

## SOMMAIRE

Introduction .....	1
Première partie : Rappels bibliographiques .....	4
1. Définition.....	5
2. Histoire de l'hémoculture.....	6
3. Indications de l'hémoculture .....	7
4. Milieux de culture .....	8
5. Matériel d'hémoculture.....	9
5.1 Ballons d'hémoculture classiques.....	9
5.2 Automates d'hémoculture.....	10
6. Méthodes d'hémoculture.....	11
6.1 Recueil de l'échantillon.....	10
6.2 Démarche au laboratoire.....	17
7. Eléments de thérapeutique.....	25
Deuxième partie : Travail personnel .....	26
1. Cadre et période de l'étude.....	27
1.1. Cadre de l'étude.....	27
1.2. Période de l'étude.....	28
2. Matériel et méthodes d'étude.....	28
2.1. Matériel de l'étude.....	28
2.2. Méthodologie.....	29
3. Résultats de l'étude.....	32
3.1. Données globales.....	32
3.2. Bactéries isolées.....	36
3.3. Données de l'antibiogramme des bactéries testées.....	42
4. Discussion.....	46
4.1. Données globales.....	46
4.2. Bactéries isolées.....	51
4.3. Profil de sensibilité des bactéries aux antibiotiques.....	53
CONCLUSION:.....	55
RECOMMANDATIONS .....	57
BIBLIOGRAPHIE .....	60

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I:</b> Interprétation de la positivité des hémocultures.....	<b>24</b>
<b>Tableau II :</b> Antibiotiques couramment testés à l'HEAR.....	<b>31</b>
<b>Tableau III :</b> Répartition des hémocultures pratiquées à l'HEAR de Dakar en 2012 selon les tranches d'âge.....	<b>32</b>
<b>Tableau IV :</b> Répartition des hémocultures pratiquées à l'HEAR de Dakar en 2012 selon le Service d'hospitalisation.....	<b>33</b>
<b>Tableau V :</b> Indications des hémocultures pratiquées en 2012 à l'HEAR de Dakar chez les enfants âgés de 0 à 59 mois.....	<b>34</b>
<b>Tableau VI :</b> Indications des hémocultures pratiquées à l'HEAR de Dakar en 2012 selon les tranches d'âge.....	<b>35</b>
<b>Tableau VII :</b> Bacilles à Gram (-) isolés lors d'hémoculture à l'HEAR de Dakar en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 59 mois.....	<b>37</b>
<b>Tableau VIII :</b> Cocci isolés lors d'hémoculture à l'HEAR de Dakar en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 59 mois.....	<b>38</b>
<b>Tableau IX :</b> Répartition des bactéries isolées lors d'hémoculture à l'HEAR de Dakar en 2012 en fonction du diagnostic clinique.....	<b>39</b>
<b>Tableau X :</b> Répartition des bactéries isolées lors d'hémoculture à l'HEAR de Dakar en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 59 mois.....	<b>40</b>
<b>Tableau XI :</b> Répartition des bactéries isolées lors d'hémocultures à l'HEAR de Dakar en 2012 selon le service d'hospitalisation.....	<b>41</b>
<b>Tableau XII:</b> Profil de sensibilité aux antibiotiques des principales bactéries isolées lors d'hémoculture chez les enfants âgés de 0 à 59 mois à l'HEAR de Dakar en 2012.....	<b>43</b>

## LISTE DES FIGURES :

<b>Figure 1:</b> Répartition mensuelle des hémocultures pratiquées à l'HEAR de Dakar en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 5 mois.....	<b>35</b>
<b>Figure 2:</b> Résultats des hémocultures pratiquées à l'HEAR de Dakar en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 5 mois.....	<b>36</b>
<b>Figue 3 :</b> Répartition mensuelle des bactéries isolées lors d'hémoculture à l'HEAR de Dakar en 2012 chez des enfants âgés de 0 à 59 mois.....	<b>42</b>
<b>Figure 4:</b> Profil de résistance (%) des souches d'Enterobacter cloacae isolées lors d'hémocultures chez les enfants âgés de 0 à 59 mois à l'HEAR de Dakar en 2012.....	<b>44</b>
<b>Figure 5:</b> Profil de résistance (%) des souches de Klebsiella pneumoniae isolées lors d'hémocultures chez les enfants âgés de 0 à 59 mois à l'HEAR de Dakar en 2012.....	<b>44</b>
<b>Figure 6:</b> Profil de résistance (%) des souches d'Escherichia coli isolées lors d'hémocultures chez les enfants âgés de 0 à 59 mois à l'HEAR de Dakar en 2012.....	<b>45</b>
<b>Figure 7:</b> Profil de résistance (%) des souches de BGNNF isolées lors d'hémocultures chez les enfants âgés de 0 à 59 mois à l'HEAR de Dakar en 2012.....	<b>45</b>

# INTRODUCTION

Les maladies infectieuses représentent le volet dominant de la pathologie en zone tropicale. Leur morbidité et leur mortalité sont élevées en Afrique, particulièrement chez les enfants [1]. Lors de ces infections, les microorganismes peuvent passer dans le sang et occasionner ainsi des bactériémies et/ou des septicémies. Cependant, ces microorganismes sont peu abondants dans le sang pour être vus directement au microscope même en cas de septicémies sévères. L'hémoculture est alors nécessaire afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de bactéries ou champignons dans le sang et d'orienter le traitement de ces états de septicémie ou de bactériémie [2]. Sa réalisation nécessite une collaboration étroite entre le clinicien et le biologiste

La culture du sang ne constitue pas une « urgence » pour le Laboratoire de Bactériologie car elle implique un délai de réponse. La technique conventionnelle, bien qu'ayant un délai de réponse long (3 à 4 jours), est toujours d'actualité dans nos laboratoires en Afrique au Sud du Sahara. Afin de pallier à cet impondérable, des techniques nouvelles de culture rapide ont été mises au point (Radiométrie, Micro colorimétrie, Centrifugation-lyse) ; elles détectent très tôt la croissance bactérienne dans les milieux de culture. Parallèlement, des techniques indirectes (Test d'agglutination au latex, test Immunoenzymatique, Contre-Immuno-Electrophorèse ...) ont été proposées afin de mettre en évidence la présence d'antigènes bactériens dans le sang.

Au Sénégal, peu de laboratoires publics peuvent mettre à la disposition des cliniciens plus d'un ballon d'hémoculture par malade ; or, idéalement, il en faut par 24heures 3 paires (ballon aérobie + ballon anaérobie) afin de rendre l'hémoculture plus performante et de faciliter l'interprétation des résultats positifs.

Nous avons décidé de faire le bilan des hémocultures réalisées de 1<sup>er</sup> janvier au 31 décembre 2012 l'Hôpital d'Enfants Albert Royer (HEAR) de Dakar en se fixant les objectifs suivants :

- Objectif général : la surveillance, par hémoculture, des pathologies infectieuses invasives chez les enfants de moins de 5ans hospitalisés à l'HEAR.
- Objectifs spécifiques :
  - Déterminer la place de la population d'étude chez les patients ayant bénéficié d'une hémoculture en 2012 à l'HEAR.
  - Etudier la répartition des bactéries en fonction de l'âge
  - Etudier la répartition des bactéries en fonction l'indication clinique
  - Etudier la répartition des bactéries en fonction du service d'hospitalisation
  - Classer et préciser le profil de sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Afin d'atteindre ces objectifs nous avons réalisé cette étude en deux parties :

- Une première partie consacrée aux rappels bibliographiques sur l'hémoculture et les bactéries impliquées ;
- Une seconde partie portant sur l'étude ; l'exploitation des données collectées (résultats et commentaires) lors des hémocultures réalisées durant la période de l'étude.



# **Première partie :**

## **Rappels**

## **bibliographiques**

# 1. Définitions

## 1.1. Hémoculture

L'hémoculture est une technique de laboratoire qui a pour but de mettre en évidence la présence ou l'absence de bactéries ou champignons dans le sang. C'est une technique essentielle en pathologie infectieuse; car elle permet non seulement d'isoler et d'identifier le micro-organisme incriminé mais aussi d'orienter le traitement. L'hémoculture constitue ainsi une indication en cas de suspicion de bactériémie ou de fongémie. [2]

## 1.2. Bactériémie

La bactériémie correspond au passage transitoire ou permanent, à partir d'un foyer infectieux, de bactéries viables dans la circulation sanguine. Elle est confirmée par une hémoculture positive. [2]

## 1.3. SRIS [1]

Le SRIS correspond au syndrome de réponse inflammatoire systémique et regroupe les signes suivants :

- Température rectale  $> 38^{\circ}\text{C}$  ou  $< 36^{\circ}\text{C}$
- Tachycardie  $> 90 \text{ BPM}$
- Polypnée  $> 20 \text{ cycles/mn}$  ou  $\text{PaCO}_2 < 32 \text{ mmHg}$
- Leucocytose  $> 12\ 000 / \text{mm}^3$  ou  $< 4\ 000 / \text{mm}^3$  ou  $> 10\%$  de formes immatures.

