

LISTE DES ABREVIATIONS

ATB : Antibiotiques

BLSE : Bêta-Lactamase à Spectre Elargi

BGN : Bacille à Gram négatif

CA-SFM : Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

CGP : Coccis à Gram positif

CHNU : Centre Hospitalier National Universitaire

CLED : Cystine Lactose Electrolyte Déficient

C3G : Céphalosporine de 3ème génération

GSO : Gélose au sang ordinaire

KH : Kligler Hajna

Méti-R : Méticilline-résistant

MH : Müller-Hinton

MHSC : Müller-Hinton sang cuit

MM : Manitol mobilité

PSM : Poste de sécurité microbiologique

SARM : Staphylococcus aureus Résistant à la Méticilline

SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative

UFC : Unité Formant Colonies

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma physiopathologique général des bactériémies	6
Figure 2 : Procédure de prélèvement du sang et d'inoculation directe des flacons d'hémocultures	11
Figure 3 : Test de synergie BLSE	27
Figure 4 : Test de synergie positif chez une souche productrice de BLSE	27
Figure 5 : Répartition des patients selon le sexe	28
Figure 6 : Répartition des patients en fonction de l'âge	28
Figure 7 : Répartition des hémocultures positives en fonction des services cliniques	29
Figure 8 : Evolution des bactériémies en fonction des années	30
Figure 9 : Répartition des hémocultures positives en fonction des espèces bactériennes	32
Figure 10: Pourcentage de résistance aux antibiotiques des entérobactéries en fonction des espèces	35
Figure 11: Pourcentage de résistance de <i>P.aeruginosa</i> aux antibiotiques	36
Figure 12: Pourcentage de résistance d' <i>Acinetobacter spp</i> aux antibiotiques	36
Figure 13: Taux de résistance des staphylocoques aux antibiotiques	37
Figure 14: Pourcentage de résistance des streptocoques aux antibiotiques	38

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Différentes portes d'entrée.....	7
Tableau II : Nombre d'hémocultures en fonction des indications cliniques.....	12
Tableau III : Orientation présomptive de la bactérie responsable en fonction de l'aspect du flacon d'hémoculture.....	15
Tableau IV : Caractéristiques des automates actuellement Commercialisés en France	18
Tableau V : Signification pathologique des germes isolés dans les hémocultures	19
Tableau VI : Interprétation des hémocultures polymicrobiennes	20
Tableau VII : Répartition des différentes espèces bactériennes responsables de bactériémies en fonction des années.....	31
Tableau VIII : Taux de résistance des entérobactéries aux antibiotiques :	34

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : RAPPELS	3
CHAPITRE 1 : DEFINITIONS	4
1.1-Bactériémie	4
1.2-Septicémie	4
1.3-Hémoculture	4
CHAPITRE2 : PHYSIOPATHOLOGIE DES BACTERIEMIES	6
2.1-Bactériémies d'origine thromboembolique	7
2.2-Bactériémies d'origine lymphatique	8
2.3-Bactériémies d'origine endocarditique	8
2.4-Bactériémies par effraction	9
2.5-Bactériémies néonatales	9
CHAPITRE3-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES BACTERIEMIES :	10
3.1-Le prélèvement	10
3.2-Conditions de culture	13
3.3-Méthodes de détection et d'identification bactérienne:	14
3.3.1-Les méthodes conventionnelles	14
3.3.2-Les méthodes automatisées	17
3.3.3-La détection et l'identification bactériennes Par amplification génique (PCR) universelle et détermination de la séquence de l'ARNr 16S :	18
3.4-Résultats et interprétation	19
3.4.1-Hémocultures positives	19
3.4.2-Hémocultures négatives	21
DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL	22
CHAPITRE 1 : CADRE ET PERIODE D'ETUDE.....	23
CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES	24
2.1-Echantillonnage	24
2.2-Recueil des données	24
2.3-Exploitation des données	24
2.4-Pratique de l'hémoculture au laboratoire	24

2.4.2-Protocole opératoire des hémocultures au laboratoire	24
2.5-Etude de la sensibilité aux antibiotiques	25
CHAPITRE 3 : RESULTATS.....	28
3.1-Profil épidémiologique	28
3.1.2-Répartition des bactériémies selon le sexe.....	28
3.1.3-Répartition des bactériémies selon l'âge	28
3.1.4-Répartition selon le statut interne-externe	29
3.1.5-Répartition des bactériémies en fonction des services cliniques	29
3.1.6-Répartition des bactériémies en fonction des années	30
3.2-Profil bactériologique	31
3.2.1-Profil des bacilles à Gram négatif	32
3.2.2-Profil des cocci à Gram positif.....	33
3.3-Etude du profil de résistance aux antibiotiques	34
3.3.1-Bacilles à Gram négatif	34
3.3.1.1-Entérobactéries	34
3.3.1.2- Bacilles non fermentaires	36
3.3.2-Cocci à Gram positif	37
3.3.2.1-Staphylocoques	37
3.3.2.2-Streptocoques	38
CHAPITRE 4 : DISCUSSION.....	39
4.1-Profil épidémiologique	39
4.1.1-Le sexe des patients	39
4.1.2-L'âge des patients	39
4.1.3- Le service d'hospitalisation	39
4.2-Profil bactériologique	40
4.3-Etude de la sensibilité aux antibiotiques	41
4.3.1-Les bacilles à Gram négatif	41
4.3.2- Les Cocci à Gram positif	43
CONCLUSION	45
REFERENCES.....	47

INTRODUCTION

Les septicémies sont des affections graves, responsables d'une morbidité et d'une mortalité significatives à travers le monde. Le taux de mortalité observé varie de 4.5 à 50 % selon les études [1].

Ces affections constituent une urgence diagnostique et thérapeutique. Elles sont généralement évoquées sur des arguments cliniques, mais leur diagnostic repose sur l'isolement de germes par les hémocultures. Cependant les résultats de cet examen nécessitent, selon les cas, de 24h à plusieurs jours [2].

Ce délai est non seulement incompatible avec l'urgence de la situation mais cet examen est, également, souvent non réalisé dans la plupart des hôpitaux en Afrique en raison de l'insuffisance du plateau technique.

Devant cette difficulté, le clinicien a recours à l'antibiothérapie probabiliste basée sur les données cliniques et/ou épidémiologiques, elles même peu fiables [3].

Le pronostic des bactériémies dépend de plusieurs facteurs parmi lesquels la rapidité et l'efficacité de l'antibiothérapie de première intention [4].

L'étiologie bactérienne très variable et la constante évolution de la résistance des germes incriminés aux antibiotiques sont des facteurs qui influencent la prise en charge thérapeutique des bactériémies [4].

Les bactériémies ont aussi un impact socio-économique. Elles justifient un surcoût, en raison de l'allongement de la durée moyenne de séjour et de la prise en charge médicale supplémentaire nécessaire [5].

Dans cette optique, nous avons mené cette étude rétrospective au laboratoire de bactériologie-virologie du CHNU DE FANN sur une période de 5 ans dont les objectifs sont de dresser le profil bactériologique et d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des bactéries responsables de bactériémies dans le but de donner une base objective à l'antibiothérapie probabiliste de ces infections [4].

PREMIERE PARTIE : RAPPELS

CHAPITRE 1 : DEFINITIONS

1.1-Bactériémie :

La bactériémie correspond à la présence de microorganismes dans le sang circulant qui est normalement stérile.

Elle peut être :

- Transitoire: qui correspond à des décharges brèves de bactéries dans le sang, sans manifestations cliniques et spontanément résolutives
- Continue : qui correspond à des décharges continues qui se rencontrent notamment lors d'endocardites ou en cas de brucellose ou de fièvre typhoïde
- Intermittente : qui correspond à des décharges bactériennes répétées à la suite d'infections diverses [6].

La bactériémie est dite primaire quand aucun foyer infectieux n'a pu être décelé comme étant à l'origine de la bactériémie. Elle est dite secondaire, quand il existe un foyer infectieux avec le même genre bactérien [6] [7].

1.2-Septicémie :

La septicémie est une infection généralisée, qui regroupe les manifestations cliniques et biologiques dues à des décharges massives et répétées des microorganismes viables dans le sang à partir d'un foyer septique initial appelé porte d'entrée [8][9].

❖ Sepsis :

Le sepsis est défini comme une réaction systémique à une infection présumée ou confirmée, avec les signes cliniques suivants : température corporelle anormale ($> 38^{\circ}\text{C}$ ou $< 36^{\circ}\text{C}$), tachycardie, acidose métabolique, généralement accompagnée d'alcalose respiratoire compensatoire et tachypnée, avec augmentation ou diminution du nombre de globules blancs [8].

1.3-Hémoculture :

L'hémoculture ou la culture du sang se définit comme l'ensemencement du sang sur des milieux appropriés (aérobies et anaérobies) permettant d'affirmer ou d'infirmer la présence de micro-organismes dans le sang et d'étudier leur sensibilité aux antibiotiques. Cet examen nécessite un prélèvement sanguin stérile réalisé soit en périphérie soit sur un dispositif invasif (cathéter central, chambre implantable) [10][11].

L'hémoculture est indiquée soit à visée diagnostique devant toute hyperthermie > à 38,5 °C ou hypothermie < à 36°C soit à visée thérapeutique permettant la surveillance de l'efficacité d'un traitement antibiotique [12].

Son interprétation est étroitement liée au contexte clinique et épidémiologique qui doivent être communiqués au biologiste.

CHAPITRE2 : PHYSIOPATHOLOGIE DES BACTERIEMIES

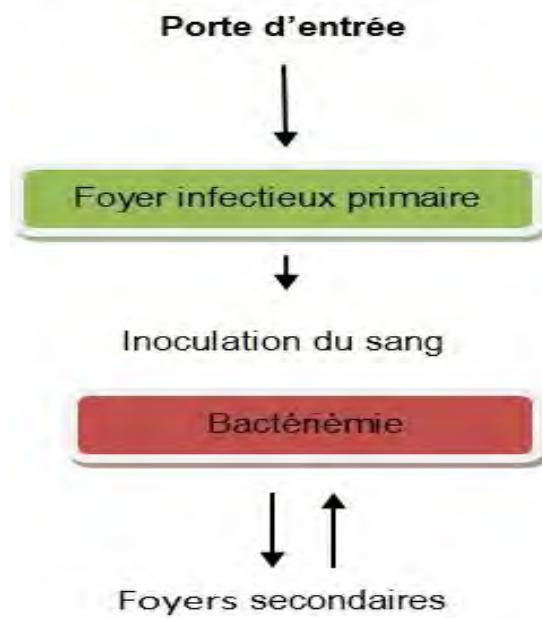


Figure 1 : Schéma physiopathologique général des bactériémies. [13]

1^{ère} étape : Les microorganismes pénètrent dans l'organisme par une porte d'entrée.

Les principales portes d'entrée pour les bactériémies communautaires sont urinaires, digestives, pulmonaires, cutanées et plus rarement ORL ou dentaire alors que pour les bactériémies nosocomiales la porte d'entrée principale est vasculaire [13].

2^{ème} étape : 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.

3^{ème} étape : A partir du foyer infectieux les germes passent dans la circulation sanguine.

Cette inoculation peut être continue ou intermittente.

4^{ème} étape : Le système phagocytes-mononucléées 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 apparaître [6].

Tableau I : Différentes portes d'entrée [8][14][15]

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

2.1-Bactériémies d'origine thromboembolique :

A partir d'un foyer initial cutané (plaies, infection de brûlures...) ou muqueux (rhino-pharynx, appareil génital) se développe localement une réaction inflammatoire 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 embols septiques qui suivent le courant sanguin.

Ces embols sont suffisamment petits pour être rapidement phagocytés mais quelquefois certains y échappent et développent des foyers infectieux secondaires (pulmonaires, ostéoarticulaires, endocarditiques).

Dans ce type de bactériémie, la fièvre est irrégulière : chaque décharge bactérienne se manifeste par l'apparition d'un clocher thermique [16].

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

- Cocci Gram positif : les staphylocoques notamment *S.aureus*, les streptocoques, le pneumocoque
- Bacilles Gram négatif : les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*
- Cocci Gram négatif : *Neisseria meningitidis*
- Bactéries anaérobies strictes : Clostridium perfringens, Flore de veillon(*Bacteroides fragilis*++)

2.2-Bactériémies d'origine lymphatique :

La porte d'entrée est souvent digestive. Au niveau de la lumière intestinale, les bactéries pathogènes telles que *Salmonella Typhi* traversent la muqueuse intestinale sans provoquer de lésion, puis gagnent les ganglions mésentériques ou certains germes résistent à la destruction par les macrophages, se multiplient 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 [17].

Ce schéma pathogénique est typique de la typhoïde (*Salmonella Typhi*, *S.Paratyphi A, B*) et de la brucellose (*Brucella spp*).

2.3-Bactériémies d'origine endocarditique :

L'endocardite infectieuse résulte de la colonisation, par des bactéries circulant dans le sang, d'une végétation fibrinoplaquettaire initialement stérile qui s'est développé sur un endocarde lésé.

Ces bactéries se fixant sur l'endocarde proviennent d'une bactériémie dont le point de départ est un foyer infectieux (bucco-dentaire, obstétrical, pelvien...) le plus souvent discret cliniquement.

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 embols 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 abdominales, os, articulations..) de vascularites (dépôts de complexes immuns induisant une inflammation de la paroi des vaisseaux sanguins) ... [13].

Les principaux germes en cause sont : les streptocoques et les staphylocoques [18].

2.4-Bactériémies par effraction :

Le plus souvent, le germe est introduit dans la circulation par le biais de dispositifs intra vasculaires tels que les cathéters, par le biais de matériel (sonde, drains, endoscopes...) ainsi que lors d'interventions dites « septiques » comme la chirurgie digestive.

