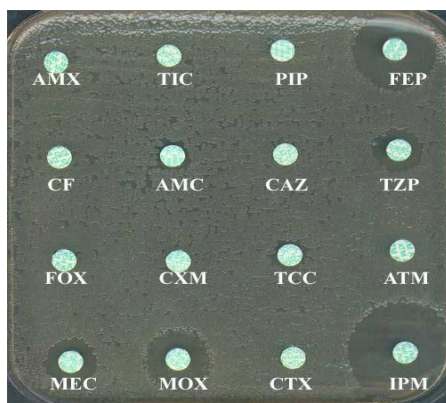


Figure 10 : MH sans Cloxacilline

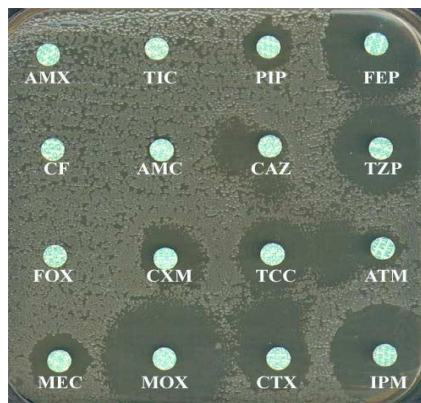


Figure 11 : MH avec Cloxacilline

<http://www.microbes-edu.org/mecanisme/phenoR/blse/detection>

Cet exemple montre une souche *E. cloacae* hyperproductrice d'une CASE et d'une BLSE avant et après inactivation par la Cloxacilline (250 mg/ml) de la première enzyme chromosomique hyperproduite.

Annexe 11 : Photos de pratique au laboratoire de Microbiologie de la clinique Hassiba Ben Bouali.