## 1.3. Sepsis

Le sepsis est une maladie systémique causée soit par la multiplication de micro-organismes dans le courant circulatoire soit par les toxines et les médiateurs

libérés en réponse à l'agression infectieuse. On parle de sepsis en cas de SIRS en relation avec un foyer infectieux prouvé ou probable.

### **1.3. Sepsis grave et choc septique [1]**

On parle de sepsis grave lorsque le sepsis s'accompagnant de signes d'hypoperfusion, de dysfonction d'organes ou d'une hypotension.

Le choc septique correspond à un sepsis grave s'accompagnant d'une hypotension réfractaire au remplissage vasculaire (hypotension définie par une pression artérielle systolique inférieure à 90 mmHg ou par une diminution supérieure à 40 mmHg du chiffre habituel).

Le choc septique représente l'évolution ultime d'un sepsis non traité.

### **2. Historique de l'hémoculture [3]**

Imaginée par Talamon, l'hémoculture a été mise au point par Ettlinger, Strauss et Petruschky en 1900 lors de l'exploration des fièvres typhoïdes ; Widal et Lemierre la pratiquèrent en 1902.

De 1900 à 1940, les bactériologistes utilisaient des milieux de culture préparés artisanalement dont la valeur était inégale. En 1919, Rosenow a formulé un excellent milieu pour la culture des streptocoques en ajoutant des fragments de tissu cérébral à du bouillon glucosé. Le bouillon cœur-cervelle en est dérivé : il reprend la formule originale de Rosenow dans son principe et sa richesse en éléments nutritifs permet aux bactéries exigeantes d'atteindre rapidement la phase stationnaire de croissance.

A partir de 1940, les milieux préparés industriellement, de composition définie, supplémentés pour permettre l'isolement des bactéries à croissance difficile, ont été commercialisés. Von Haebler et Miles ajoutèrent en 1938 un anticoagulant

(Sodium Polyanethol Sulfonate : SPS) aux milieux d'hémoculture ; c'est un inhibiteur de l'activité bactéricide du sang.

Après le développement des milieux de composition définie et supplémentés, la lecture visuelle des résultats demeure une insuffisance des méthodes manuelles d'hémoculture. L'automatisation des méthodes a permis alors d'optimiser le travail des laboratoires et d'améliorer les soins dispensés aux patients grâce à une surveillance continue et une obtention plus rapide des résultats.

De nos jours, les méthodes rapides de détection bactérienne lors de la culture du sang sont de plus en plus utilisées ; il s'agit de la radiométrie, la microcalorimétrie, la centrifugation-lyse, les tests immunoenzymatiques et la chromatographie.

### **3. Indications de l'hémoculture [4]**

En milieu hospitalier, elles sont nombreuses. Un syndrome infectieux ou toute fièvre non expliquée, particulièrement chez un malade cardiaque ou un sujet immunodéprimé, doit faire rechercher un état septicémique, que le syndrome clinique soit évocateur ou que la fièvre soit isolée. Les accès hypothermiques des septicémies à bactilles à Gram négatif témoignent d'un état infectieux sévère et constituent aussi une indication.

Une hémoculture est préconisée aussi devant une fièvre survenant après un acte chirurgical ou une exploration instrumentale, une perfusion mise en place depuis quelques jours, un déficit immunitaire, une toxicomanie, une altération de l'état général ou une valvulopathie.

Certaines infections localisées sévères mais facilement invasives orientent également vers la réalisation d'une hémoculture : méningite, endocardite, pneumonie, pyélonéphrite, abcès intra abdominal.

Par ailleurs, l'hémoculture peut servir au diagnostic différentiel des autres syndromes infectieux d'origine non bactérienne : accès palustre, infection virale, hyperthermie chez le patient cancéreux.

## 4. Milieux d'hémoculture [4, 5]

Les milieux destinés à l'hémoculture doivent contenir les aliments nécessaires à la croissance d'un éventail de bactéries aussi large que possible ; cette croissance doit être par ailleurs rapidement détectable.

Ces milieux sont constitués soit uniquement de bouillon (milieux monophasiques), soit d'une association de bouillon et de gélose (milieux diphasiques). Selon l'atmosphère contenue dans le ballon d'hémoculture, on distingue les ballons d'hémoculture aérobie et les ballons d'hémoculture anaérobie. Différents milieux sont disponibles dans le commerce :

### ❖ Milieux pour culture aérobie

- Bouillon cœur-cervelle : BCC
- Bouillon trypticase soja : BTS ;
- Milieu diphasique : gélose Columbia + BCC ou BTS

### ❖ Milieux pour culture anaérobie

- Bouillons de Schaedler
- Bouillon thioglycolate
- Milieu diphasique : gélose Columbia + BCC ou BTS

Au Sénégal, le bouillon cœur-cervelle dont la composition est la suivante en gramme par litre (g/L), est le plus utilisé par les bactériologistes.

- Infusion de cervelle de veau ..... 12, 5
- Infusion de cœur de bœuf ..... 5,0
- Protéose-peptone ..... 10,0
- Dextrose ..... 2,0
- Chlorure de sodium ..... 5,0
- Sodium di phosphate ..... 2,5
- Acide p-aminobenzoïque ..... 0,05
- Polyanéthol sulfonate de sodium ..... 0,3
- pH final de  $7,4 \pm 0,2$

## **5. Matériel d'hémoculture [4, 5, 6, 7]**

Ce matériel peut être divisé en matériel utilisé pour l'hémoculture classique et en appareils dits automates.

### **5.1. Ballons d'hémoculture**

Le ballon en verre avec capuchon plastique est le récipient utilisé pour contenir les milieux de culture (bouillons, milieux diphasiques) employés lors de l'hémoculture classique.

Sa forme, son volume et l'atmosphère d'incubation qui y est contenue varient selon les fabricants et les types de bactéries que l'on veut faire croître.

## 5.2 Automates d'hémoculture

Les automates détectent de manière précoce la croissance bactérienne dans les flacons utilisés lors de l'hémoculture. Ils ont subi une évolution rapide et sont classés en semi-automates et en automates complets selon le degré d'intervention du biologiste dans leur fonctionnement. Voici quelques modèles d'appareil actuellement disponibles sur le marché :

### ❖ Automates complets

- Bio-Argos; Bio-Rad (1989)
- Bact/Alert ; Organon-Teknika (1989)
- Bactec 9240 ; Becton Dickinson (1993)
- Vital ; Bio Mérieux (1993)

### ❖ Semi-automate : Bactec NR-660 de Becton Dickinson

Tous ont en commun d'assurer la détection automatique du gaz carbonique ( $\text{CO}_2$ ) produit au cours de la croissance bactérienne, de posséder des systèmes de lecture par passage automatique des plateaux et une lecture en continu (cela évite le recours à toute méthode invasive et donc tout risque de contamination) et d'assurer un gain de temps notable. Le progrès des techniques permet, depuis longtemps, la mise sur le marché d'automates de plus en plus puissants mais dont le fonctionnement est aussi de plus en plus fermé, c'est-à-dire qu'il autorise de moins en moins l'intervention critique du biologiste.

La fiabilité de ces appareils a été reconnue et leur apport dans le diagnostic microbiologique d'infections sévères est indiscutable. On peut les appliquer aux hémocultures quantitatives dans les services de réanimation.

Des limites existent ; elles sont liées aux coûts de ces matériels ainsi qu'à la non-identification de la bactérie impliquée. Les avancées de la biologie moléculaire ouvrent cependant des perspectives pour combler cette lacune. Les nouvelles méthodes d'hémoculture ont largement contribué à une meilleure définition et à une bonne approche pathogénique des septicémies constatées lors des situations infectieuses nouvelles.

Il existe des contraintes d'implantation des automates tel que le poids et l'encombrement, la nécessité d'une climatisation en cas de local exigu car ces appareils sont principalement des étuves à +37°C qui dégagent de la chaleur.

## 6. Méthodes d'hémoculture

Il faut rappeler que l'hémoculture correspond à l'ensemencement du sang recueilli dans un ou plusieurs ballons selon que l'on recherche des bactéries aérobies ou anaérobies ou des champignons.