Les micro-organismes les plus fréquemment impliqués dans ces bactériémies nosocomiales sont : les staphylocoques, les entérobactéries, et *Pseudomonas aeruginosa* [19].

2.5-Bactériémies néonatales :

Le fœtus et le nouveau-né peuvent être contaminés par l'intermédiaire du système vasculaire placentaire ou au moment de l'accouchement. Les principaux germes responsables de bactériémies sont *Streptococcus agalactiae*, *E. coli* K1 ou *Listeria monocytogenes* [20].

CHAPITRE3-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES BACTERIEMIES :

3.1-Le prélèvement :

La ponction veineuse est la seule méthode fiable pour prélever du sang en vue de la culture. Les autres sites de prélèvement notamment les recueils de sang par cathéter, augmentent de façon significative la fréquence des contaminants [21].

Le système de prélèvement est généralement constitué d'une tubulure munie à chaque extrémité d'une aiguille, l'une servant à pratiquer la ponction veineuse et l'autre l'inoculation du flacon grâce à un adaptateur, le flacon aérobie est toujoursensemencé en premier permettant ainsi d'évacuer l'air se trouvant dans la tubulure avant d'inoculer le flacon anaérobie [22].

Réaliser un prélèvement de qualité est le préalable de tout examen de bactériologie. Le prélèvement de sang pour hémoculture doit répondre à plusieurs critères :

❖ Eviter les contaminants et travailler en sécurité :

Le prélèvement doit être réalisé après une asepsie rigoureuse de la peau pour éviter toute contamination par les germes de la flore cutanée (Staphylocoques à coagulase négative, Corynèbactéries) pouvant compromettre la culture de la bactérie recherchée et/ou gêner l'interprétation des résultats [23].

De plus, tout prélèvement sanguin est associé à un risque non négligeable d'accidents d'exposition au sang pour le préleveur. De ce fait, pour tout établissement de santé, le protocole de prélèvement doit être strict et validé [23].

L'asepsie de la peau du patient au point de la ponction doit se faire de manière centrifuge successivement avec de l'alcool à 70° puis avec un produit iodé comme la polyvidone iodée. Après la ponction, le produit iodé, potentiellement irritant est enlevé avec de l'alcool à 70°.

Le bouchon du flacon d'hémoculture est désinfecté soigneusement avec de la polyvidone iodée ou de l'alcool à 70°.

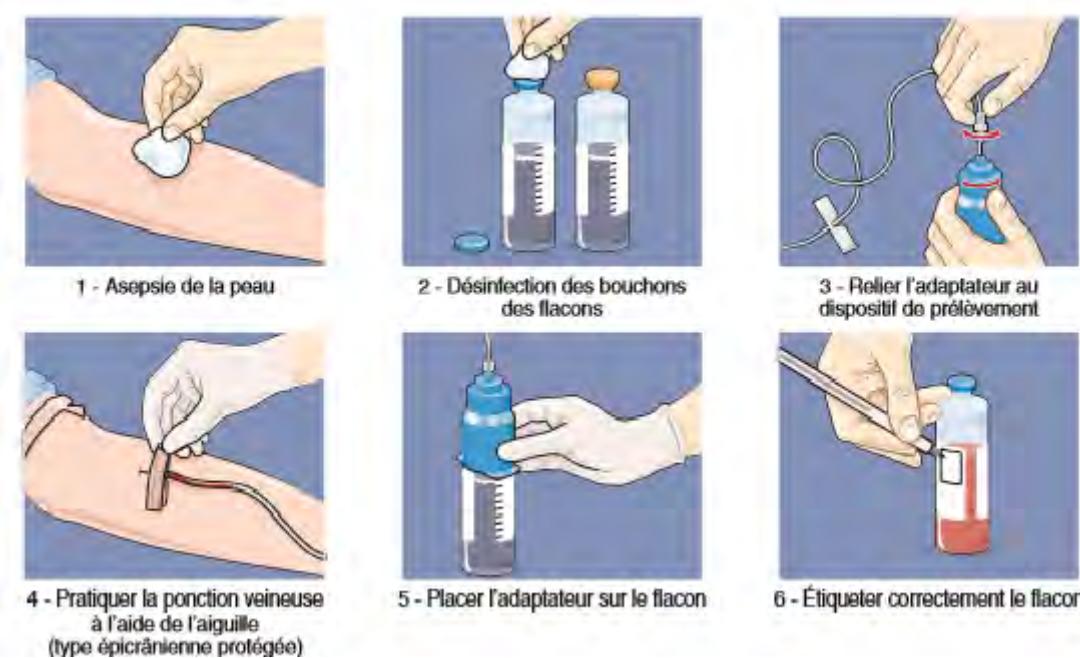


Figure 2 : Procédure de prélèvement du sang et d'inoculation directe des flacons d'hémocultures [6].

❖ **Prélever une quantité de sang suffisante :**

La densité des bactéries présentes dans le sang est généralement très faible chez l'adulte. Une quantification faite par centrifugation-lyse (Isolator) au cours de 11 bactériémies significatives a montré que la densité bactérienne était inférieure à 1 UFC/ml [24]. Il existe une relation directe entre le volume de sang inoculé dans les flacons d'hémoculture et le rendement de la technique ainsi un volume de 20 ml de sang prélevé augmente le pourcentage de positivité de 30%, comparativement à un volume de 10 ml qui est le minimum souhaitable chez l'adulte [25].

Chez l'enfant, la densité des bactéries dans le sang est plus importante que chez l'adulte. Ainsi, un prélèvement de 1 à 2 ml est considéré comme satisfaisant. Ce volume peut être accru en fonction de l'âge [26].

Le recueil d'un volume suffisant de sang est donc nécessaire pour augmenter les chances d'isolement, mais un ratio sang/bouillon doit être respecté car une dilution au 1/10, voire au 1/5, permet d'inactiver l'effet bactéricide du sérum et de diluer les antibiotiques éventuels [23].

❖ **Choisir le moment du prélèvement :**

Au cours de l'évolution de l'infection, la bactériémie peut être intermittente ou au contraire permanente comme c'est le cas au cours des endocardites infectieuses. Ce facteur conditionne le moment du prélèvement : en cas de fièvre continue, il n'a pas d'importance, en revanche,

lorsque la fièvre est discontinue, il est classique de recommander de prélever au moment des frissons ou des pic fébriles [27].

Pour éviter tout faux négatif, il est impératif de pratiquer le prélèvement le plus tôt possible au cours de la maladie et surtout avant toute antibiothérapie

Dans le cas contraire, Prélever à la vallée, en tenant compte de la cinétique des antibiotiques, peut s'avérer utile ou encore mieux une fenêtre thérapeutique de 48 à 72 heures est recommandée si l'état clinique du patient le permet [27].

❖ Effectuer le nombre de prélèvements nécessaires :

Deux à trois hémocultures par 24 heures, espacées de 30 à 60 minutes, sont généralement suffisantes pour isoler le germe responsable de la bactériémie. Un grand nombre de prélèvements exposant à une augmentation du risque de contamination, il est généralement conseillé de ne pas dépasser 4 hémocultures par 24 heures [27].

Tableau II : Nombre d'hémocultures en fonction des indications cliniques [27].

<i>Indication /contexte clinique</i>	<i>Conduite à tenir</i>
Sepsis et tableaux infectieux sévères	Deux séries d'hémocultures prélevées à 30 minutes d'intervalle avant toute antibiothérapie : -1 ^{ère} série : un flacon aérobie et un flacon anaérobie ; -2 ^{ème} série : un flacon aérobie.
Fièvre typhoïde	Deux séries d'hémocultures prélevées à 30 minutes d'intervalle avant toute antibiothérapie. Si absence de croissance au bout de 48 heures, prélever deux séries d'hémocultures chaque jour pendant 3 jours.
Fièvre au long cours	Deux séries d'hémocultures prélevées à 30 minutes d'intervalle avant toute antibiothérapie. Si absence de croissance au bout de 48 heures prélever deux séries d'hémocultures chaque jour pendant 3 jours
Endocardites	Trois séries d'hémocultures prélevées le 1 ^{er} jour à au moins une heure d'intervalle, avant toute antibiothérapie. deux séries d'hémocultures chaque jour pendant 3 jours
Fièvre chez un patient immunodéprimé	Deux séries d'hémocultures prélevées à 30 minutes d'intervalle, avant toute antibiothérapie.
Bactériémie sur cathéter	Hémoculture quantitative
Traitement antibiotique	Tenir compte de la cinétique des antibiotiques. Possibilité de fenêtre thérapeutique.

❖ Acheminement du prélèvement :

Les flacons d'hémoculture, correctement étiquetés avec l'identification du patient, doivent être transportés rapidement au laboratoire.

En dehors des heures ouvrables, ils peuvent être déposés dans une étuve spécifique à 37 °C dans le service clinique [22].

Certains renseignements doivent être fournis : date et heure du prélèvement, le mode de prélèvement (veineux direct ou sur cathéter ou autre dispositif), la température du patient au moment où il est effectué, traitement antibiotique éventuellement prescrit, existence d'une immunodépression, suspicion d'endocardite, d'une bactérie à croissance difficile ou de champignons nécessitant une incubation prolongée des flacons d'hémoculture [6].

3.2-Conditions de culture :

Il est classique pour une même hémoculture d'ensemencer un jeu de deux flacons, l'un incubé en aérobiose, l'autre en anaérobiose.

Les milieux de culture peuvent être liquides (Bouillon trypticase soja= aérobie , Bouillon thioglycolate= anaérobie) ou biphasique (Flacon de Castaneda).

❖ Atmosphère aérobie et anaérobie :

Le flacon aérobie présente une atmosphère aérobie enrichie en CO₂ pour favoriser la croissance de nombreux germes tels : *Haemophilus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Campylobacter* et *Brucella*.

Le flacon anaérobie contient une atmosphère anaérobie composée de CO₂ et de N₂.

Considérant la diminution importante de la fréquence des bactéries anaérobies, l'intérêt du flacon anaérobie pourrait être remis en question mais :

- obligatoire dans les services de chirurgie digestive et gynécologique
- Développement plus rapide bactéries aéro-anaérobies comme les Streptocoques et Entérocoques
- Permet de doubler le volume de sang mis en culture ce qui accroît la sensibilité de l'hémoculture [6].

❖ Le polyanéthol sulfonate de sodium (SPS) :

C'est l'anticoagulant très généralement utilisé dans les bouillons pour hémoculture à une concentration de 0,025 à 0,05 % [28].

Il inhibe l'activité bactéricide du sérum, la phagocytose cellulaire, l'activité du complément et du lysozyme ainsi que certains antibiotiques (aminosides) [28].

Mais risque d'inhibition de certaines souches de *Neisseria*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Streptobacillus moniliformis*... [23].

❖ **suppléments en facteurs de croissance :**

Ces milieux sont supplémentés en nutriments et facteurs de croissance (vitamines, hémine, hydrate de carbone, cystéine...) pour permettre la culture de presque tous les germes retrouvés en pathologie humaine [6].

❖ **Neutralisation des antibiotiques :**

Certains flacons contiennent des résines adsorbeuses de cations ou du charbon activé qui ont un effet neutralisant des antibiotiques.

Une étude réalisée en 1993 a mis en évidence une diminution partielle de l'activité de la ticarcilline, de l'aztreonam, de la ceftriaxone, de l'imipénème et de la teicoplanine. [22].

Il est surtout conseillé de réaliser les prélèvements pour hémocultures, "à la vallée", à distance de l'administration des antibiotiques [23].

❖ **Incubation des flacons d'hémoculture :**

Pour les méthodes conventionnelles une incubation de 7 jours, au minimum, à 37 °C est recommandée.

Pour les systèmes automatisés, une incubation de 5 jours à 37 °C est suffisante. Au-delà de ce délai les bactéries détectées sont généralement des contaminants qui étaient présent en très faible quantité dans le prélèvement. [29][30].

Cependant, quelque soit le système utilisé, un temps d'incubation plus long est nécessaire lorsque une bactérie de culture difficile est suspectée (*brucella*, *legionella..*) ou dans des contextes cliniques particuliers (endocardites, patients sous antibiothérapie) [31].

3.3-Méthodes de détection et d'identification bactérienne:

3.3.1-Les méthodes conventionnelles :

❖ **Examen macroscopique :**

Ces méthodes reposent sur l'examen, deux fois par jour au cours des 48 premières heures puis une fois par jour, de l'aspect macroscopique des flacons à la recherche de signes de croissance bactérienne.

Un flacon négatif montre en général un dépôt d'hématies recouvert d'un bouillon transparent jaune pâle.

La croissance bactérienne se manifeste par une turbidité, hémolyse, production de gaz ou coagulum...

Il est possible en fonction de l'aspect d'un flacon de pressentir l'identité de la bactérie en cause. [23].

Tableau III : Orientation présomptive de la bactérie responsable en fonction de l'aspect du flacon d'hémoculture [23].

Signe observé	Bactérie en cause
Turbidité	Bacilles à Gram négatif aérobies, Staphylocoque, Bactéroïde.
Hémolyse	Streptocoque, Staphylocoque, Listeria Clostridium, Bacillus.
Production de gaz	Bacilles à Gram négatif aérobies anaérobies.
Coagulum	Staphylocoque aureus.

Devant toute suspicion de positivité un examen microscopique et une mise en culture sont réalisés sur les flacons

❖ Examen microscopique :

Sous PSM, l'échantillon est prélevé, de façon aseptique, à l'aide d'une seringue après avoir désinfecté l'opercule du flacon en caoutchouc.

- Etat frais : afin d'observer la mobilité et la morphologie des bactéries
- Coloration de Gram : pour déterminer plus précisément la morphologie des bactéries ; cocci ou bacilles et leur affinité tinctoriales ; Gram positif ou négatif

Un examen positif à ce stade impose d'avertir le clinicien sur les caractéristiques morphologiques des microorganismes observés [32].