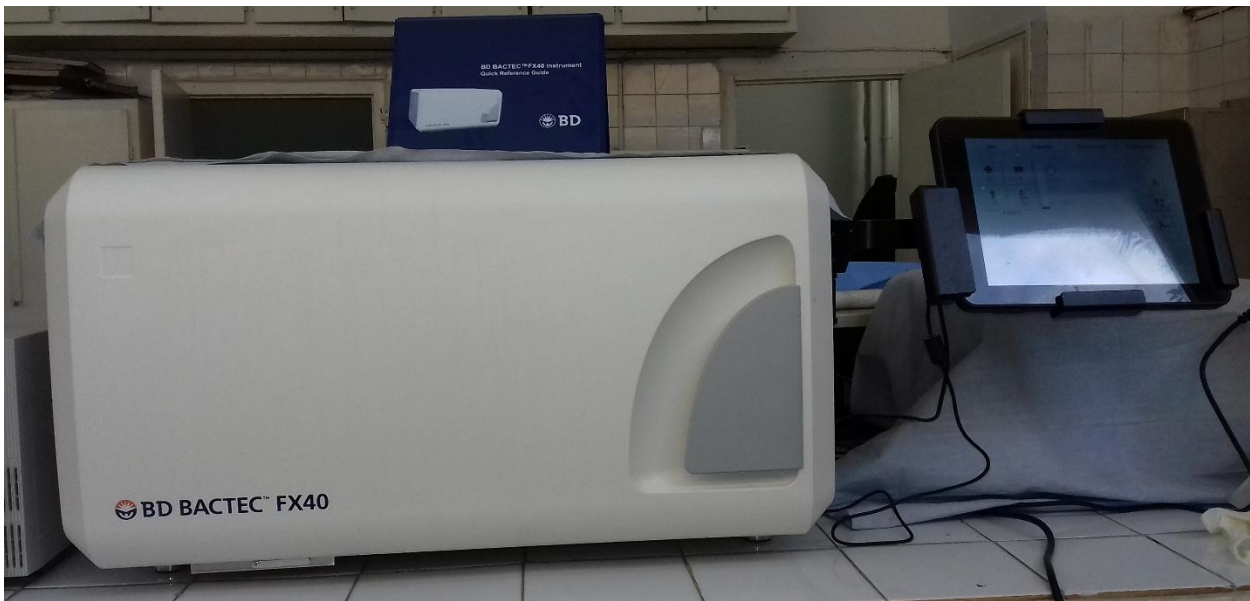


Figure 12 : Système BACTEC pour la détection automatisée

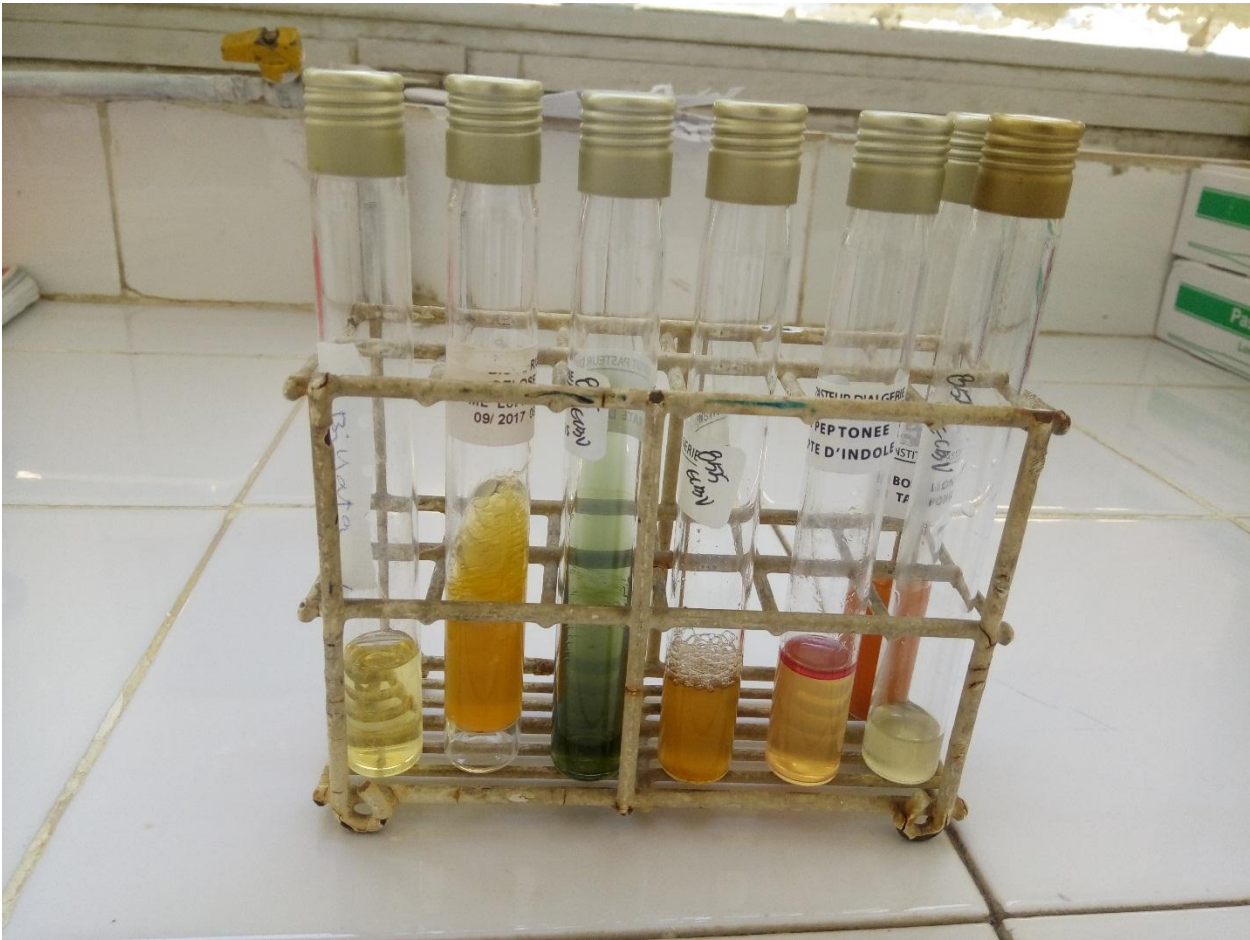


Figure 13 : Galerie classique pour l'identification des Entérobactéries

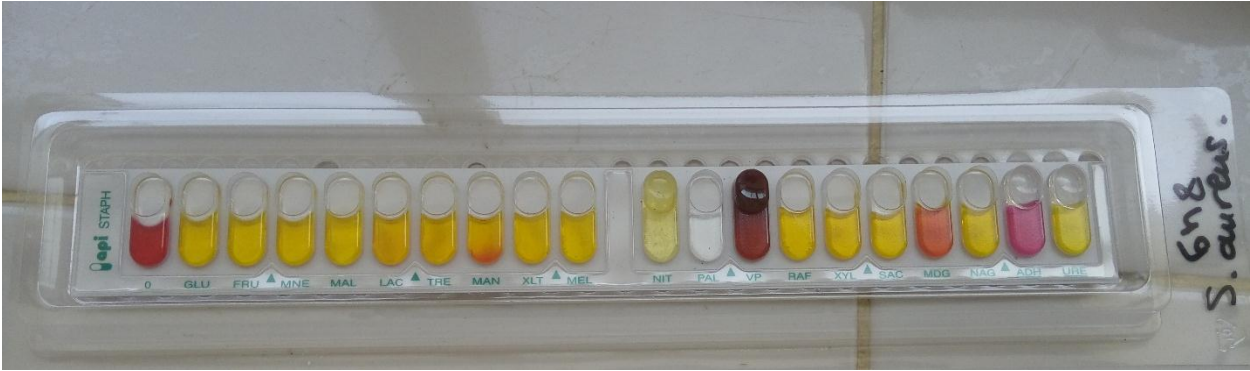


Figure 14 : Api Staph

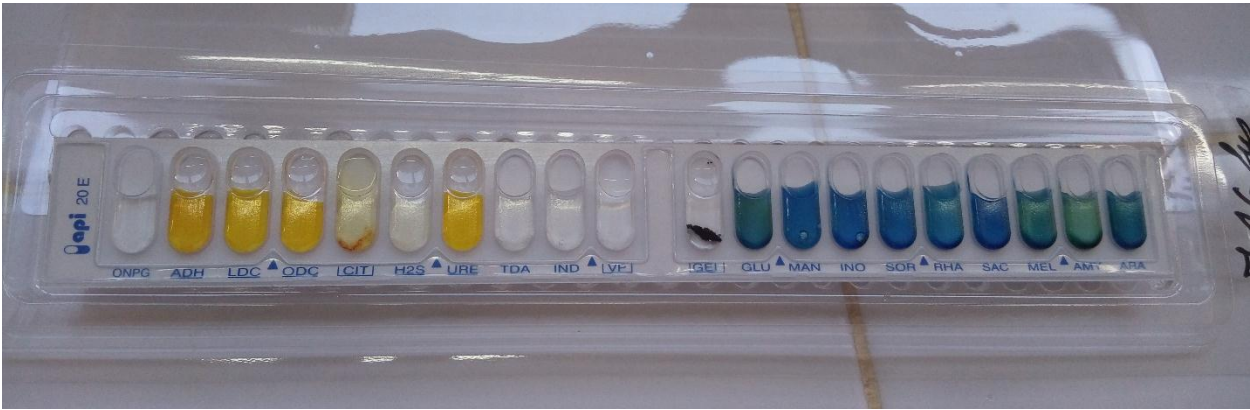


Figure 15 : Api 20E



Figure 15 : Flacon positif gazogène

LEMIA Imene
amirimene008@gmail.com

LARBI Ferial
Feriellarbi123@gmail.com

RÉSUMÉ

Les bactériémies présentent un énorme problème de santé publique vu leur morbidité et mortalité. L'étude bactériologique des hémocultures est le seul moyen diagnostique qui nous renseigne sur les germes responsables ainsi que leur sensibilité aux antibiotiques.

Nous présentons une étude retro-prospective qui a pour objectif : déterminer la fréquence des bactériémies diagnostiquées à la clinique Hassiba Ben Bouali, identifier les espèces bactériennes isolées des hémocultures et étudier leur antibiorésistances.

Sur un total de 1660 hémocultures enregistrées au laboratoire de Microbiologie de la clinique Mère-Enfant HBB du CHU de Blida sur la période (Mars 2016-Mars 2018), 17,83% (296/1660) ont été considérées positives témoignant d'un état bactériémique contre 71,51% (1187/1660) ont été négatives. Les 10,66% (177/1660) restantes représentent le pourcentage des hémocultures contaminées.