### 6.1. Recueil de l'échantillon de sang

La réalisation d'une hémoculture nécessite certaines conditions qu'il faut remplir afin de disposer de résultats interprétables et fiables.

#### 6.1.1. Quand pratiquer l'hémoculture

On pratiquera l'hémoculture le plus tôt possible, idéalement à la phase de début de la maladie, avant qu'une réponse immunitaire efficace ne s'installe.

Chez les patients présentant une hyperthermie, on recueillera le sang à l'acmé de la fièvre si celle-ci est ondulante et à tout moment si la fièvre est en plateau.

Dans les cas d'hypothermie, on prélèvera à tout moment [4, 5, 6].

Il faut prélever le sang avant toute antibiothérapie ; dans le cas contraire, on pratiquera une fenêtre thérapeutique de 72 heures car l'antibiothérapie réduit la proportion d'hémocultures positives de 50 à 5 % [8]

### **6.1.2. Matériel d'hémoculture [9]**

Le matériel nécessaire comporte 3 lots : matériel pour l'antisepsie, matériel pour la ponction veineuse et les milieux de culture du sang.

#### **❖ Matériel pour l'asepsie**

Lors du prélèvement de sang, le malade est exposé à un risque infectieux qu'il faut réduire au maximum en pratiquant une asepsie rigoureuse de la zone de ponction veineuse. Ainsi, le clinicien doit disposer de :

- Gants stériles imperméables aux liquides ; les changer d'un patient à l'autre ;
- Antiseptique (alcool iodé) et désinfectant ;
- Tampons de coton hydrophile et de compresses stériles ;
- Pansement adhésif

#### **❖ Matériel pour la ponction veineuse**

- Seringues de 5 et 10 ml, stériles, à usage unique ;
- Cathéters veineux avec aiguille aux extrémités
- Garrot ;

#### **❖ Milieux pour hémoculture**

- Milieux pour culture aérobie
  - Bouillon cœur-cervelle
  - Bouillon trypticase soja
  - Milieux diphasiques: gélose + bouillon

- Milieux pour culture anaérobie
  - Bouillon de Schaedler
  - Bouillon thioglycolate
  - Bouillon de Rosenow
  - Milieux diphasiques: gélose + bouillon

Ces milieux sont présentés dans des ballons ou flacons de forme et de contenance variables selon les fabricants. Les capuchons sont habituellement de couleur verte pour la culture aérobie et rouge pour la culture anaérobie.

### **6.1.3. Technique de recueil du sang [9]**

Il faut vérifier l'identité du patient, la concordance de l'identité du patient et de l'ordonnance. Rassurer le patient, lui expliquer le but du prélèvement, que le prélèvement se fera trois fois de suite.

On note sur l'ordonnance l'heure du prélèvement, un éventuel traitement antibiotique. On prépare alors le matériel puis on se lave les mains.

#### **6.1.3.1 Choix du site de ponction**

Le clinicien choisira la veine la plus accessible et la plus facile à piquer. A défaut, il se contentera d'autres sites de prélèvement comme les dispositifs intra vasculaires en sachant que cela augmente de façon significative la fréquence des contaminations. La plupart des auteurs ne recommande pas le prélèvement à partir des cathéters veineux *in situ*.

Chez l'adulte, le sang est recueilli au niveau d'une veine superficielle, habituellement au pli du coude. En pédiatrie, le site varie malgré les risques de contamination : veine du cordon ombilical (nouveau-né), veine située au niveau de la fontanelle, autres veines superficielles du crâne.

### **6.1.3.2. Technique de prélèvement**

Le clinicien porte des gants, désinfecte la surface des ballons d'hémoculture puis les identifie : nom, prénoms, âge et sexe du patient. Les autres données comme l'heure et la date, le Service seront portées sur le bulletin d'analyse. Les différentes étapes à suivre sont :

#### **❖ Installation du malade**

Il faut l'assoir sur une chaise prévue à cet effet ou le coucher sur le lit d'hospitalisation ou une table de prélèvement. Ensuite on pose un garrot si nécessaire puis on repère la veine la plus visible ou la mieux palpable.

#### **❖ Asepsie du site de ponction**

On badigeonne le site de ponction avec de l'alcool à 70° puis avec une solution iodée tout en débordant largement. Il faut laisser sécher l'antiseptique ; il ne faut plus palper à nouveau la zone de ponction après l'antisepsie.

#### **❖ Ponction veineuse**

Elle nécessite une certaine technicité et des notions d'anatomie. Un paramètre important à retenir est le volume de sang à prélever ; il faut donc choisir le matériel de recueil en conséquence.

##### **○ Technique proprement dite**

Si on utilise une seringue, on pique la veine avec le biseau de l'aiguille dirigé vers le haut et on recueille la quantité de sang nécessaire selon l'âge du patient et le nombre de ballons à ensemencer.

En cas d'utilisation de cathéter ayant une aiguille à chaque extrémité, après avoir piqué la veine, on laisse le sang s'écouler puis avec l'autre aiguille on

transperce le capuchon du ballon d'hémoculture ; ainsi, la veine communique directement avec le ballon.

Après la prise de sang, on réalise un pansement adhésif sur le site de ponction.

- **Volume de sang à prélever**

Ce paramètre est fondamental car la concentration des bactéries dans le sang au cours d'une bactériémie est extrêmement basse et fréquemment inférieure à 1 UFC/ ml (UFC : Unité Formant Colonie) chez l'adulte. Augmenter le volume prélevé permettrait d'obtenir une meilleure sensibilité, donc un meilleur rendement de la technique [4].

Chez l'adulte, il est recommandé d'ensemencer 10 ml de sang (maximum 20 ml) par flacon de 100 ml de bouillon.

Quant à l'enfant (nourrisson et grand enfant), le volume optimal est difficile à déterminer du fait des éléments physiopathologiques spécifiques. La concentration bactérienne dans le sang étant plus élevée que chez l'adulte, il est recommandé d'adapter le volume de sang mis en culture en fonction du poids de l'enfant. De façon consensuelle, ce volume sera de 5ml à diluer dans 50 ml de bouillon de culture. Pour réaliser une hémoculture chez le nouveau-né, on peut se contenter de 1 à 2 ml de sang [2].

- **Dilution du sang dans le bouillon d'hémoculture**

Le sang des malades contient de nombreuses substances à activité antibactérienne : complément, lysozyme, cellules phagocytaires et antibiotiques dans environ un tiers des cas. La dilution du sang dans le bouillon atténue l'effet de ces substances. La dilution au 1/10 est celle qui donne le meilleur résultat. Cependant une dilution inférieure, jusqu'à 1/5, est encore possible. Quant à une

dilution supérieure à 1/10, elle est sans inconvénients sinon de réduire la quantité de sang inoculé. Au total, plus grand est le volume de bouillon dans le flacon, meilleur est l'effet de dilution. Utiliser des flacons contenant un plus petit volume de bouillon pour les hémocultures de pédiatrie n'apporte pas un avantage significatif.

A côté de la dilution du sang, d'autres facteurs contribuent à atténuer l'activité bactéricide du sang. Il s'agit du Sodium Polyanéthol Sulfonate (SPS), anticoagulant très généralement utilisé dans les bouillons pour hémoculture à une concentration de 0,025 à 0,05 % ; il favorise la croissance de la plupart des bactéries car il inhibe l'activité bactéricide du sérum et de la phagocytose, inactive le complément, neutralise le lysozyme et les antibiotiques de la famille des aminosides.

#### **6.1.4. Ensemencement du milieu d'hémoculture [2, 4].**

Il existe la technique classique et des variantes.

##### **❖ Technique classique**

Il faut inspecter les ballons d'hémoculture afin de déceler la moindre trace de souillure ; tout ballon contaminé sera éliminé.

Ensuite, l'opercule en caoutchouc du ballon d'hémoculture est désinfecté avec de l'alcool à 70° que l'on laisse sécher avant de piquer.

L'aiguille retirée de la veine est immédiatement enfoncée dans l'opercule et l'échantillon de sang est injecté dans le milieu de culture. Le flacon de culture est retourné lentement 2 à 3 fois afin d'homogénéiser le bouillon ensemencé.

Après la ponction veineuse et l'ensemencement du milieu de culture, le clinicien enlèvera les gants et les placera dans un conteneur autoclavable prévu à cet effet. Puis il se lavera les mains à l'eau et au savon immédiatement après avoir enlevé

les gants. Tout accident avec exposition au sang sera déclaré à la hiérarchie et au Service de Médecine du Travail.