❖ Ensemencement et Identification :

Un examen microscopique positif doit être complété par repiquage sur milieux solides choisis en fonction des résultats de l'examen direct

Les cultures étant généralement mono microbiennes, des milieux gélosés non sélectifs seront utilisés : gélose Columbia avec 5% de sang incubé en aérobiose pendant 48h et en anaérobiose pendant 5 jours, gélose au sang cuit enrichie (polyvitex) placé sous CO₂ pendant 48h (*haemophilus spp*, *neisseria spp*)

Si à l'examen direct un mélange de bactéries est suspecté, des milieux sélectifs pourront alors être utilisés : la gélose ANC (acide nalidixique, colistine) pour isoler les bactéries à Gram positif et la gélose CLED pour les bacilles Gram négatif [6].

L'identification des germes est faite sur des caractères morphologiques, culturaux, métaboliques et antigéniques selon les méthodes conventionnelles.

On peut effectuer un antibiogramme directement à partir d'une hémoculture mono microbienne positive, la corrélation avec l'antibiogramme normalisé serait retrouvé dans 95% des cas [33].

En cas d'absence de culture positive au 7eme jour, une subculture des flacons est systématiquement réalisée. Pour les flacons aérobies, elle est effectuée sur gélose au sang cuit avec supplément polyvitaminique, incubée pendant 48 heures sous CO₂. Pour les flacons anaérobies, la subculture est réalisée sur milieu gélosé spécifique incubé en anaérobiose [22].

Le but de ce repiquage est essentiellement de révéler la présence de bactéries, n'entraînant pas toujours de trouble visible (*Haemophilus influenzae*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Pseudomonas*). [34].

Ces techniques ont des inconvénients :

- détection tardive de la croissance bactérienne.
- absence de détection des bactéries à croissance difficile qui ne donnent pas de trouble visible dans le flacon d'hémoculture (*Neisseria*, *Haemophilus*, *Campylobacter*).
- risques de contamination lors de repiquages répétés.

Pour pallier ces limites, un certain nombre de techniques ont été utilisés :

- mise en agitation des flacons aérobies pendant les premières 24h d'incubation (accélère la croissance bactérienne)
- repiquage systématique à 48 heures des flacons négatifs sur gélose chocolat

- utilisation de systèmes diphasiques permettant de visualiser les colonies sur le milieu solide,
- détection de la croissance bactérienne par le système Signal ® : équipé d'un indicateur permettant la mise en évidence d'une surpression due à la croissance bactérienne dans le flacon.

3.3.2-Les méthodes automatisées :

Les automates d'hémocultures :

- utilisent des flacons contenant des milieux de culture perfectionnés,
- assurent une agitation continue des flacons ce qui renouvelle les éléments nutritifs dans l'environnement des bactéries et augmente la concentration d'oxygène dissout dans le flacon aérobie
- assurent une surveillance automatique et continue de la croissance bactérienne qui est fondée sur la mesure du CO₂ produit par le métabolisme bactérien (Une alarme visuelle et/ou sonore avertit de tout résultat positif)
- Les automates permettent également une amélioration de l'assurance qualité grâce au logiciel de gestion de données et à la connexion à l'informatique du laboratoire : les risques d'erreurs sont donc moindres [35].

➡ Réponse plus rapide et plus fiable.

La plupart des hémocultures poussent en moins de 48 heures (coques, bacilles Gram négatif).

Après 7jours, il est possible de rendre un résultat négatif. Ce délai peut être abaissé à 5jours avec un automate sauf en cas de recherche de germe à croissance lente (brucelles, légionnelles, champignons filamentueux) ou de suspicion d'endocardite (dans ce dernier cas, attendre 3 semaines) [21].

Tableau IV : Caractéristiques des automates actuellement Commercialisés en France [23]

Type	Principe de détection	Nombre de lecture quotidienne	Volume de bouillon par flacon
Bactec 9240	mesure non invasive de CO ₂ par fluorescence	toutes les 10 mn	25ml
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»	toutes les 10 mn	40 ml
Bio Argos	indicateur de pH mesure du CO ₂ par infra-rouge à travers le verre	programmé : 2 à 8 mn	25 ml

Les repiquages et l'identification bactérienne se font de la même manière que pour les méthodes classiques

3.3.3-La détection et l'identification bactériennes Par amplification génique (PCR) universelle et détermination de la séquence de l'ARNr 16S :

Les gènes codant pour les molécules d'ARN ribosomal (ARNr) 16S et 23S possèdent des séquences communes à toutes les espèces bactériennes, et d'autres séquences spécifiques d'espèce [22][36]. A partir d'un prélèvement sanguin, l'utilisation d'amorces qualifiées d'universelles permet donc d'obtenir par PCR un fragment de l'ADN codant pour l'ARN ribosomal .

La détermination de la séquence des amplicons obtenus est suivie d'une recherche d'homologie avec les séquences des ARNr d'une base de données, permettant l'identification de l'espèce bactérienne en cause [37].

Dans des conditions optimales, la détection et l'identification des microorganismes par PCR universelle peuvent être obtenues en moins de 48h

Cet outil reste couteux par rapport aux techniques de culture conventionnelle [37].

3.4-Résultats et interprétation :

3.4.1-Hémocultures positives :

a-hémocultures mono microbienne :

La difficulté de l'interprétation réside souvent dans la distinction entre les vraies bactériémies et les souillures au moment du prélèvement.

Pour tenter de faire la différence, on se base sur :

- l'espèce du germe isolé :

L'isolement d'un germe ayant un pouvoir pathogène spécifique confirme son implication dans une véritable bactériémie. Par contre l'isolement d'un germe présent naturellement sur la peau ou dans l'environnement est en faveur d'une souillure. L'interprétation est beaucoup plus délicate pour des germes qui peuvent aussi bien être responsables de vraies bactériémies que de simples contaminations.

Tableau V : Signification pathologique des germes isolés dans les hémocultures[13]

Germes considérés comme ayant un pouvoir pathogène indiscutable	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , les streptocoques β-hémolytiques, les bactéries anaérobies strictes, <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Haemophilus spp</i> , Groupe HACCEK, <i>Brucella spp</i> , <i>Pasteurella spp</i> , <i>Campylobacter spp</i> ,
Germes considérés comme pathogènes dans plus de 90% des cas	<i>Staphylococcus aureus</i> , les entérobactéries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Candida albicans</i> ;
Germes qui peuvent aussi bien être responsables de vraies bactériémies que de simples contaminants	Les entérocoques, les streptocoques non groupables et surtout les staphylocoques à coagulase négative (SCN) ¹
Germes dont la présence est majoritairement due à une souillure . Ils sont responsables de bactériémies significatives dans moins de 5 % des cas	<i>Corynebacterium spp</i> , <i>Bacillus spp</i> , <i>Propionibacterium spp</i> , <i>Micrococcus spp</i> .

- le nombre de flacons positifs :

Si un même germe est isolé de plusieurs flacons, on peut conclure à une véritable bactériémie.

Si sur plusieurs prélèvements, un seul flacon est positif, il faut tenir compte de l'espèce isolée (tableau ci-dessus)

- la présence de signes cliniques :

Il est primordial de confronter les résultats microbiologiques obtenus au laboratoire avec le contexte clinique que connaît le médecin en charge du patient.

- la présence du même germe sur un autre site infectieux :

L'isolement d'un même germe au niveau d'une hémoculture et d'un foyer infectieux (urine, prélèvement broncho-pulmonaire, pus abdominal, LCR ...) est un argument en faveur d'une bactériémie.

b-Hémocultures poly microbiennes :

Les bactériémies polymicrobiennes sont peu fréquentes et sont surtout rencontrées dans un contexte clinique particulier :

- infection grave chez l'immunodéprimé (cirrhose, cancer colique..)
- bactériémie à point de départ cutanée : brûlures, escarres..
- bactériémie à point de départ digestif : chirurgie abdominale avec effraction

La présence de plusieurs germes sur les milieux de culture doit cependant être interprétée avec prudence car la plupart des bactériémies sont monomicrobiennes et le plus souvent un des germes retrouvés est une souillure apportée au moment du prélèvement. L'interprétation des résultats tient compte de l'identification des germes isolés, du nombre de flacons positifs sur le nombre total d'hémocultures réalisées et du contexte clinique [38].

Tableau VI : Interprétation des hémocultures polymicrobiennes [38]

Microorganismes isolés	Résultats de plusieurs hémocultures	Interprétation Conduite à tenir	Contextes en faveur du diagnostic
Ils font tous partie des pathogènes fréquents des bactériémies (Tableau 5).	/	Bactériémie polymicrobienne Réaliser identification complète et antibiogramme sur chaque souche.	Patient immuno-déprimé, Infection cutanée, Chirurgie abdominale avec effraction, Enfant.
Un germe, contaminant fréquent des hémocultures (Tableau 5), parmi les germes isolés.	Plusieurs hémocultures positives avec les mêmes germes	Bactériémie polymicrobienne Réaliser identification complète et antibiogramme sur chaque souche.	/
	Le contaminant n'est retrouvé que dans une seule hémoculture	Bactériémie monomicrobienne doublée du développement d'une souillure Réaliser identification complète et antibiogramme <u>uniquement</u> sur la souche pathogène.	

3.4.2-Hémocultures négatives :

Lorsque toutes les hémocultures sont négatives, le diagnostic de bactériémie est peu probable mais ne peut être totalement écarté car les causes d'échec sont nombreuses : traitement antibiotique préalable, ensemencement par une quantité de sang inadéquate, faible relargage des germes dans le sang circulant, germe de culture difficile (*Brucella*, *Campylobacter spp*, *Legionella spp*, *Mycoplasma spp*, les bactéries du groupe HACCEK ou des bactéries anaérobies strictes) [6].

**DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL
PERSONNEL**

CHAPITRE 1 : CADRE ET PERIODE D'ETUDE

C'est une étude rétrospective réalisée sur une période de 5 ans allant du 1er Janvier 2012 au 31 Décembre 2016, portant sur l'ensemble des bactéries isolées à partir des hémocultures réalisées au laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHNU de FANN.

Le laboratoire de bactériologie-virologie du CHNU de FANN est constitué de plusieurs locaux qui sont subdivisés comme suit :

- le bureau du chef de service
- le bureau du MCA
- le bureau des biologistes
- le bureau de la surveillante du service
- le secrétariat
- les vestiaires
- la salle de stérilisation et de préparation des milieux
- la salle de sérologie
- la salle de manipulation des produits pathologiques polymicrobiens qui comprend 3 paillasse: une paillasse pour la coproculture, une autre pour les prélèvements génitaux et une pour les pus et divers.
- la salle de manipulation des produits pathologiques monomicrobiens qui comprend 3 paillasses : une paillasse pour le liquide céphalo-rachidien et les hémocultures, une autre pour les urines et une pour l'antibiogramme.

CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES

2.1-Echantillonnage :

Ont été inclus les bactéries isolées d'hémoculture et considérées comme pathogène durant la période d'étude.

N'ont pas été inclus dans notre étude :

- Les doublons (les mêmes isolats avec le même profil de sensibilité, isolés plusieurs fois chez le même patient sur une période de moins de 5 jours)
- Les bactéries de la flore commensale (staphylocoques à coagulase négative et corynebacteries spp), elles ne sont retenues que si elles sont isolées au moins deux fois chez le même patient

2.2-Recueil des données :

Le recueil des données s'est fait à partir des registres et des fiches d'antibiogramme du laboratoire de Bactériologie du CHNU FANN

Les variables recueillies sont : - Mois et année du prélèvement

- Age et sexe du patient
- Service de provenance
- Indication de l'hémoculture
- Bactérie isolée
- Sensibilité aux antibiotiques des isolats

2.3-Exploitation des données :

Les données ont été saisies puis exploitées avec les logiciel EPI.INFO dans sa version 3.5.4 et Excel, afin d'obtenir des résultats statistiques.

2.4-Pratique de l'hémoculture au laboratoire :

2.4.1-Réception des ballons d'hémoculture :

- vérification du bulletin d'analyse (identité du malade, diagnostic clinique, éventuel traitement reçu, date et heure du prélèvement, service, prescripteur)
- enregistrement des ballons d'hémoculture sur le registre de paillasse [39].

2.4.2-Protocole opératoire des hémocultures au laboratoire :

❖ Méthode manuelle :

- Premier jour : on incube les flacons à l'étuve à 37°C
- Jours suivants :

Examen macroscopique : tous les jours à la recherche de signes témoignant d'une croissance bactérienne (turbidité, hémolyse, voile, production de gaz ou coagulum)

Examen microscopique : en cas de ballon suspect faire un état frais et une coloration de Gram

En présence de cocci à Gram positif :ensemencer un milieu MH, Chapman et GSO

En présence de bacilles à Gram négatif : faire une mini-galerie (KH et MM) et ensemencer un MH [39]

- Test de stérilité :

Faire un repiquage systématique sur MHSC à J3 et J5 et sur MH tube à J9

En cas de pousse, faire un Gram et identifier la bactérie en cause [39].

Les flacons négatifs sont rendus stériles après 10jours d'incubation

Seuls les flacons d'hémoculture aérobie sont disponibles au laboratoire

❖ Méthode automatisée :

Les ballons d'hémoculture sont incubés, sous agitation continue à 37C, dans l'automate (BACT/ALERT)

Les flacons sont rendus négatifs après 5 jours d'incubation

En cas de positivité détectée par l'automate, on effectuera les mêmes étapes que pour la méthode manuelle (5) [39].

❖ Identification bactérienne :

Basée sur les caractères culturaux, biochimiques et antigéniques selon les méthodes conventionnelles.