Le taux des Bacilles Gram négatif (BGN) retrouvé était de 70,77% (230/296) par rapport aux 22,30% (66/296) des Cocci Gram positif (CGP). Dans les BGN, les entérobactéries ont été majoritaires puis les BGN oxydatifs et faiblement autres BGN avec les proportions respectives 78,26%, 15,65%, 6,09%. La *Klebsiella pneumoniae* était le chef de file des Entérobactéries. Concernant les CGP, on a retrouvé 57,57% des Staphylocoques, 37,87% des Streptocoques-Entérocoques.

Dans les 296 bactériémies diagnostiquées à la clinique HBB : 66,47% Entérobactéries étaient productrices de Béta-Lactamase à Spectre Elargi (BLSE), les espèces les plus fréquentes étaient *Klebsiella pneumoniae* avec 94 isolats et *Enterobacter sp* avec 09 isolats, et 1,48% entérobactéries étaient productrices d'une Carbapénémase réparties en *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia marcescens*.

Dans les résistances des CGP, 23 souches de *Staphylococcus coagulases négatives* étaient résistantes à la Méricilline et cinq souches de *Staphylococcus aureus méricillino-résistant* (MRSA) ont été retrouvées. Aucune résistance à la Vancomycine n'a été signalée.

La fiabilité du résultat bactériologique est intimement lié à la qualité du prélèvement, le respect des règles d'hygiène, la bonne prescription des antibiotiques ainsi qu'une fiche de renseignements bien remplie.

Mots clés : La bactériémie, hémoculture, antibiorésistance, Béta-Lactamase à Spectre Elargi (BLSE), Carbapénémase.