### ❖ Autres techniques

La centrifugation-lyse et le système *Isolator* permettent de concentrer les microorganismes présents dans l'échantillon de sang collecté (8 à 10 ml) avant d'ensemencer les milieux de culture qui sont des géloses adaptées. Ces systèmes sont très performants pour l'isolement des Mycobactéries, des levures, des champignons filamenteux et des bactéries exigeantes à croissance difficile.

Le système *Isolator* permet en outre de quantifier les bactéries, ce qui serait utile pour mettre en évidence une infection sur cathéter. Cependant il présente quelques inconvénients comme le risque de contamination lors des manipulations et le fait que c'est une méthode manuelle consommatrice de temps de travail.

L'hémoculture est l'une des rares analyses dont l'ensemencement est effectué non pas par le biologiste, mais par le clinicien au lit du malade.

#### **6.1.5. Rythme et nombre de prélèvements [2]**

Il y a un consensus pour limiter le nombre d'hémocultures à 3 ou 2 par tranche de 24H. Une alternative consiste à prélever trois flacons en une seule fois.

L'intervalle entre deux prélèvements n'a pas d'importance car la qualité du diagnostic est équivalente, quel que soit cet intervalle, y compris lorsque les deux prélèvements sont réalisés simultanément ; 30 à 60 minutes d'intervalle sont acceptables. Effectuer plusieurs hémocultures augmente peu la sensibilité mais accroît la spécificité en permettant de mieux détecter les contaminants.

La réalisation de 2 à 3 prélèvements présente des inconvénients non maîtrisés tels une proportion élevée de faux-positifs par contamination d'origine cutanée le plus souvent et un volume sub-optimal de sang mis en culture. 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.

Classiquement, par « hémoculture » on comprend l'ensemencement à la fois d'un ballon aérobie et d'un ballon anaérobie. Cependant en Pédiatrie, un seul ballon (ballon aérobie) suffit.

#### **6.1.6. Transport des flacons d'hémoculture**

Les flacons d'hémoculture doivent être acheminés rapidement au laboratoire. Si cette opération est différée, les ballons sont conservés à la température ambiante (+20°C à +25°C) pendant au maximum 4 à 6 heures sinon le risque de faux résultat négatif augmente [9].

**Nota bene** : les milieux pour hémoculture, ensemencés ou non, ne doivent pas être conservés au réfrigérateur ; on utilisera un incubateur portable dont la température sera réglée à + 25°C.

#### **6.2. Démarche au Laboratoire [2, 4, 7]**

Après réception au laboratoire, les ballons sont étiquetés et mis en incubation. Les bulletins d'analyses sont retranscrits dans les registres.

### **6.2.1. Incubation des ballons à l'étuve**

Le clinicien doit signaler toute suspicion de brucellose, de méningococcémie, d'endocardite. En effet, la mise en évidence des bactéries responsables nécessite une atmosphère, un temps d'incubation ou un milieu adapté à la bactérie recherchée

#### **❖ Choix des conditions d'incubation**

Les étuves d'incubation sont réglées à +37°C ; elles peuvent être équipées de système générant du CO<sub>2</sub> indispensable à la croissance de certaines bactéries.

L'atmosphère aérobie ou anaérobie est générée directement dans le ballon d'hémoculture par le fabricant. L'indication actuelle d'une culture anaérobie concerne les infections en Gynécologie et en Chirurgie digestive ; elle favorise par ailleurs la croissance des streptocoques et des entérocoques.

#### **❖ Observation des ballons d'hémoculture**

Elle est quotidienne. Sa durée varie de 10 à 30 jours selon les laboratoires et selon le diagnostic clinique (brucellose, septicémie à bactérie à croissance lente). Elle peut être réduite à 5 jours en cas d'utilisation d'automate. La majorité des hémocultures est positive en 2 à 3 jours, tout au plus 5 jours.

#### **❖ Détection de la croissance bactérienne**

Il existe la méthode classique et la méthode automatisée.

##### **○ Méthode classique**

Les flacons sont observés à l'œil nu à la recherche du moindre signe de croissance bactérienne. Dans les bouillons, en l'absence de culture, le surnageant reste clair et les hématies forment un dépôt rouge. La croissance bactérienne peut se manifester ainsi :

- le bouillon devient trouble : cas des Bacilles à Gram (-), staphylocoques, *Bacteroides* ;
- le bouillon est coloré en rouge suite à une lyse des hématies : cas des streptocoques, staphylocoques, *Listeria*, *Clostridium*, *Bacillus* ;
- production de gaz : cas des Bacilles à Gram (-)
- formation de *coagulum* : cas de *Staphylococcus aureus* ;
- apparition de colonies dans les milieux diphasiques.

Certaines bactéries telles que *Brucella spp*, *Haemophilus spp*, *Neisseria spp* et *Campylobacter spp* ne provoquent qu'une faible turbidité du bouillon de culture ; l'usage d'un milieu diphasique s'avère utile dans ces cas là.

#### ○ Méthodes automatisées

Les systèmes automatisés ont amélioré significativement la détection de la croissance bactérienne en augmentant la vitesse de la croissance grâce à l'agitation permanente des flacons d'hémoculture. Ils lisent toutes les 10 minutes les ballons en mesurant soit indirectement le CO<sub>2</sub> produit par les bactéries (changement de pH), soit directement la variation de pression de l'atmosphère au sein du flacon grâce à une sonde.

Les performances de ces automates sont équivalentes pour les bactéries les plus fréquentes. Le taux de faux positifs apparaît insignifiant et varie respectivement de 0,25% à 0,71%.

#### **6.2.2. Etude d'une hémoculture positive**

Elle comporte différentes étapes aboutissant à l'identification de la bactérie, à la réalisation de l'antibiogramme et à l'interprétation de ce résultat.

### ❖ Examen microscopique

Le bactériologue procède d'abord à un examen à l'état frais suivi d'une coloration de Gram ; cela permet une orientation diagnostique. On tombera soit sur une flore bactérienne mono microbienne (cas idéal) soit sur une flore polymicrobienne.

### ❖ Repiquage et identification de la bactérie suspectée

Le repiquage est réalisé sur des milieux choisis en fonction de la bactérie suspectée à l'examen microscopique. La recherche des caractères essentiels et/ou particuliers aboutit à l'identification de la bactérie, identification complétée par un antibiogramme (ABG).

L'un des intérêts des milieux diphasiques est que l'on peut lancer immédiatement l'ABG à partir des colonies ayant poussé sur la gélose sans attendre la fin des opérations de repiquage et d'identification.

En cas de besoin, certains biologistes procèdent à un repiquage précoce de tous les flacons avant la 24<sup>ème</sup> heure d'incubation. On peut ainsi disposer tôt des résultats car le repiquage n'est effectué qu'après l'apparition de signes macroscopiques de culture bactérienne.

### ❖ Absence de bactérie

En l'absence de croissance bactérienne, les bouillons de culture sont systématiquement repiqués sur une gélose riche (au sang cuit) à partir du 7<sup>ème</sup> jour selon les laboratoires. Cette gélose est incubée pendant 48H à +37°C, en atmosphère aérobie enrichie en 10% de CO<sub>2</sub>. On révèle ainsi la croissance des bactéries n'entrant pas toujours de trouble visible à l'œil nu.

On conclut « hémoculture négative » après 7 à 10 jours d'incubation, sans croissance bactérienne visible associée à une négativité du repiquage systématique sur gélose au sang cuit.

### **6.2.3. Interprétation des résultats de l'hémoculture**

La confrontation des résultats microbiologiques avec les données cliniques est indispensable car le bactériologue ne peut pas à lui seul faire la distinction entre une bactériémie et une septicémie. La détection de la même bactérie dans d'autres produits pathologiques (culture de cathéters, urines, abcès, LCR) chez le malade facilite l'interprétation d'une hémoculture positive.

Le pronostic vital pouvant être engagé, les résultats de la coloration de Gram, comme les résultats de l'identification et de l'antibiogramme doivent être communiqués en urgence au clinicien en charge du malade.

#### **❖ Interprétation d'une hémoculture positive**

Les données épidémiologiques montrent que les staphylocoques à coagulase négative (SCN), *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp*, *Escherichia coli* et les levures sont les germes les plus fréquemment isolées. Les bactéries anaérobies sont peu rencontrées, notamment chez les enfants, contrairement aux *Enterococcus*, aux levures et aux mycobactéries.

La signification clinique de l'isolement d'un micro-organisme par hémoculture est délicate à interpréter. Certains comme *S. aureus*, les *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* et *Candida albicans* sont en situation de pathogénicité dans plus de 90 % des cas. Par contre, *Bacillus spp*, *Corynebacterium spp* et *Propionibacterium spp* sont responsables de bactériémies significatives dans moins de 5% des cas.