2.5-Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH) en réalisant un écouvillonnage selon les normes du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM)

Un inoculum standard 0.5 McFarland (108 UFC/ml) est préparé à partir d'une culture de 18-24 h sur milieu gélosé non sélectif par dilution en solution saline (0,9 % NaCl)

Le choix des disques d'ATB à tester dépend de la bactérie isolée et s'est fait, également, selon les normes du CA-SFM

La lecture s'est faite après 18-24 h d'incubation à 35-37° C

Les différents résultats ont été classés en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistant (R). Pour faciliter la lecture interprétative, les souches intermédiaires ont été considérées comme résistantes.

❖ Staphylocoques :

Les disques d'ATB utilisés sont les suivants :

E : Erythromycine ; L : Lincomycine ; PT : Pristinamycine ; TE : Tétracycline ; C : Chloramphénicol ; SXT : Cotrimoxazole ; PEF : Pégloxacine ; VA: Vancomycine ; FA : Acide fusidique ; K: Kanamycine ; TM: Tobramycine ; GM: Gentamicine ; PG : Pénicilline G ; CIP : Ciprofloxacine ; OXA : Oxacilline ; FOX : Céfoxitine [40].

La résistance à la méticilline a été recherché par un disque d'oxacilline chargé à 5 µg sur gélose MH hypersaléée incubée 24h à 37° C et/ou par un disque de cefoxitine chargé à 30 µg dans les conditions standards de l'antibiogramme [40].

❖ Streptocoques :

Les disques d'ATB utilisés sont les suivants :

E : Erythromycine ; L : Lincomycine ; PT : Pristinamycine ; TE : Tétracycline ; C : Chloramphénicol ; SXT : Cotrimoxazole ; VA: Vancomycine ; K: Kanamycine ; TM: Tobramycine ; GM: Gentamicine ; PG : Pénicilline G ; CIP : Ciprofloxacine ; OXA : Oxacilline ; FOX : Céfoxitine ; AMX : amoxicilline [40].

❖ Entérobactéries :

Les disques d'ATB utilisés sont les suivants :

AMX : Amoxicilline ; TIC : Ticarcilline ; CTX : Céfotaxime ; CF : Céfalotine ; FOX : Céfoxitine ; AZT : Aztreonam ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; CAZ : Ceftazidime ; IMP : Imipénème ; PIP : Pipéracilline ; CRO : Ceftriaxone ; FOS : Fosfomycine ; C : Chloramphénicol ; K : Kanamycine ; GM : Gentamicine ; TM : Tobramycine ; AN : Amikacine ; NET : Nétilmicine ; TE : Tétracycline ; LVX : Lévofoxacine ; CS : Colistine ; NA : Acide nalidixique ; NOR : Norfloxacine ; PEF : Pégloxacine ; CIP : Ciprofloxacine ; SXT : Cotrimoxazole ; NI : Nitroxoline [40].

La recherche des entérobactéries productrices de beta-lactamases (BLSE) a été effectué par le test de synergie entre un inhibiteur de beta-lactamase (AMC) d'une part et une C3G ou l'aztreonam d'autre part dans les conditions standards de l'antibiogramme [40].

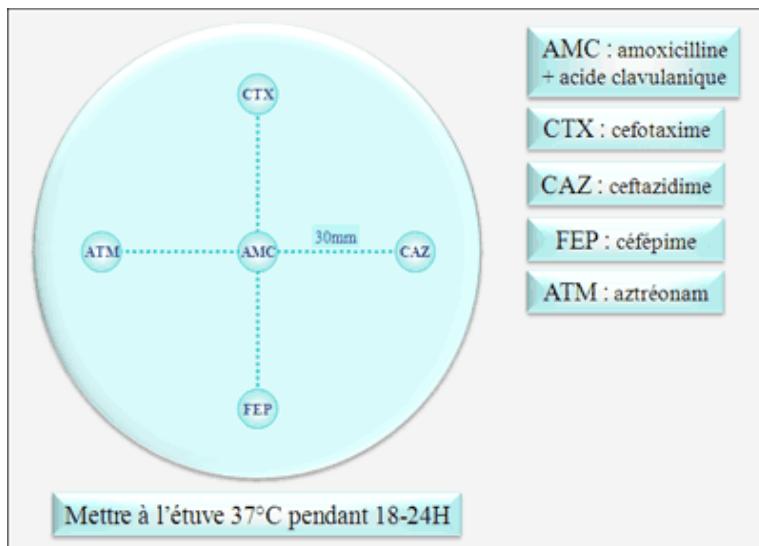


Figure 3 : Test de synergie BLSE

Les BLSE étant inhibées par l'acide clavulanique, un test positif se traduira donc par une synergie d'action entre l'acide clavulanique et une céphalosporinase de 3^{ème} génération.



Figure 4 : Test de synergie positif chez une souche productrice de BLSE (image en bouchon de champagne)

❖ Bacilles non fermentaires :

Les disques d'ATB utilisés sont les suivants :

PIP : Pipéracilline; TIC : Ticarcilline ; AZT : Aztréonam; CAZ : Ceftazidime; K : Kanamycine ; TM : Tobramycine; GM : Gentamicine; SXT : Cotrimoxazole ;IPM : Imipénème; FOS : Fosfomycine; CS : Colistine; CIP : Ciprofloxacine; PEF : Péfloxacine ;C : Chloramphénicol; NET : Nétilmicine ;AN : Amikacine ; TIC-Aclav : Ticarcilline-A clavulanique ; TZP : Piperacilline-Tazobactam [40]wq

CHAPITRE 3 : RESULTATS

3.1-Profil épidémiologique :

3.1.1-Fréquence des hémocultures positives :

Au total 4133 hémocultures ont été réalisées au cours de la période d'étude, dont 635 ont été positives, soit 15,36%.

3.1.2-Répartition des bactériémies selon le sexe :

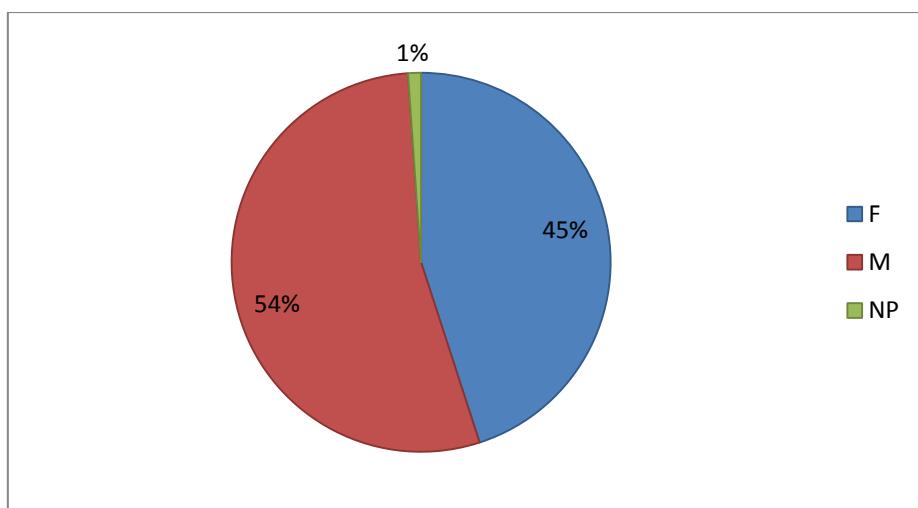


Figure 5 : Répartition des patients selon le sexe.

Dans notre étude, le sexe masculin représente 54 % contre 45% de sexe féminin; ce qui correspond à un sex-ratio (H / F) de 1,2.

3.1.3-Répartition des bactériémies selon l'âge :

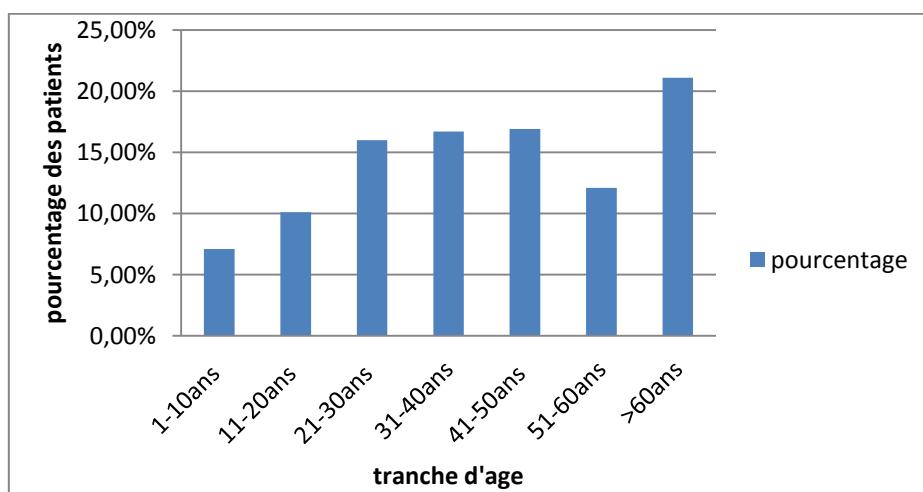


Figure 6 : Répartition des patients en fonction de l'âge

L'âge moyen était de 41,7 ans et l'âge médian de 41 ans, avec des âges extrêmes de 1 an et 93 ans. La majorité de nos patients (21.1%) appartenait à la tranche d'âge > 60 ans.

3.1.4-Répartition selon le statut interne-externe :

93.7% des hémocultures provenaient des patients internes, 5.8% des patients externes et 0.5% d'origine non précisée.

3.1.5-Répartition des bactériémies en fonction des services cliniques :

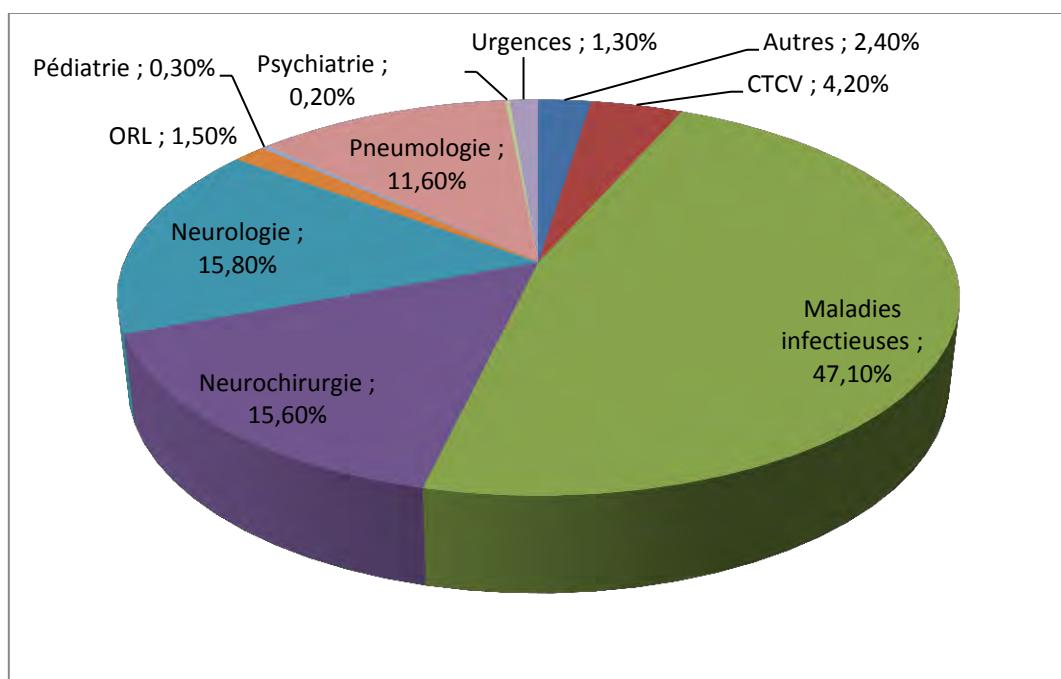


Figure 7 : Répartition des hémocultures positives en fonction des services cliniques

Le service de maladies infectieuses est le plus grand pourvoyeur de bactériémies avec 47.1% des cas suivi par les services de neurologie, neurochirurgie, et pneumologie avec des taux respectifs de : 15.8%, 15.6% et 11.6%.