La fréquence d'isolement des SCN s'est accrue ; mais seulement 10 à 20 % de ces isolats ont une signification clinique. La majorité de ces SCN sont des

contaminants, ce qui pose parfois des problèmes d'interprétation. L'incrimination de *Streptococcus viridans*, d'*Enterococcus spp* est encore plus difficile. L'isolement de l'une de ces bactéries doit faire rechercher l'absence de dispositif intra vasculaire compatible avec une endocardite infectieuse avant de conclure à un contaminant.

L'hémoculture est poly microbienne chez 10% des enfants et 30% des malades immunodéprimés. Dans ces contextes, toute espèce présente doit être considérée comme étant potentiellement pathogène. Ces hémocultures poly microbiennes sont surtout observées en cas de cathéters longtemps maintenus en place, ou chez des sujets agonisants.

Un autre critère d'interprétation d'une hémoculture positive est la présence du même germe dans plusieurs flacons. Il ne faut pas pour autant se fonder uniquement sur le fait que les deux flacons (aérobie et anaérobie) ou seulement l'un des flacons laisse croître le germe. Des études de corrélation clinique et biologique ont montré que dans la moitié des cas pour les bactéries pathogènes et le tiers des cas pour les bactéries de contamination, il y a une croissance dans les deux flacons alors que respectivement 49% et 68% de ces deux groupes de bactéries ne poussent que dans un seul flacon.

En pratique, la signification clinique d'un microorganisme isolé par hémoculture est d'autant plus probable qu'il sera retrouvé dans des prélèvements successifs. La réalisation d'une seule hémoculture est insuffisante, car, en cas de culture positive, l'interprétation sera difficile. En effet la majorité des micro-organismes isolés ne sont pas pathogènes spécifiques.

L'augmentation de la proportion de malades immunodéprimés hospitalisés a eu comme corolaire la détection d'une multitude de micro-organismes dans le sang. Les espèces en cause sont nombreuses et ont des exigences nutritives variées qui font que le milieu de culture universel n'existe pas. Le choix des espèces à

rechercher et donc le choix du milieu de culture à utiliser repose sur les données probabilistes, donc sur des critères cliniques.

Les bactériologistes de la Société Française de Microbiologie (SFM) ont proposé, afin de faciliter l'interprétation des hémocultures positives, un algorithme résumé dans le **Tableau I**.

**Tableau I: Interprétation de la positivité des hémocultures [27]**

Germe identifié	Flacons à culture positive	Nombre hémocultures réalisées	Contexte clinique	Conduite à tenir
SCN  <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Streptococcus viridans</i> <i>Bacillus spp</i>	1 ou 2 d'une paire	≥ 2	Aucune	Contamination probable
			Onco-hématologie RAM Cathéter central IAS	Identifier + ABG
	2 ou 3 de 2 paires différentes	1	Quel que soit le contexte	Identifier + ABG
		≥ 2	Quel que soit le contexte	Identifier + ABG
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> Streptocoque hémolytique <i>Enterococcus spp</i> Entérobactéries <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Haemophilus spp</i> Groupe HACEK <i>Brucella spp</i> <i>Pasteurella spp</i> <i>Campylobacter spp</i>	β-	≥ 1	Indifférent	Identifier + ABG sans restriction

**Légende :** SCN = Staphylocoque à coagulase négative ; ABG = antibiogramme ;  
RAM = service de réanimation ; IAS = infection associée aux soins ;  
HACEK = *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella*  
*Kingella kingae*

## 7. Eléments de thérapeutique [10]

Dans l'attente des résultats de l'antibiogramme, le traitement institué comportera des antibiotiques à large spectre. Cette antibiothérapie sera ensuite adaptée selon le germe en cause et son profil de sensibilité.

En cas de besoin, un traitement local de la porte d'entrée sera envisagé dont l'ablation éventuelle d'un matériel invasif.

Un traitement symptomatique est indispensable ; il se fera en fonction des données de l'examen clinique et doit assurer la survie du patient.



## **Deuxième partie :**

# **Notre Etude**

# 1. Cadre et Période de l'étude

## 1.1. Cadre de l'étude

L'Hôpital d'Enfants Albert Royer (HEAR) est un Etablissement Public de Santé (EPS) de niveau 3 situé dans le district sanitaire de « Dakar Sud », précisément au Centre Hospitalier Universitaire de Fann. Sa capacité d'hospitalisation est de 164 lits répartis entre 5 Services. Il comporte :

### ❖ Services d'hospitalisation

- Urgences : 30 lits
- Néonatalogie : 19 lits
- Nourrissons : 33 lits
- Grands enfants : 36 lits
- Chirurgie pédiatrique : 46 lits

### ❖ Services des soins externes

- Consultation externe
- Dermatologie
- Hématologie clinique
- Odontologie
- Ophtalmologie
- Pneumologie
- Cardiologie

### ❖ Services d'aide au diagnostic

- Laboratoire d'analyses médicales
- Service d'imagerie médicale

## **1.2. Période de l'étude**

Nous avons collecté les données concernant les hémocultures pratiquées durant l'année 2012, précisément du 1<sup>er</sup> janvier au 31 décembre.

## **2. Matériel et Méthodes de l'étude**

### **2.1. Matériel de l'étude**

Il s'agit des supports de collecte de données sur l'hémoculture, du matériel de laboratoire ; il s'agit aussi des enfants chez qui ces hémocultures ont été faites.

#### **❖ Population d'étude**

L'étude porte sur les enfants âgés de 0 à 59 mois, hospitalisés à l'HEAR et ayant bénéficié d'une culture du sang.

#### **❖ Supports de collecte des données**

Les registres d'hémoculture et les fiches des résultats de l'antibiogramme ont été exploités. Au besoin, les dossiers d'hospitalisation et la base de données du Service d'Information Médicale (SIM) ont aussi été consultés.

#### **❖ Matériel de laboratoire**

Le bouillon cœur-cervelle (BCC) est le milieu utilisé pour l'hémoculture. Nous disposons de flacons prêts à l'emploi mais aussi de BCC sous forme déshydratée nous permettant de préparer nous même nos bouillons de culture. Ces flacons contiennent 40ml de bouillon et renferment une atmosphère aérobie.

Le repiquage du BCC après incubation des flacons est réalisé systématiquement sur gélose Mueller Hinton (MH) additionnée de sang cuit (sang de cheval) et d'un mélange de poly vitamines.

Divers matériels, milieux et réactifs sont disponibles ; il s'agit de ceux classiquement utilisés par un laboratoire de bactériologie.

## **2.2. Méthodologie**

### **2.2.1. Type et critères d'inclusion de l'étude**

#### **❖ Type de l'étude**

Il s'agit d'un travail rétrospectif couvrant la totalité de l'année 2012.

#### **❖ Critères d'inclusion et de non inclusion des patients**

Ont été inclus dans cette étude tous les enfants âgés de 0 à 59 mois dont:

- La ou les hémocultures ont été faites dans la période de l'étude ;
- Au moins un ballon d'hémoculture a été reçu au Laboratoire de HEAR,
- La fiche d'hémoculture (bulletin d'analyse) rédigée par le pédiatre et comportant les données essentielles d'état civil a été transcrise dans les registres du Laboratoire ;
- Quelque soit le diagnostic clinique évoqué par les pédiatres.

Ont été exclus tous les patients chez qui une hémoculture a été faite :

- En dehors de la période d'étude
  - Mais les données contenues dans la fiche d'analyse sont inexploitables.
  - Patients non hospitalisés à l'HEAR.
- 
- Patients dont l'âge ou le service n'est pas mentionné.

## ❖ Critères d'interprétation des hémocultures positives

Dans cette étude, seules les hémocultures mono microbiennes ont été retenues afin de réaliser l'identification et l'antibiogramme de la bactérie isolée. Lorsque la bactérie isolée est jugée non pathogène ou en cas de culture poly microbienne, l'hémoculture est considérée comme non concluante.

### 2.2.2. Recueil et analyses des données

Nous avons recherché dans les différents registres ci-dessus cités les paramètres suivants : le diagnostic clinique, l'âge et le sexe du malade, la date de collecte et de réception du ou des ballons d'hémoculture, les résultats de la culture (isolement + identification) et leur interprétation.

Les informations recueillies ont été saisies grâce au logiciel Epi info version 3.3.2. L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS. Le test de Khi-2 a été utilisé et un coefficient de corrélation établi entre les différents résultats ; un  $p \leq 0,05$  est considéré comme statistiquement significatif.

A partir des fiches d'antibiogramme, nous avons noté les profils de sensibilité des souches des différentes bactéries isolées et testées vis-à-vis des antibiotiques utilisés couramment à l'HEAR (**Tableau II**)

**Tableau II : Antibiotiques couramment testés à l'HEAR**

<b>Familles d'antibiotique</b>	<b>DCI</b>	<b>Sigle</b>
<b>B-lactamines</b>	Amoxicilline	AMX
	Amoxicilline + Acide clavulanique	AMC
	Ticarcilline	TIC
	Mezlocilline	MZ
	Pipéracilline	PIP
	Oxacilline	OX
	Imipenème	IMP
	Céfalotine	CF
	Ceftriaxone	CRO
	Cefotaxime	CTX
<b>Cyclines</b>	Ceftazidime	CAZ
	Aztréonam	ATM
<b>Aminosides</b>	Tétracycline	TE
	Doxycycline	DO
<b>Phénicolés</b>	Kanamycine	K
	Tobramycine	TM
	Gentamicine	GM
<b>Macrolides et apparentés</b>	Chloramphénicol	C
	Erythromycine	E
<b>Quinolones</b>	Lincomycine	L
	Acide nalidixique	AN
	Péfloxacine	PEF
<b>Autres</b>	Ciprofloxacine	CIP
	Rifampicine	RA
	Vancomycine	VA
	Sulfaméthoxazole + triméthoprime	SXT

Légende : DCI = Dénomination Commune Internationale

### 3. Résultats de l'étude

#### 3.1. Données globales

En 2012, le Laboratoire de l'HEAR a reçu et enregistré 946 ballons d'hémoculture. Parmi eux, 489 (51.69%) avaient été collectés chez des patients âgés de 0 à 5 ans. Nous avons comptabilisé un seul ballon d'hémoculture par patient, sans tenir compte des hémocultures itératives pratiquées chez certains d'entre eux.

##### 3.1.1. Population de l'étude

Elle est constituée de 283 garçons (57.9%) et 206 filles (42.1%) ; les nouveau-nés sont majoritaires (27,4%) suivis des nourrissons enfants âgés de moins de 35 mois (15.95%). La répartition par tranche d'âge selon les recommandations de l'OMS au niveau des Sites de Surveillance des Méningites bactériennes Pédiatriques est rapportée dans le **Tableau III**.

**Tableau III : Répartition des hémocultures pratiquées à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 selon les tranches d'âge.**

Tranches d'âge (mois)	EFFECTIF	POURCENTAGE (%)
0 - 2	134	27.40
3 - 5	39	07.98
6 - 8	40	08.18
9 - 11	21	04.29
12 - 17	47	09.61
18 - 23	38	07.77
24 - 35	78	15.95
36 - 47	49	10.02
48 - 59	43	08.80
<b>TOTAL</b>	<b>489</b>	<b>100</b>

L'essentiel des hémocultures a été réalisé aux Urgences (41%) et en Néonatalogie (26%). Le taux est seulement de 5% en Chirurgie (**Tableau IV**).

**Tableau IV : Répartition des hémocultures pratiquées à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 selon le Service d'hospitalisation.**

Services	Effectif	Pourcentage
Urgences	200	41
Néonatalogie	127	26
Nourrissons	84	17
Grands enfants	53	11
Chirurgie	25	05
Total	489	100

### **3.1.2. Indications des hémocultures pratiquées**

La principale indication était « Syndrome infectieux » (54%). Suivent les pathologies invasives comme les pneumopathies (10%) et les méningites bactériennes (7%). Les infections néonatales occupent la 3<sup>ème</sup> place des indications de l'hémoculture à l'HEAR (**Tableau V**).

**Tableau V : Indications des hémocultures pratiquées en 2012 à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar chez les enfants âgés de 0 à 59 mois.**

Indications	Effectifs	Pourcentage
Syndrome infectieux	266	54,40
Pneumopathie	50	10,22
Infection néonatale	42	08,60
Méningite bactérienne	34	06,95
Drépanocytose + fièvre	25	05,11
Fièvre	23	04,70
Convulsions fébriles	10	02,05
Autres indications	27	05,52
Aucune indication	12	02,45
<b>Total</b>	<b>489</b>	<b>100</b>

Chez les nouveau-nés, trois indications prédominent : Syndrome infectieux, Infection néonatale et Méningite (**Tableau VI**).

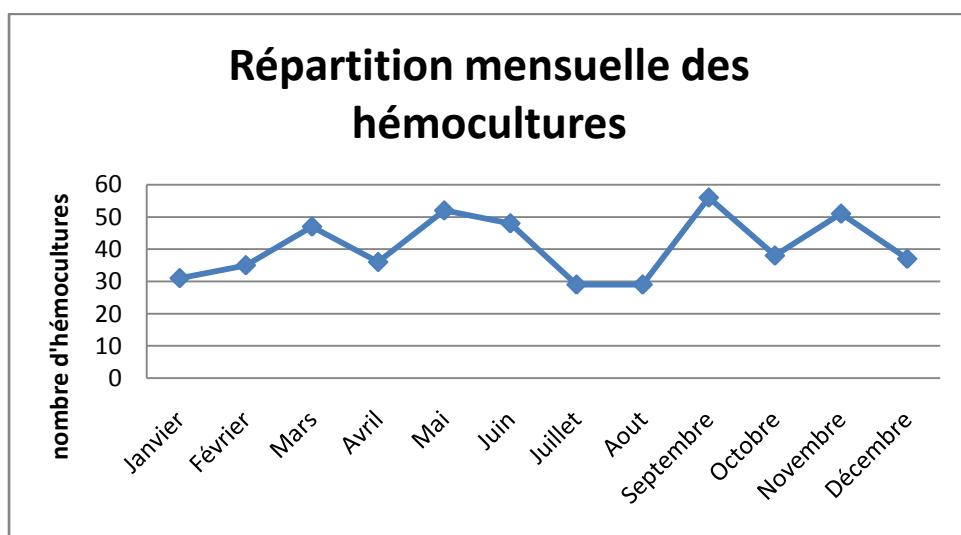
**Tableau VI : Indications des hémocultures pratiquées à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 selon les tranches d'âge.**

Age (mois)	Indications							
	SI	PP	INN	MBP	DF	Fièvre	CF	Autres
0-2	51	04	42	13		03		08
3-5	18	04		04		02		03
6-8	23	07		01	01	03	01	07
9-11	15	03		01		01		01
12-17	21	05		04	03	03	03	04
18-23	22	07		03	04	01	01	02
24-35	48	09		02	04	03	03	07
36-47	35	04		02	07	04	02	04
48-59	33	07		04	06	03		03
Total	266	50	42	34	25	23	10	27

**Légende :** **SI** : syndrome infectieux ; **PP** : pneumopathie ; **INN** : infection néonatale ; **MBP** : méningite bactérienne pédiatrique ; **DF** : drépanocytose + fièvre ; **CF** : convulsion fébrile

### 3.1.3 Répartition mensuelle des hémocultures pratiquées

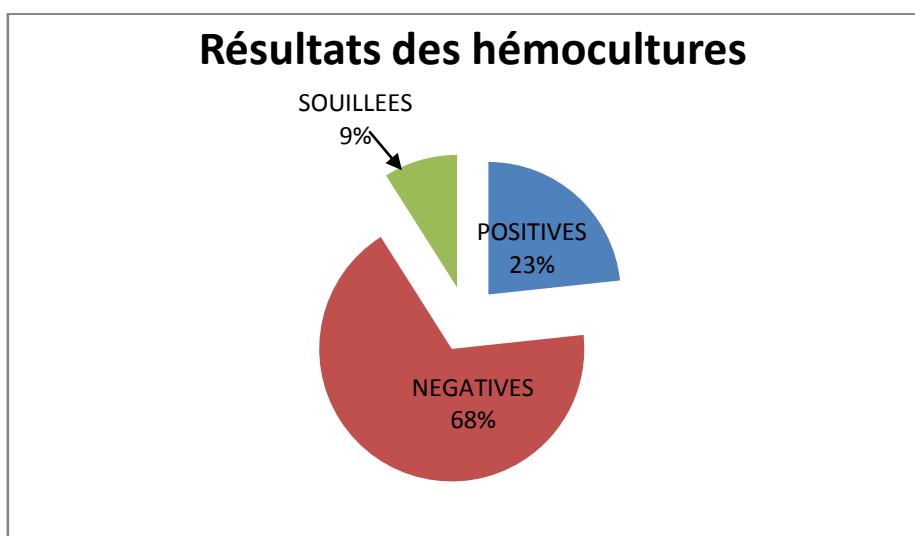
Par mois, une moyenne de 41 hémocultures a été réalisée ; avec un pic au mois de septembre (**Figure 1**).