3.1.6-Répartition des bactériémies en fonction des années :

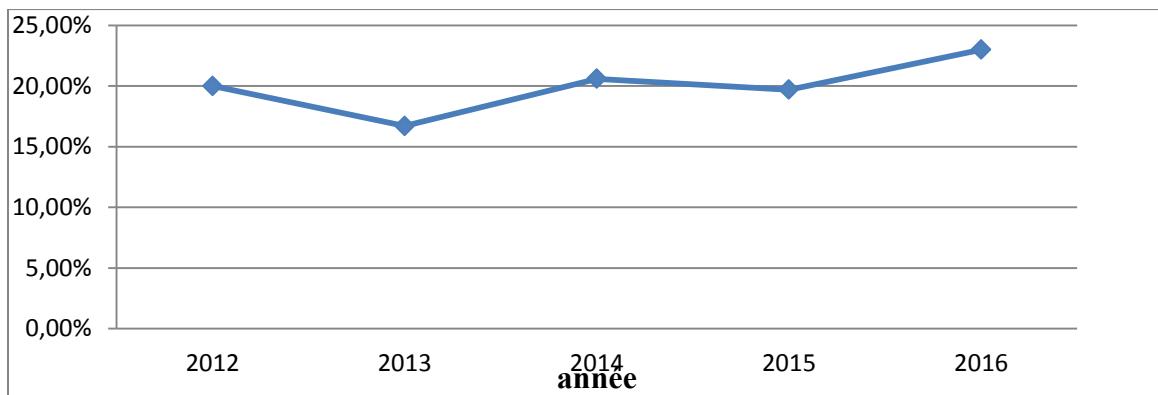


Figure 8 : Evolution des bactériémies en fonction des années

A l'exception d'une baisse du taux de bactériémies entre 2012 (20%) et 2013 (16.7%), l'allure globale de la courbe est croissante avec une augmentation des bactériémies allant de 20% (127) en 2012 à 23% (146) en 2016

3.2-Profil bactériologique :

Tableau VII : Répartition des différentes espèces bactériennes responsables de bactériémies en fonction des années

Bactérie	Année					
	2012 N (%)	2013 N (%)	2014 N (%)	2015 N (%)	2016 N (%)	Total N (%)
Cocci Gram positif	42 (33.1%)	35 (33%)	70 (53.5%)	67 (53.6%)	75 (51.4%)	289 (45.5%)
Staphylocoques	32 (25.2%)	22 (20.7%)	61 (46.6%)	59 (47.2%)	68 (46.6%)	242 (38.1%)
<i>S.aureus</i>	15 (11.8%)	14 (13.2%)	27 (20.6%)	33 (26.4%)	22 (15.1%)	111 (17.5%)
SCN	17 (13.4%)	8 (7.5%)	34 (25.9%)	26 (20.8%)	46 (31.5%)	131 (20.6%)
Streptocoques	10 (7.9%)	13 (12.3%)	9 (6.9%)	8 (6.4%)	7 (4.8%)	47 (7.4%)
BGN	85 (66.9%)	71 (67%)	61 (46.7%)	58(46.4%)	71 (48.9%)	346 (54.5%)
Entérobactéries	54 (42.5%)	34 (32%)	35 (26.8%)	37 (29.6%)	58 (39.9%)	218 (34.3%)
<i>K.pneumoniae</i>	30 (23.6%)	12 (11.3%)	23 (17.6%)	10 (8%)	20 (13.7%)	95 (15%)
<i>Enterobacter.spp</i>	11 (8.7%)	9 (8.5%)	6 (4.6%)	13 (10.4%)	20 (13.7%)	59 (9.3%)
<i>E.coli</i>	7 (5.5%)	9 (8.5%)	5 (3.8%)	9 (7.2%)	8 (5.5%)	38 (6%)
<i>Citrobacter spp</i>	4 (3.2%)	1 (0.9%)	1 (0.8%)	2 (1.6%)	4 (2.8%)	12 (1.8%)
<i>K. oxytoca</i>	1 (0.8%)	0	0	0	1 (0.7%)	2 (0.3%)
<i>Salmonella spp</i>	1 (0.8%)	3 (2.8%)	0	1 (0.8%)	1 (0.7%)	6 (0.9%)
<i>Serratia spp</i>	0	0	0	2 (1.6%)	1 (0.7%)	3 (0.5%)
<i>Proteus spp</i>	0	0	0	0	3 (2.1%)	3 (0.5%)
Non fermentaires	31 (24.4%)	37 (35%)	26 (19.9%)	21 (16.8%)	13 (9%)	128(20.15%)
<i>P.aeruginosa</i>	18 (14.2%)	14 (13.2%)	12 (9.2%)	7 (5.6%)	3 (2.1%)	54 (8.5%)
<i>Acinetobacter spp</i>	8 (6.3%)	6 (5.7%)	7 (5.3%)	12 (9.6%)	7 (4.8%)	40 (6.3%)
<i>Flavobacterium spp</i>	3 (2.4%)	7 (6.6%)	4 (3.1%)	1 (0.8%)	2 (1.4%)	17 (2.7%)
<i>Pseudomonas sp</i>	2 (1.6%)	9 (8.5%)	2 (1.5%)	0	1 (0.7%)	17 (2.2%)
Autres NF	0	1(0.9%)	1 (0.8%)	1 (0.8%)	0	3 (0.5%)
Total	127 (100%)	106 (100%)	131 (100%)	125 (100%)	146 (100%)	635 (100%)

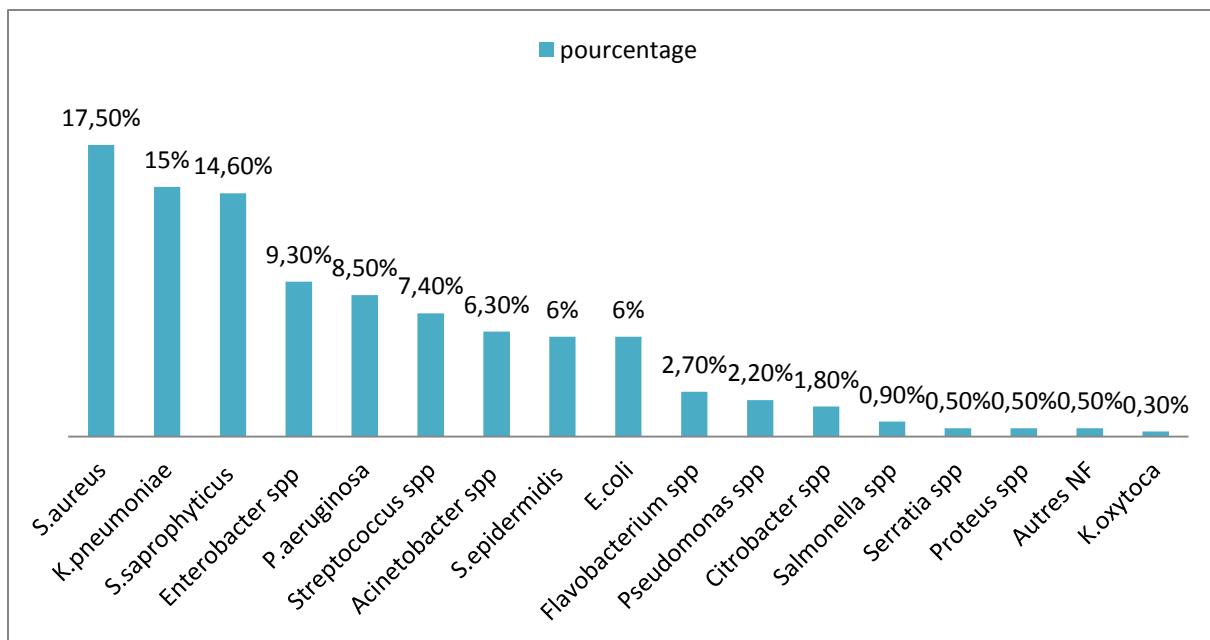


Figure 9 : Répartition des hémocultures positives en fonction des espèces bactériennes

Les 4 espèces prédominantes étaient par ordre décroissant : *S.aureus*, *K.pneumonia*, *S.saprophyticus* et *Enterobacter.spp* avec les proportions respectives de 17.5%, 15%, 14.6%, et 9.3%

3.2.1-Profil des bacilles à Gram négatif :

Les BGN étaient majoritaires avec 54.4% des isolats

Le rapport BGN/CGP = 1.2 en faveur des BGN

Ils ont représenté 54.4% des isolats soit 346 souches avec une prédominance des entérobactéries (218 souches soit 34.3% de l'ensemble des isolats)

Parmi les entérobactéries *K.pneumoniae* était le germe le plus fréquemment retrouvé (15%) suivi d'*Enterobacter spp* (9.3%) et d'*E.coli* (6%)

Parmi les non fermentaires *P.aeruginosa* était en tête (8.5%) suivi d'*Acinetobacter spp* (6.3%)

L'analyse de la cinétique des isolements durant les 5 années d'étude a montré qu'il y'a eu une baisse du taux d'isolement des BGN qui est passé de 66.9% en 2012 à 48.9% en 2016.

On a assisté à une diminution de la fréquence des isolements de *K.pneumoniae* et *P.aeruginosa*. En contrepartie la fréquence des isolements d'*Enterobacter spp* a augmenté.

3.2.2-Profil des cocci à Gram positif

Les CGP ont représenté 45.5% des isolats (289 souches) et sont constitués essentiellement de SCN et *S.aureus* avec des taux respectifs de 20.6% et 17.5% de l'ensemble des isolats.

Les streptocoques n'ont représenté que 7.4% de l'ensemble des isolats

L'analyse de la cinétique des isolements durant les 5 années d'étude a montré qu'il y'a eu une augmentation du taux d'isolement des CGP qui est passé de 33.1% en 2012 à 51.4% en 2016
On a également noté une augmentation de la fréquence des isolements des SCN qui est passé de 13.4% en 2012 à 31.5% en 2016

3.3-Etude du profil de résistance aux antibiotiques :

3.3.1-Bacilles à Gram négatif :

3.3.1.1-Entérobactéries :

Tableau VIII : Taux de résistance des entérobactéries aux antibiotiques :

Antibiotique	Nombre de souches testées	% de résistance
Bêta-lactamines		
Amoxicilline (AMX)	212	97.2
Ticarcilline (TIC)	159	88.8
Amoxicilline + acide clavulanique (AMC)	215	87.4
Pipéracilline (PIP)	94	83
Cefalotine (CEF)	201	91.5
Cefoxitine (FOX)	188	48.9
Cefotaxime (CTX)	151	68.9
Ceftriaxone (CRO)	138	73.9
Céf épime (FEP)	184	65.8
Ceftazidime (CAZ)	183	73.2
Aztreonam (AZT)	176	70
Imipenème (IMP)	210	0.5
Quinolones		
Acide nalidixique (NA)	199	42.7
Pefloxacine (PEF)	45	44.4
Norfloxacine (NOR)	184	66.8
Ciprofloxacine (CIP)	203	52.7
Levofloxacine (LEV)	124	32.3
Aminosides		
Kanamycine (K)	167	52.1
Tobramycine (TM)	164	49.9
Gentamicine (GM)	155	60.6
Amikacine (AN)	191	2.6
Netilmicine (NET)	160	47.5
Autres		
Chloramphénicol (C)	116	27.6
Fosfomycine (FOS)	107	41.1
Cotrimoxazole (SXT)	160	80
Nitroxoline (NI)	43	90.7

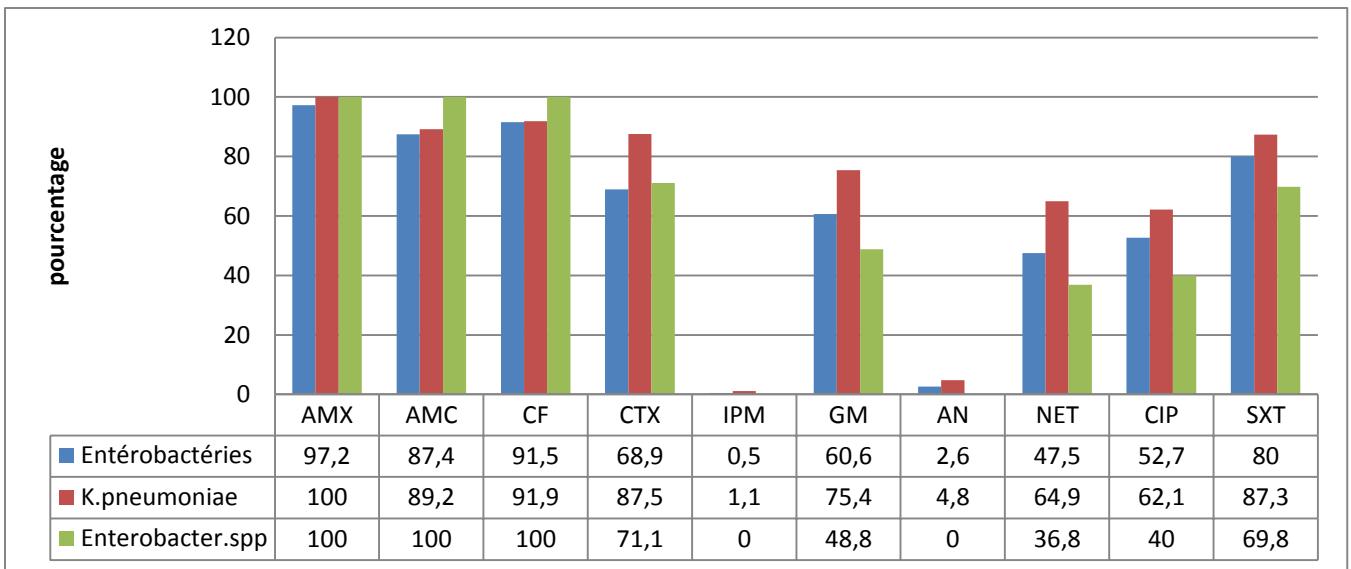


Figure 10: Pourcentage de résistance aux antibiotiques des entérobactéries en fonction des espèces

❖ **Sensibilité des entérobactéries aux bêta-lactamines :**

Les isolats d'entérobactéries ont présenté des taux élevés de résistance à l'amoxicilline (97.2%), à l'association amoxicilline-acide clavulanique (87.4%), à la ticarcilline (88.8%), à la piperacilline (83%) et à la céfalotine (91.5%)

La résistance des entérobactéries aux C3G était également très élevée avec des taux respectifs de 68.9%, 73.9% et 73.2% pour la cefotaxime, la ceftriaxone et le ceftazidime

La résistance à l'imipénème était très faible de l'ordre de 0.5%

Sur un total de 218 entérobactéries, 63,8 % présentaient une BLSE ,16 .6% une pénicillinase, 1.4% une céphalosporinase et 13.8% étaient de phénotype sauvage.

Les 149 entérobactéries productrices de BLSE étaient constituées de : 81 *K.pneumoniae*, 38 *Enterobacter spp*, 22 *E.coli* , 6 *Citrobacter spp*, 1 *Proteus spp* et 1 *klebsiella oxytoca*

❖ **Sensibilité des entérobactéries aux quinolones :**

Les entérobactéries ont présenté une résistance de 66.8% à la norfloxacine contre 52.7% et 32.3% respectivement à la ciprofloxacine et la levofloxacine.

❖ **Sensibilité des entérobactéries aux aminosides**

Les entérobactéries ont présenté de fortes résistances à la kanamycine, à la tobramycine, à la gentamicine et à la netilmicine avec des pourcentages respectifs de 52.1%, 49.9%, 60.6% et 47.5%. Une très faible résistance à l'amikacine a été noté (2.6%)

3.3.1.2- Bacilles non fermentaires :

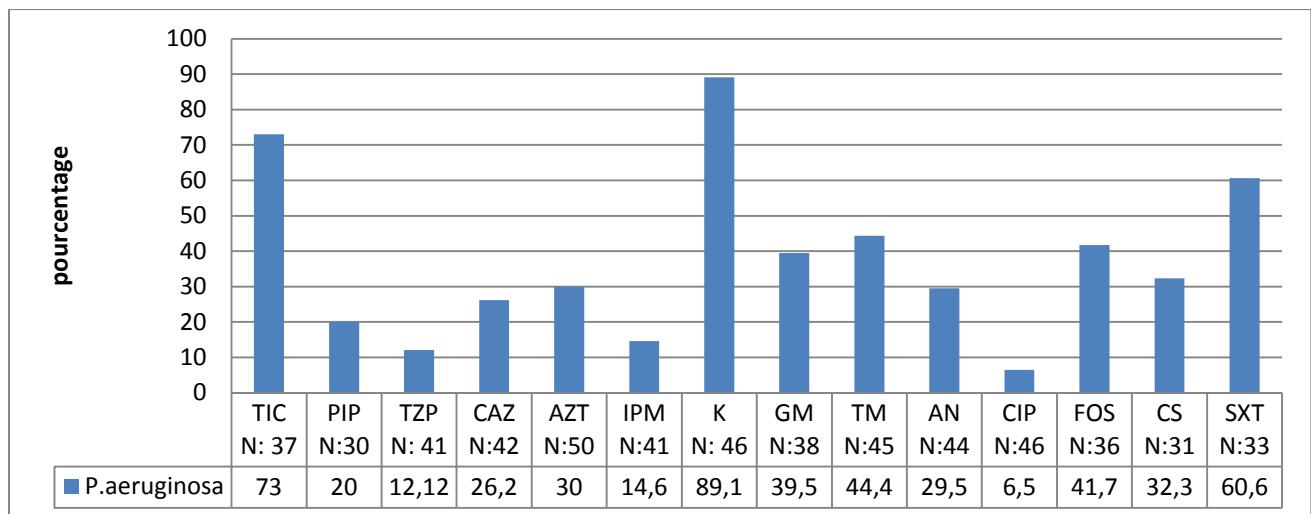


Figure 11: Pourcentage de résistance de *P.aeruginosa* aux antibiotiques

Les isolats de *P.aeruginosa* ont été résistants à la ticarcilline, à la piperacilline, à la piperacilline-tazobactam, à la ceftazidime et à l'imipénème dans, respectivement, 73%, 20%, 12.2%, 26.6% et 14.6% des cas.

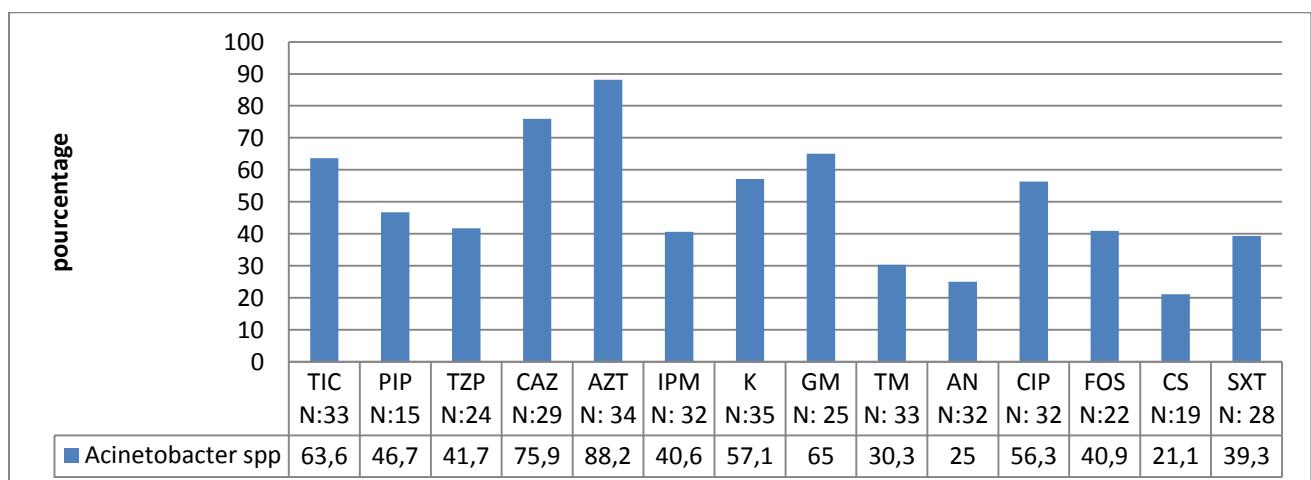


Figure 12: Pourcentage de résistance d'*Acinetobacter* spp aux antibiotiques

Les taux de résistance respectifs d'*Acinetobacter* spp à la ticarcilline, à la piperacilline, à la piperacilline-tazobactam, à la ceftazidime et à l'imipénème ont été de 63.6%, 46.7%, 41.7%, 75.9% et 40.6%

Parmi les aminosides l'amikacine est la molécule la plus active avec un taux de résistance de seulement 25%

La résistance aux fluoroquinolones a été de 56.3%

3.3.2-Cocci à Gram positif :

Les nouvelles recommandations du CA-SFM proposent la céfoxitine pour interpréter la méticillino-résistance. Dans notre série, les disques de céfoxitine n'ont été utilisés que pour 178 souches de staphylocoques. Par contre, les disques d'oxacilline ont été testés pour 241 souches. C'est pour cela que nous interpréterons les phénotypes en tenant compte de la sensibilité à l'oxacilline et à la pénicilline

3.3.2.1-Staphylocoques :

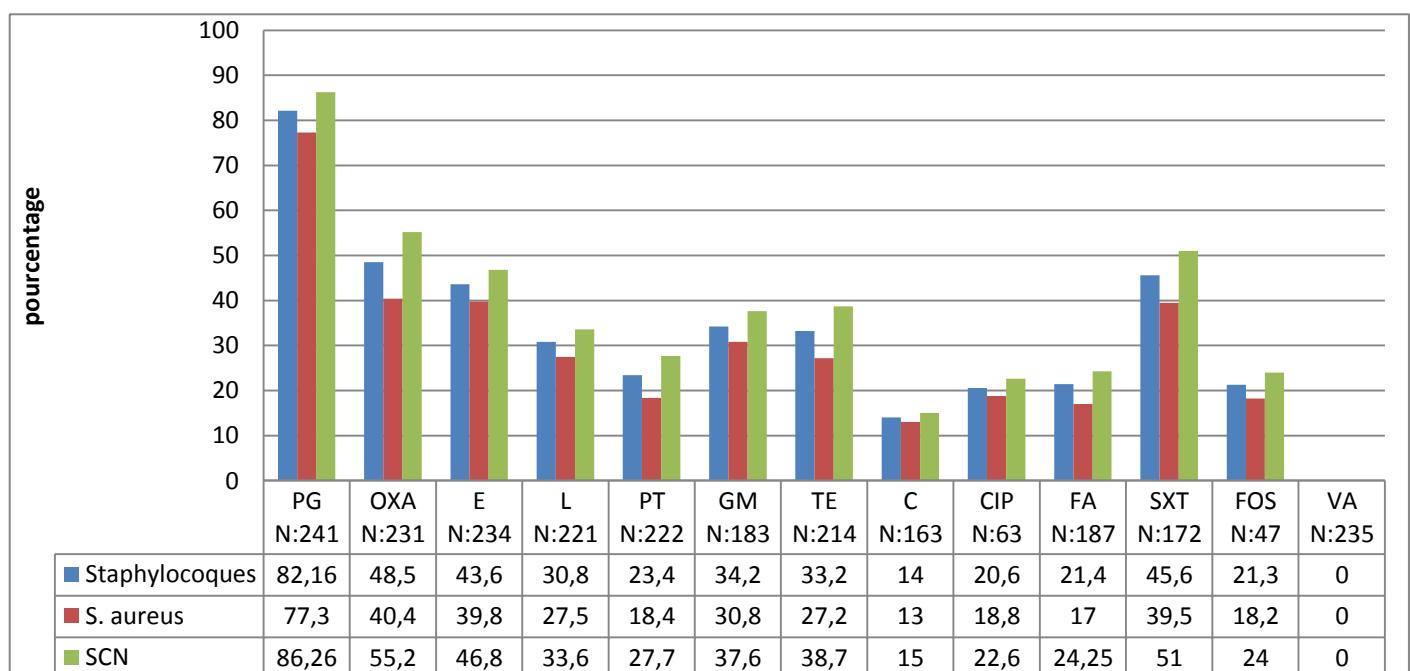


Figure 13: Taux de résistance des staphylocoques aux antibiotiques

*N : nombre de souches testées

S.aureus était résistant à la pénicilline G dans 77,3% des cas et résistant à l'oxacilline dans 40.4% des cas

Les SCN étaient résistants à la pénicilline G dans 86.26% des cas et à l'oxacilline dans 55.% des cas

Au total nous avons retrouvé 48.5% de staphylocoques méti-R (40.4% *S.aureus* et 55.2% SCN), 34% producteurs de pénicillinase et 17.5% ayant un phénotype sauvage.

Les fréquences de résistance respectives de tous nos isolats de staphylocoques à l'erythromycine, pristinamycine, gentamicine, la ciprofloxacine et à la fosfomycine ont été respectivement de 43.6%, 23.4%, 34.2% , 20.6% et 21.3%

Toutes nos souches de staphylocoques étaient sensibles à la vancomycine.

3.3.2.2-Streptocoques :

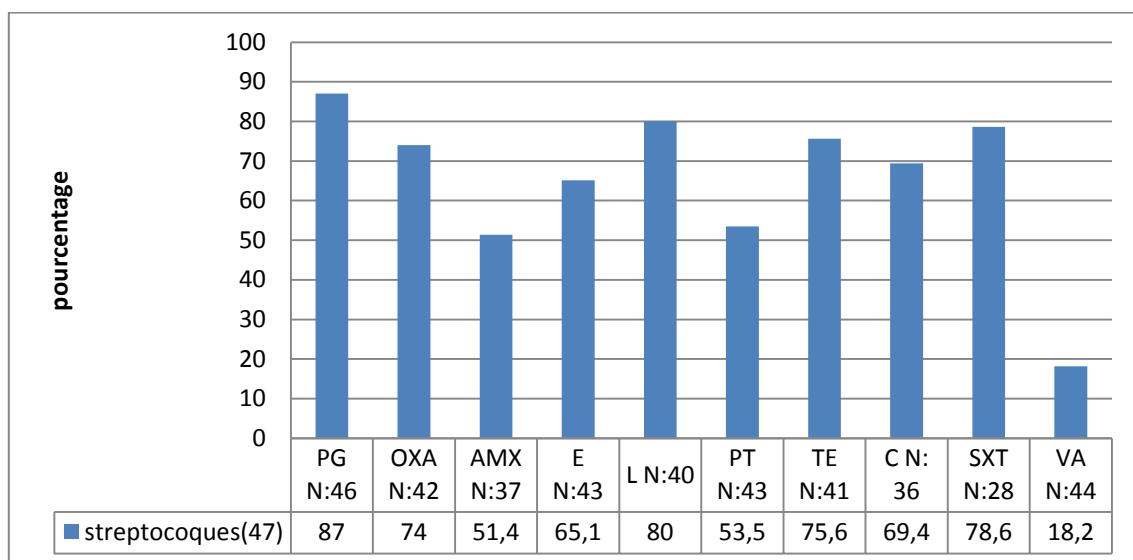


Figure 14: Pourcentage de résistance des streptocoques aux antibiotiques

Les taux de résistance des streptocoques à la peniG, à l'amoxicilline et à la vancomycine étaient respectivement de 87%, 51.4% et 18.2%.

CHAPITRE 4 : DISCUSSION

4.1-Profil épidémiologique :

4.1.1-Le sexe des patients :

Dans notre étude, le sex-ratio est en faveur du sexe masculin avec un taux de 1.2, ce taux est comparable avec ceux obtenus dans plusieurs études qui ont été réalisés au Sénégal, au Burkina-Faso, au Maroc, en Tunisie, et ayant enregistré des taux respectifs de 1.07, 1.16, 1.25 et 1.65 [41][42][43][44].

Les hommes sont plus exposés au risque de septicémies que les femmes. Ceci serait dû à une différence dans l'immunité, en effet, il a été démontré que les hormones sexuelles mâles (androgènes) ont un effet suppresseur sur la réponse immunitaire à médiation cellulaire. En revanche, les hormones sexuelles féminines présentent des effets protecteurs contre les infections [45].

4.1.2-L'âge des patients :

L'âge moyen de nos malades était de 41,7ans. La majeure partie de nos malades (21.1 %) étaient âgées de plus de 60 ans ce qui est conforme à la littérature où il a été constaté que les bactériémies surviennent le plus souvent chez les personnes âgées de 60 ans et plus [46]. Cela peut s'expliquer par la fréquence des pathologies sous-jacentes (HTA, diabète) et de l'immunodépression qui sont considérées comme des facteurs de risque de survenue de bactériémies chez cette tranche d'âge [47].

4.1.3- Le service d'hospitalisation :

Dans notre étude, 47.1% des hémocultures positives provenaient du service des maladies infectieuses, 15.8% du service de neurologie, 15.6% du service de neurochirurgie et 11.6% du service de pneumologie.

G.A. KI-ZERBO et al [41], dans une étude menée au CHNU de FANN à Dakar, ont également trouvé que la majeure partie des bactériémies provenait des services des maladies infectieuses et de neurologie mais avec des taux respectifs différents de 95.25% et 2.5%

Ces résultats sont différents de ceux qui ont été enregistrées par NGOYI et al à Brazzaville [3] qui ont trouvé que 56.14 % des bactériémies provenaient du service d'Hépato-Gastro-Entérologie, 20.17 % du service de cardiologie et 16.66 % du service des Maladies Infectieuses.