**Figure 1: Répartition mensuelle des hémocultures pratiquées à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 5 mois.**

### 3.2. Bactéries isolées

Dans 114 ballons (23%) sur les 489 inclus dans ce travail, une seule bactérie a été isolée. Aucune croissance bactérienne n'a été observée dans 331 flacons (68%). Une bactérie considérée comme non pathogène ou une culture polymicrobienne (au moins 2 bactéries) a été retrouvée dans 44 ballons ; ils ont été considérés comme souillés (**Figure 2**).



**Figure 2:** Résultats des hémocultures pratiquées à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 5 mois

#### 3.2.1. Genres et espèces de bactéries isolées

Les souches bactériennes isolées et identifiées sont au nombre de 114. Elles appartiennent à 11 espèces (8 entérobactéries et 3 cocci) et à 10 genres (5 entérobactéries, 2 BGNNF et 3 cocci). Les bacilles à Gram négatif (BGN) non fermentaires n'ont pas tous été identifiés jusqu'au stade de genre ou d'espèce.

### 3.2.1.1. Bacilles à Gram négatif

La répartition en genres et espèces des 77 isolats (dont 62 entérobactéries) est rapportée dans le **Tableau VII**. Ils appartiennent en majorité au genre *Enterobacter* (39 souches), précisément à l'espèce *Enterobacter cloacae* (45,45%). Les BGN non fermentaires sont répartis entre les genres *Burkholderia* et *Pseudomonas*.

**Tableau VII : Bacilles à Gram (-) isolés lors d'hémoculture à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 59 mois.**

Bactéries	Effectifs	Pourcentage
Entérobactéries		
<i>Enterobacter cloacae</i>	35	45,45
<i>Enterobacter hafniae</i>	03	03,90
<i>Enterobacter sakazakii</i>	01	01,29
<i>Escherichia coli</i>	05	06,49
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	16,90
<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	01,29
<i>Salmonella Enteritidis</i>	02	02,60
<i>Salmonella Typhi</i>	01	01,29
<i>Proteus mirabilis</i>	01	01,29
Bacilles non fermentaires	15	19,48
Total	77	100

### 3.2.1.2. Cocci

Trente quatre souches (91,89%) sont des staphylocoques. Une seule appartient à l'espèce *Staphylococcus aureus* ; les 33 autres ne produisant pas de coagulase libre sont dites « staphylocoques à coagulase négative ».

Trois isolats ont été identifiés respectivement comme étant *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus spp* et *Neisseria meningitidis* W135 (**Tableau VIII**).

**Tableau VIII : Cocci isolés lors d'hémoculture à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 59 mois.**

Bactéries	Effectif	Pourcentage
Staphylocoques coagulase (-)	33	89,20
<i>Staphylococcus aureus</i>	01	02,70
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	01	02,70
<i>Streptococcus spp</i>	01	02,70
<i>Neisseria meningitidis</i> W135	01	02,70
Total	37	100

### 3.2.2. Répartition des bactéries selon l'indication clinique

L'hémoculture a été positive surtout chez les patients souffrant de Syndrome infectieux (50%), d'Infection néonatale (14%) et de Fièvre (7%). Les taux ont été faibles (5%) lors d'infections invasives comme les méningites et pneumopathies (**Tableau IX**).

**Tableau IX : Répartition des bactéries isolées lors d'hémoculture à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 en fonction du diagnostic clinique chez les enfants de moins de 5ans**

Bactéries	SI	INN	Fièvre	MBP	PP	DF	CF	Autres
<i>Enterobacter cloacae</i>	12	7	4	2	2	4		4
<i>Enterobacter hafnia</i>	1		2					
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1							
<i>Escherichia coli</i>	5							
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	2						3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1							
<i>Salmonella Enteritidis</i>	1					1		
<i>Salmonella Typhi</i>	1							
<i>Proteus mirabilis</i>		1						
Bacilles non fermentaires	4	2	1	2	1	1		4
<i>Staphylococcus aureus</i>							1	
Staphylocoque coagulase (-)	23	4	1	1			2	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>								1
<i>Streptococcus spp</i>						1		
<i>Neisseria meningitidis W135</i>					1			
<b>Total</b>	<b>57</b>	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>11</b>

**Légende :** **SI** : syndrome infectieux ; **PP** : pneumopathie ; **INN** : infection néonatale ; **MBP** : méningite bactérienne pédiatrique ; **DF** : diarrhée fébrile ; **CF** : convulsion fébrile

### 3.2.3. Répartition des bactéries selon l'âge des patients

C'est chez les enfants de la tranche d'âge de 0 à 2 mois que le maximum de bactéries a été isolé (40.35%). Peu d'isolats proviennent des tranches d'âge de 6 à 8 mois et de 36 à 47 mois (**Tableau X**).

**Tableau X : Répartition des bactéries isolées lors d'hémoculture à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 59 mois.**

Bactéries isolées	Tranches d'âge (mois)								
	0-2	3-5	6-8	9-11	12-17	18-23	24-35	36-47	48-59
<i>Enterobacter cloacae</i>	17	4	2			3	1		8
<i>Enterobacter hafnia</i>	1			1			1		
<i>Enterobacter sakazakii</i>							1		
<i>Escherichia coli</i>	1				2		1		1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	1		2	2		3	1	
<i>Klebsiella oxytoca</i>			1						
<i>Salmonella Enteritidis</i>						1	1		
<i>Salmonella Typhi</i>									1
<i>Proteus mirabilis</i>	1								
<b>Bacilles non fermentaires</b>	7			3	1		1	1	2
<i>Staphylococcus aureus</i>					1				
<b>Staphylocoque coagulase (-)</b>	15	3		1	2	3	4	2	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>									1
<i>Streptococcus spp</i>						1			
<i>Neisseria meningitidis W135</i>			1						
<b>Total</b>	<b>46</b>	<b>9</b>	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>13</b>	<b>4</b>	<b>16</b>

### 3.2.4. Répartition des bactéries selon le service

Le nombre d'espèces bactériennes identifiées varie de 2 en Chirurgie à 7 aux Urgences. Les SCN et *Enterobacter cloacae* ont été retrouvés dans tous les services (**Tableau XI**).

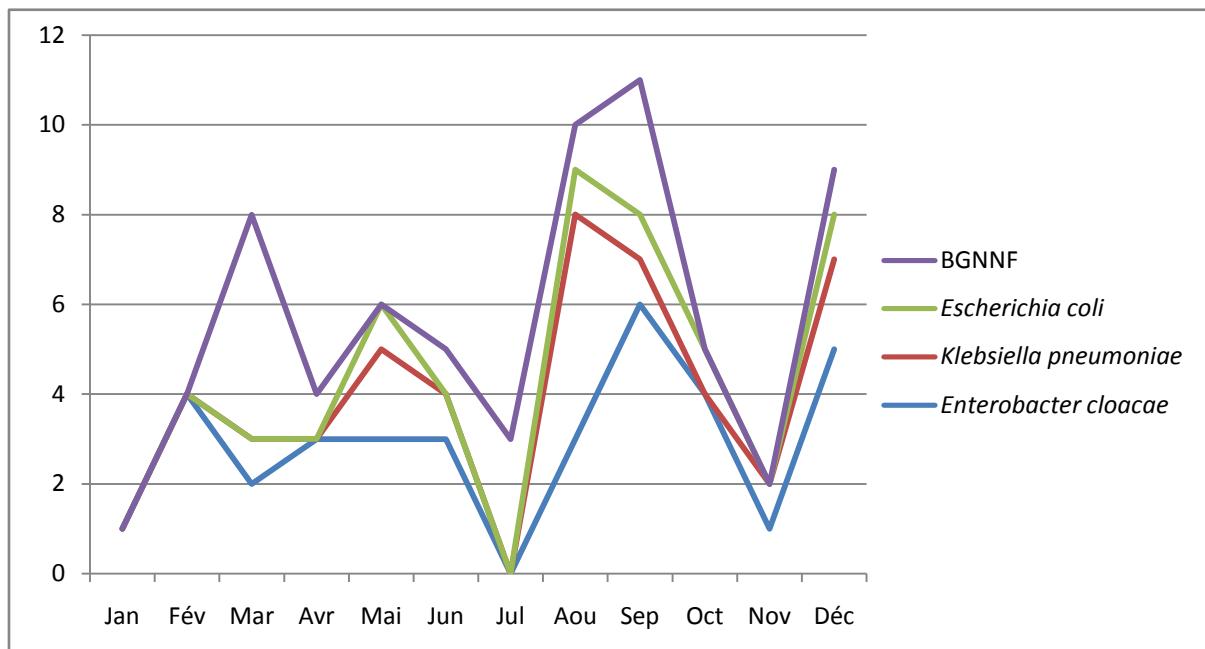
**Tableau XI : Répartition des bactéries isolées lors d'hémocultures à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 selon le service d'hospitalisation.**