Selon Baudat, dans une étude menée en Suisse [48], les services qui ont le plus fort pourcentage de positivité des hémocultures sont ceux de médecine (56,1%), suivi des soins intensifs (19,5%), des services chirurgicaux y compris la gynécologie et l'obstétrique (16,1%) et de la pédiatrie (8,3%).

4.2-Profil bactériologique :

Le profil bactériologique des bactériémies était marqué par la prédominance des BGN (54.5%) par rapport aux CGP (45.5%).

Ce résultat est très proche des données de la littérature obtenues dans les pays africains. Ainsi, une étude tunisienne a trouvé un taux de BGN de 60% et un taux de CGP de 39,4% [2]. Une étude marocaine a également trouvé des taux très proches 59,63% % pour les bacilles Gram négatif et 39,13% % pour les cocci Gram positif [43]. Au Cameroun les BGN sont également les germes les plus retrouvés avec 76% contre 24% de CGP [49].

Par contre, dans d'autres études multicentriques réalisées en France et aux Etats unis, on a rapporté une prédominance des CGP (54% et 78.1%) [50][51].

Les différences sont évidentes avec ces pays qui se sont engagés depuis longtemps dans des programmes de surveillance et de prévention des infections nosocomiales ; les différences dans la prise en charge du risque d'infection nosocomiale et une meilleure maîtrise de l'antibiothérapie sont des éléments déterminants dans ces écarts [2].

Dans notre étude, les entérobactéries sont dominées par *K.pneumoniae* (15%), et *Enterobacter spp* (9.3%) ce qui est largement supérieur à l'étude française (3.6% pour *K.pneumoniae* et 5.1% pour *Enterobacter spp*) [50].

Dans les études camerounaises et marocaines *K.pneumoniae* était retrouvé à des taux, respectifs, largement supérieur au nôtre : 40.9% et 20.49% [49][43].

Dans l'étude multicentrique tunisienne, *K.pneumoniae* vient au 2^{ème} rang (14%), après *E. coli* (14.7%), suivie par *Enterobacter spp* (7.8%) [2].

Par ailleurs, *Acinetobacter spp* (6.3%) et *P. aeruginosa* (8.5%) sont représentés avec des taux proches de ceux des études Tunisienne [2] et Marocaine [43] qui ont trouvé des taux respectifs de 4.5% et 5.7% pour *Acinetobacter spp* et 7.6% et 9.6% pour *P.aeruginosa*.

Nos taux sont différents de ceux de l'étude française où *A. baumannii* et *P.aeruginosa* représentaient respectivement 1,7 % et 12,1 % [50].

La fréquence d'*Acinetobacter spp* et de *P. aeruginosa* est liée au caractère nosocomial fréquent des bactériémies, elle suggère une transmission manuportée et un problème de maîtrise de l'environnement hospitalier [1].

Par ailleurs, dans notre étude, les isolats de cocci Gram positif sont constitués essentiellement de SCN dont la proportion est de 20.6% de l'ensemble des isolats alors qu'ils ne représentent que 1.9%, 4.09% et 16.3% respectivement dans les études tunisienne, marocaine et française. Une étude américaine a retrouvé un taux de SCN supérieur au notre soit 42% de l'ensemble des isolats [51].

En revanche les *S.aureus* ne représentent que 17.5% dans notre étude mais 18.5%, 21% et 27.66 % dans les études tunisienne, marocaine et française.

Ces différences entre les différentes études témoignent de la difficulté d'interpréter les hémocultures positives à bactéries commensales.

L'analyse de la cinétique des isolements montre que le rapport des isolements des CGP et des BGN s'inverse progressivement en faveur des premiers.

Cette tendance épidémiologique a été constaté dans les pays industrialisés depuis les années 1980 [52][4], elle est probablement liée à l'introduction de plus en plus des techniques invasives et l'utilisation de l'imipénème et des C3G dans les habitudes thérapeutiques.

4.3-Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

4.3.1-Les bacilles à Gram négatif :

❖ Entérobactéries :

Dans notre étude, les entérobactéries étaient résistantes aux C3G dans 68.9% des cas. Ce taux est supérieur aux données de la littérature [2][43][49][51][53].

De grandes variations ont été observées selon les espèces bactériennes.

Dans notre série, le taux le plus élevé de résistance aux C3G a été observé chez *K.pneumoniae* (87.5%). Cette résistance serait liée à la production d'une BLSE (85.3% des souches de *K.pneumoniae* étaient sécrétrices de BLSE). Comparativement à d'autres études, le taux de résistance aux C3G de *K.pneumoniae* est nettement supérieur à celui observé en Tunisie, en Europe et aux Etats-Unis [2][54][55].

Une étude similaire réalisée au CHNU de FANN entre 1985 et 1987 a trouvé que les entérobactéries étaient sensibles à la ceftriaxone dans 100% des cas.

63.8% de nos entérobactéries étaient des BLSE ce qui est largement supérieur aux taux retrouvés dans les études tunisienne, camerounaise, européenne et d'Amérique du nord [51][53].

Ces résultats sont alarmants car les C3G sont considérées comme les antibiotiques les plus actifs sur les BGN et particulièrement les entérobactéries [2] d'autant plus que la résistance croisée à d'autres familles d'antibiotiques (aminosides, fluoroquinolones) est très fréquente ce qui complique la prise en charge thérapeutique [1].

Ceci pourrait s'expliquer par l'importance des infections nosocomiales associées à l'effet de pression de sélection des antibiotiques inhérent à certaines activités de soin et l'absence de mesures d'hygiène face à un porteur de bactéries multi résistantes [2].

La résistance de nos entérobactéries à la ciprofloxacine a été de 32.3%, ce taux est proche de ceux retrouvés dans les séries camerounaise et algérienne (35.8%, 28%) [49][56].

L'amikacine a été l'aminoside le plus actif avec seulement 2.6% de résistance ce qui est conforme à la littérature [49][2][56].

Les carbapénèmes étaient les plus actives sur les entérobactéries aussi bien dans notre étude que dans la littérature. La seule souche résistante à l'imipénème dans notre série était en réalité de sensibilité intermédiaire

Face à l'émergence continue et imprévisible de nouveaux mécanismes de résistance chez les entérobactéries, notamment aux carbapénèmes, le développement de nouvelles alternatives thérapeutiques serait une priorité de santé publique [37].

❖ Les bacilles non fermentaires :

Le taux de résistance des isolats de *P.aeruginosa* à l'imipénème (14.6%) était comparable à ceux observés en France (16%) [57] et aux états unis (14.3%) [58]. Cela dit des taux inférieurs ont été rapportés en Tunisie (10%), au Cameroun (9.5%) et au Maroc (11.1%) [2][49][43].

La résistance à la ceftazidime s'élevait à 26%. C Okalla et al, au cameroun, [49] et S.Mahmoudi et al en Iran [59] ont trouvé des résultats similaires avec des taux respectifs de 30.4% et 25%. Par contre ce taux était supérieur à ceux observés en France (12%), aux états unis (15.5%) et en Tunisie (15%) [57][58][2].

L'activité des fluoroquinolones sur *Pseudomonas* varie d'une étude à l'autre : dans notre étude le taux de résistance à la ciprofloxacine n'est que de 6.5 % ce qui le situe parmi les taux les plus faibles comparativement à d'autres études marocaine, tunisienne et américaine respectivement (22.2 %, 17%, 20.8 %) [43][2].

La résistance des BGN non fermentaires, particulièrement d'*Acinetobacter* spp, aux bêta-lactamines pose un problème au niveau des centres hospitaliers. En effet le taux de résistance d'*acinetobacter* spp à l'imipénème et à la ceftazidime étaient très élevés (40.6% et 75.9%). El

mouali et al [43] ont trouvé des résultats similaires au Maroc (50% et 68.7%) par contre Ben Jemaa et al, en Tunisie, ont trouvé un taux de résistance à l'imipénème de seulement 4% [2]. Cette différence est probablement lié à la prescription empirique et non contrôlée de cette molécule.

La ciprofloxacine a été inefficace sur 56.3% des *d'Acinetobacter* spp ce qui est inférieur aux résultats trouvés dans les études tunisienne et algérienne (73% et 75%) [2][56].

Parmi les aminosides, l'amikacine est la molécule la plus active que ce soit pour *Pseudomonas* ou *Acinetobacter*. Ceci est conforme aux résultats trouvés par Ben jemaa et al en Tunisie [2].

La capacité de ces 2 BGN non fermentaires à persister au niveau de l'environnement hospitalier et à cumuler des facteurs de résistance aboutissant rapidement à une impasse thérapeutique expliquent les taux de résistance constatés [1][60][61].

L'évolution prévisible vers la multi résistance indique la nécessité d'intensifier les efforts afin d'élucider les problèmes de maîtrise de ces infections et de fournir de nouvelles alternatives thérapeutiques [61].

4.3.2- Les C cocci à Gram positif :

Dans notre étude, la proportion de *S.aureus* résistants à la méticilline était de 40.4%. Ces résultats sont supérieurs à ceux observés en France (16% en 2016) et en Tunisie (17.4%) [57][2].

M Seydi et al ont retrouvé un taux de SARM supérieur au notre (57%) dans une étude rétrospective (1996 à 2002) effectué au CHNU de FANN (6) . D'autres études effectuées au Sénégal, Cameroun, états unis, Algérie ont également trouvés des taux supérieur aux nôtres [63][49][51][56].

La résistance à la méticilline chez les staphylocoques à coagulase négative (55.2%) a été supérieure à celle observée chez *Staphylococcus aureus*, ceci est conforme à la littérature [2][56][49][43][51].

Plusieurs raisons peuvent expliquer ce taux élevé de résistance : l'utilisation inappropriée d'antibiotiques, l'utilisation accrue de matériel étranger tel que les cathéters et le non-respect des règles individuelles et collectives d'hygiène [62].

Tous les staphylocoques de notre série étaient sensibles à la vancomycine, ce qui est conforme aux résultats retrouvés dans différentes études africaines [2][43][62].

Cependant, de rares cas de résistance ou de sensibilité intermédiaire ont été rapportés en Europe, aux Etats unis et en Asie (1 à 5% des SARM) [64].

CHAPITRE 5 : RECOMMANDATIONS :

Au terme de notre étude, certaines mesures sont ainsi proposées, afin de permettre un meilleur contrôle des phénomènes de résistance. Il s'agit de :

- Réduire le temps d'hospitalisation pour tout patient.
- Sensibiliser le personnel médical aux bonnes pratiques d'hygiène hospitalière (exp : le lavage systématique des mains avec du savon ou une solution hydroalcoolique, permet de diminuer le nombre d'infections nosocomiales et la transmission de SARM)
- Limiter les prescriptions probabilistes d'antibiotiques ; il faudra toujours attendre le résultat de l'antibiogramme. Si cela n'est pas possible, on prendra donc en compte que, selon notre étude, le taux de résistance des staphylocoques à la méticilline est élevé, que les entérobactéries sont résistantes aux fluoroquinolones et à la majorité des bêta-lactamines, que la ciprofloxacine est l'antibiotique le plus actif sur *P.aeruginosa* et que la colistine est l'antibiotique le plus actif sur *Acinetobacter spp.*
- Mettre en place une surveillance systématique de la résistance aux antibiotiques

CONCLUSION

Les bactériémies représentent un véritable problème de santé publique aux conséquences multiples en termes de morbidité, mortalité et cout hospitalier.

L'épidémiologie et la résistance aux antibiotiques sont très variables d'un pays à un autre et même d'un hôpital à un autre d'où l'intérêt de réaliser des études épidémiologiques locale propre à chaque institution afin d'orienter l'antibiothérapie probabiliste.

C'est dans cette optique que nous avons réalisé notre étude rétrospective, sur une période de 5 ans, portant sur les bactériémies recensées au CHNU de FANN.

Durant cette période, nous avons répertoriés 635 épisodes bactériémiques.

La majorité de nos souches provenait du service des maladies infectieuses (47.1%).

Les BGN ont représenté 54.4% des isolats avec une prédominance des entérobactéries (34.3% de l'ensemble des isolats). Nos 218 entérobactéries ont été essentiellement représentées par *K.pneumoniae* suivie d'*Enterobacter spp* et d'*E.coli*.

Les 128 BGN non fermentaires ont inclus 54 souches de *P.aeruginosa* et 40 souches d'*Acinetobacter spp*.

Les CGP ont représenté 45.5% des isolats et ont inclus essentiellement des SCN et des *S.aureus* avec des taux respectifs de 20.6% et 17.5% de l'ensemble des isolats.

Des taux de résistance inquiétants ont, également, été révélés. Les taux de résistance respectifs d'*Acinetobacter spp* à la ceftazidime et à l'imipenème ont été de 75.9% et 40.6%. Nos souches de *P.aeruginosa* ont été résistantes à la ceftazidime et à l'imipenème dans 26.2% et 14.6% des cas respectivement.

Nos entérobactéries ont été résistantes à la cefotaxime dans 68.9% des cas.

Une production de BLSE a été constatée chez 149 souches dont 81 *K.pneumoniae*, 38 *Enterobacter spp* et 22 *E.coli*.

Une seule entérobactérie était résistante aux carbapénèmes .

Les résistances à la méticilline de *S.aureus* et des SCN ont été de 40.4% et 55.2% respectivement. 6.3% de nos staphylocoques étaient résistants à la vancomycine.

Nos résultats reflètent la nécessité du recours à des données épidémiologique précises et régulières afin de guider l'antibiothérapie probabiliste à l'hôpital.

REFERENCES

1. **Elouennass M, Sahnoun I, Zrara A et al.** Épidémiologie Et Profil De Sensibilité Des Isolats D'Hémoculture Dans Un Service De Réanimation (2002-2005). *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2008;38(1):18–24.
2. **Ben Jemaa Z, Mahjoubi F, Ben Haj H'mida Y et al.** Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax (1993-1998). *Pathol Biol*. 2004;52(2):82–8.
3. **Ontsira Ngoyi NE, Otiobanda GF, Mahoungou GKC et al.** Apport of blood cultures in the diagnosis of bacteremia in the teaching hospital of Brazzaville. *SARANF*. 2014;19
4. **Élouennass M, Foissaud V, Trueba F et al.** Étude Sur Sept Ans Des Isolats D'Hémocultures Dans Un Service D'Hématologie Clinique. *Med Mal Infect*. 2004;34(2):62–9.
5. **Thomin J.** Comparaison de quatre protocoles d'identification bactérienne par spectrométrie de masse directement à partir d'hémocultures positives. Thèse Pharma, Nantes, France 2015 ; N°11.
6. **F Garnier, JL Mainardi.** bactériémies et endocardite. *EMC-Maladies infectieuses*. 2012;6(1) :81-90
7. **Thirion M, Dhainaut J-F, Cariou A.** Définitions des états infectieux. *EMC - Anesthésie-Réanimation*. 2010;7(3):1–12.
8. **Eron JJ, Gay C.** Septicémie. Médecine interne de Netter . 2011;90 :702–8.
9. **Diop R.** Sepsis, sepsis sévère et choc septique. Thèse de Médecine, Dakar 2004 ; N° 54.
10. **Berrezzouk M.** Hémoculture : profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques à propos de 539 prélèvements collectés au laboratoire de l'hôpital Cheikh Zaiad à Rabat. Thèse Pharmacie. Rabat, Maroc 2008 ;N°14.
11. **Koné S.M.** Bilan de sept ans d'hémoculture en milieu hospitalier pédiatrique de Bamako. Thèse de médecine. Bamako 2010
12. **Velasco M, Martínez JA, Moreno-Martínez A et al.** Blood cultures for women with uncomplicated acute pyelonephritis: are they necessary?.*Clinical infectious diseases* . 2003 ;37:1127–1130.
13. **Pascal F, Marielle ML.** Mécanismes physiopathologiques des bactériémies - microbiologiemedicale. In : <http://microbiologiemedicale.fr>
14. **Bertholom C.** Bactériémie : données épidémiologiques et moyens diagnostiques. *OptionBio*. 2016; 27 :13-14
15. **Makki A.** Septicémie et choc septique. Mémoire science de laboratoire. Liban 2007.
16. **Lehot J Ricaud X.** Maladies infectieuses dermatologie. 2^{ème} édition . Pradel. France; 2012 :97.

17. **Ansart S, Garré M.** Fièvre typhoïde. *EMC-Maladies infectieuses*. 2008;5(1):1–6.
18. **González Navarro B, Jané Salas E, Estrugo Devesa et al.** Bacteremia Associated With Oral Surgery : A Review. *J Evid Based Dent Pract*. 2017;17(3):190–204.
19. **Espinasse F, Page B, Cottard-Boule B.** Risques infectieux associes aux dispositifs medicaux invasifs. *Rev Francoph des Lab*. 2010;2010(426):51–63.
20. **Kari AS, Ann L, Shirley FD et al.** Early-onset neonatal sepsis. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(1):21–47.
;
21. **Riedel S, Carroll KC.** Blood cultures : key elements for best practices and future directions. *J Infect Chemother*. 2010 ;16 (5) :301–16.
22. **Koeck J-L, Trueba F, Chakour M.** Les hémocultures en 2001. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2001;2001(335) :43–47.
23. **Score B.** Hémoculture. :83–94.
24. **Avril JL, Donnio PY, Perrin M et al.** L'hemoculture: Un examen en apparence simple. *Med Mal Infect*. 1999;29(2):77–86.
25. **Mermel LA, Maki DG.** Detection of bacteremia in adults: Consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Annals of Internal Medicine*. 1993;119: 270–2.
26. **Campos J.** Detection of Bloodstream Infections in Children. *Eur. J. Clin. Microbiol.Infect. Dis.* 1989 ;8(9) : 815–24.
27. **Rodriguez F, Lorian V.** Antibacterial Activity in Blood Cultures. *Journal of Clinical Microbiology*. 1985;21(2): 262–3.
28. **Palarasah Y, Skjoedt MO, Vitved L et al.** Sodium polyanethole sulfonate as an inhibitor of activation of complement function in blood culture systems. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010;48(3):908–14.
29. **Petti CA, Bhally HS, Weinstein MP et al.** Utility of extended blood culture incubation for isolation of Haemophilus, Actinobacillus, Cardiobacterium, Eikenella, and Kingella organisms: A retrospective multicenter evaluation. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006;44(1): 257–259.
30. **Baron EJ, Scott JD, Tompkins LS.** Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures . *Clin.Infect.Dis.* 2005;4(11): 1677–1680.
31. **Kirn TJ, Weinstein MP.** Update on blood cultures: How to obtain, process, report, and interpret. *Clinical Microbiology and Infection*. 2013;19(6):513–520.
32. **Hansen GT.** Laboratory Blood Cultures: Past, Present, and Future. *Clin Microbiol News* . 2016;38(15):119–128.

33. **Abdellatif M.** les bactériémies en pédiatrie : à propos de 251 cas. Thèse Pharma.Monastir, Tunisie 2012.
34. **Muller SC, Bergogne BE.** Actualités sur l'hémoculture. *La presse médicale*. 2002;31(1):27–32.
35. **Philippon A.** Principes des automates de culture, d'identification et d'antibiogramme. *EMC-biologie médicale*. 2006 ;12(2) :1-10.
36. **Persing D H, Smith T F, Tenover F C et al.** Diagnostic molecular microbiology: principles and applications. Washington, D.C: American Society for Microbiology; 1993:122–137.
37. **Ons H.** Profil épidémiologique et sensibilité aux antibiotiques des isolats d'hemoculture dans les unités de soins intensifs au CHU de Monastir. Thèse Pharma.Monastir,Tunisie 2014.
38. **Fraperie P, Marielle ML.** diagnostic au laboratoire des bactériémies. microbiologie médicale. In : <http://microbiologiemedicale.fr>
39. **Dame G, Fatou BS.** Protocole Opératoire : pratique de l'hémoculture. Laboratoire de Bactériologie Virologie du CHNU de FANN.2015 :1-6
40. **Comité de l'Antibiogramme de la Société française de microbiologie.** In : <http://www.sfm.asso.fr>
41. **Ki-Zerbo GA, Thioub B, Diop BM et al.** Étude Des Hémocultures Positives Au CHU De Fann Dakar : Bilan De Trois Années Du Laboratoire De Bactériologie. *Médecine d'Afrique Noire*. 1996;43(6):322-329.
42. **Lankoande H.** Aspects épidémiologiques, Diagnostiques, Thérapeutiques et Pronostiques des septicémies au C.H.N.S.S de Bobo-Dioulasso à propos de 522 cas.Thèse de médecine. Ouagadougou, Burkina Faso 2002 ;N°:2
43. **Elmouali A.** Hémoculture : profil bactériologique et antibiorésistance à l'hôpital Ibn Sina de Rabat. Thèse Pharmacie.Rabat,Maroc 2012 ;N°:64
44. **Basma MC.**Hémocultures positives : résultats de l'étude multicentrique prospective. Société Tunisienne de pathologies infectieuses 2017.
45. **Angele MK, Pratschke S, Hubbard WJ et al.** Gender differences in sepsis . *Virulence*. 2014 ;5(1) :12–9.
46. **Omezzine Letaief A , Battikhr R , Bahri F et al.** Aspects épidémiologiques et évolutifs des bactériémies dans un service de médecine interne : à propos de 148 cas. 1997;27(8–9):778–781.
47. **Yahav D, Eliakim-Raz N, Leibovici L et al.** Bloodstream infections in older patients . *Virulence*. 2016 ;7(3) :341-352.

- 48.** **Baudat V.** Hémocultures positives à l'Hôpital Cantonal de Fribourg ,1997-1998 : signification clinique,microbiologie,épidémiologie,traitement et pronostic. Thèse de médecine. Lausanne 2002 ; N°:10248
- 49.** **Ebongue C Okalla. JP Nda Mefo'o, E Ngouadjeu Dongho et al.** Bacteriological profile and antimicrobial susceptibility of blood culture isolates (2006 – 2011) in Douala, Cameroon. *Rev Malienne d'Infectiologie Microbiol.* 2014;13(2):27–39.
- 50.** **Réseau microbiologie du C.CLIN Paris Nord et groupe des Microbiologistes d'Ile-de-France.** Surveillance des bactériémies nosocomiales à partir du laboratoire dans les hôpitaux de l'interrégion Paris Nord en 1994 et 1996. BEH 2000 ;18.
- 51.** **Karlowsky JA, Jones ME, Draghi DC et al.** Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann Clin Microbiol Antimicro* 2004;3:1–8.
- 52.** **Pittet D, woolson RF, Wenzel RP.** Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial bloodstream infections: a 6-year validated, population-based model. *Clin Infect Dis.* 1997;24(6):1068-1078.
- 53.** **Bertrand X, Costa Y, Pina P.** Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies: Données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998-2003. *Med Mal Infect.* 2005;35(6):329–34.
- 54.** **Fluit AC, Jones ME, Schmitz F-J et al.** Antimicrobial Susceptibility and Frequency of Occurrence of Clinical Blood Isolates in Europe from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 and 1998. *Clinical Infectious Diseases.* 2000;30: 454–460.
- 55.** **Pfaller MA, Jones RN, Beach M.** Survey of Bloodstream Infections Due to Gram-Negative Bacilli: Frequency of Occurrence and Antimicrobial Susceptibility of Isolates Collected in the United States, Canada, and Latin America for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997. *Clinical Infectious Diseases.* 1999;29:595–607.
- 56.** **Derabli B.** Profil épidémiologique des septicémies nosocomiales au CHUC et à l ' HMC 2014-2016. Mémoire de Master en Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine,2016.
- 57.** **European Antimicrobial Resistance Surveillance Network.** Synthèse 2012-2016. Invs.santepubliquefrance.fr. 2016
- 58.** **Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM et al.** Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clinical Infectious Diseases.* 2004;39 :309–317.
- 59.** **Mahmoudi S, Mahzari M, Banar M, et al.** Antimicrobial resistance patterns of Gram-negative bacteria isolated from bloodstream infections in an Iranian referral paediatric hospital: A 5.5-year study. *J Glob Antimicrob Resist.* 2017;11:17–22.

60. **Soraa N, Zougaghi L, Zahlane K et al.** Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un Centre Hospitalo Universitaire Marocain. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*. 2011;5(2):78 - 81.
61. **Weinstein RA, Gaynes R, Edwards JR.** Overview of Nosocomial Infections Caused by Gram-Negative Bacilli. *Clinical Infectious Diseases*. 2005;41: 848–54.
62. **Seydi M, Sow AI, Soumaré M, et al.** Place des bactériémies à *Staphylococcus aureus* au CHU de Fann à Dakar. *Med Mal Infect*. 2004;34(5):210–15.
63. **Sow AI, A Wade, MA Faye Niang et al.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Dakar. *Medecine Tropicale*. 1998;58: 155–157.
64. **Forestier E, Rémy V, Mohseni-Zadeh et al.** Bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : aspects épidémiologiques et thérapeutiques récents. *Rev Med Interne*. 2007;28(11):746–755.

Annexe 1 :

Sensibilité des souches isolées d'hémoculture (2012-2016)					
Année	Mois	Num Enreg	Statut	Service	
Prénom	Nom		Age	Sexe	
Diagnostic	Techniques	Famille	Bactérie		
AMX	AMC	PIP	TIC	CEF	
FOX	CTX	CRO	FEP	AZT	
IMP	CAZ	NET	GMN	TOB	
KMN	AK	CS	NA	CIP	
LEV	PEF	NOR	CHL	SXT	
Péni G	Oxa	Erythro	Linco	PT	
TET	Van	FOS	A Fus	NI	
PIP TAZ	CEFOP	Tic Clay			
Phénotypes					

Résumé

Introduction: l'émergence des bactéries résistantes aux antibiotiques, responsables de septicémies en milieu hospitalier, pose un problème de santé publique. Notre objectif est de déterminer le profil épidémiologique et la sensibilité aux antibiotiques de ces bactéries au CHNU de FANN.

Matériel et méthodes : étude rétrospective sur 5 ans (2012-2016), portant sur les souches isolées dans le laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHNU de FANN à Dakar, à partir des hémocultures positives. L'identification bactérienne a été établie selon les méthodes conventionnelles. La détermination de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Résultats : Durant cette période nous avons répertorié 635 hémocultures positives dont la majorité provenait des services de maladies infectieuses (47.1%), de neurologie (15.8%) et de neurochirurgie (15.6%).

Les bacilles à Gram négatif (BGN) ont été majoritaires avec 54.5% des isolats avec une prédominance des entérobactéries (34.3%). Nos 218 entérobactéries ont été essentiellement représentées par *klebsiella pneumoniae* (95 isolats) et *Enterobacter spp* (59 isolats). Les cocci à Gram positif ont représenté 45.5% des isolats avec une prédominance des staphylocoques (242 isolats).

Le taux de résistance des entérobactéries aux C3G s'est élevé à 68.9%.

Les isolats du *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter spp* ont présenté respectivement une résistance de 14.6 % et 40.6% à l'imipénème et 26,2 % et 75.9 % à la ceftazidime.

La résistance à la méticilline a été de 40.4% chez *S.aureus* et 55.2% chez les staphylocoques à coagulase négative.

Conclusion : Face à ces taux importants de résistance décelés dans notre étude, il est important de promouvoir l'usage rationnel des antibiotiques et le respect des règles d'hygiène.