BACTERIES	SERVICES				
	Urgences	Néonatalogie	Nourrissons	Grands enfants	Chirurgie
SCN	11	14	04	03	01
<i>S. aureus</i>	01				
<i>S. pneumoniae</i>				01	
<i>N.meningitidis</i> W135			01		
<i>Streptococcus spp</i>				01	
<i>E. cloacae</i>	10	17	02	01	05
<i>E. sakazakii</i>	01				
<i>E. hafnia</i>					03
<i>K. pneumoniae</i>	05	05	03		
<i>K. oxytoca</i>	01				
<i>Escherichia coli</i>	03	01		01	
<i>S. Enteritidis</i>	01		01		
Salmonella Typhi			01		
<i>Proteus mirabilis</i>		01			
Bacilles non fermentaires	03	09	02		01
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>47</b>	<b>14</b>	<b>07</b>	<b>10</b>

Légende : SCN : Staphylocoque coagulase (-)

### 3.2.5. Répartition des bactéries selon le mois

La répartition mensuelle des isolats n'est pas homogène. *Enterobacter cloacae* et les staphylocoques à coagulase (-) ont été isolées régulièrement, contrairement aux autres espèces et genres. Un pic d'isolement a été constaté en septembre (Figure 3).



Légende : BGNNF = bacilles à Gram négatif non fermentaires

**Figure 3 : Répartition mensuelle des bactéries isolées lors d'hémoculture à l'Hôpital D'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012 chez des enfants âgés de 0 à 59 mois.**

### 3.3. Données de l'antibiogramme des bactéries testées

Au total, sur les 114 isolats obtenus, 81 (71%) ont été testés vis-à-vis des antibiotiques. Nous n'avons pas testé les 33 souches de SCN.

Le choix des antibiotiques testés a varié en fonction de l'espèce bactérienne mais aussi de la disponibilité des disques d'antibiotiques devant être normalement testés.

Les rares souches de *S. aureus*, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *Proteus*, *Salmonella* et *Klebsiella oxytoca* sont assez sensibles aux antibiotiques testés ( $\beta$ -lactamines, aminosides, cyclines, phénicolés et sulfamides). Ce qui n'est pas le cas de la souche de *Streptococcus* sp qui n'est sensible qu'à la vancomycine.

Le profil de sensibilité des souches les plus représentatives (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *E. coli* et Bacilles non fermentaires) est présenté dans le **Tableau XII**.

**Tableau XII: Profil de sensibilité aux antibiotiques des principales bactéries isolées lors d'hémoculture chez les enfants âgés de 0 à 59 mois à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012.**

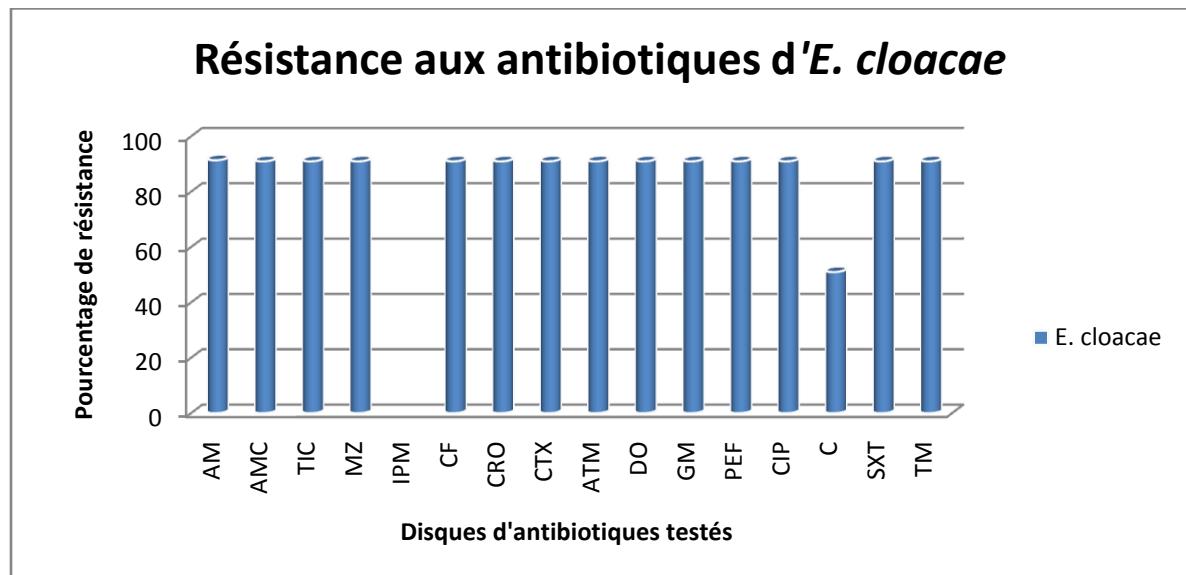
Bactéries	Antibiotiques testés													
	AM	AMC	MZ	IPM	CRO	CTX	ATM	DO	GM	PEF	CIP	C	SXT	
<i>E. cloacae</i>	1	1	2	33	1	1	1	1	1	8	8	15	1	
<i>K. pneumoniae</i>		2	2	13	6	6	6	2	2	7	7	7	2	
<i>E. coli</i>		1		5	1	1	1	1	1	2	2	1		
BGNNF			1	11	3	1	1	4	6	5	2		7	

**Légende :** **AM** = amoxicilline ; **AMC** = amoxicilline + acide clavulanique; **MZ** = mezlocilline; **IPM** = imipénème; **CRO** = ceftriaxone ; **CTX** = céfotaxime ; **ATM** = aztréonam **DO** = doxycycline ; **GM** = gentamicine ; **PEF** = pefloxacine ; **CIP** = ciprofloxacine ; **C** = chloramphénicol ; **SXT** = sulfaméthoxazole + triméthoprime.

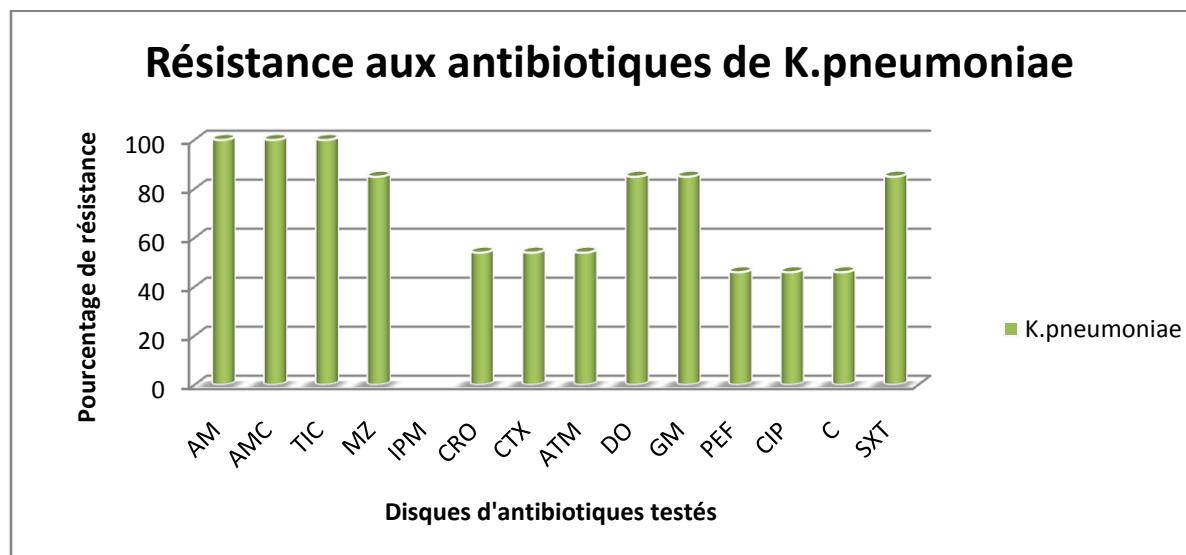
Les taux de résistance des entérobactéries à l'ensemble des antibiotiques testés varient de 46 à 100% avec une production de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi pour la majorité des souches.

Parmi les  $\beta$ -lactamines, l'Imipénème a inhibé toutes les bactéries testées sauf 27% de souches BGNNF.

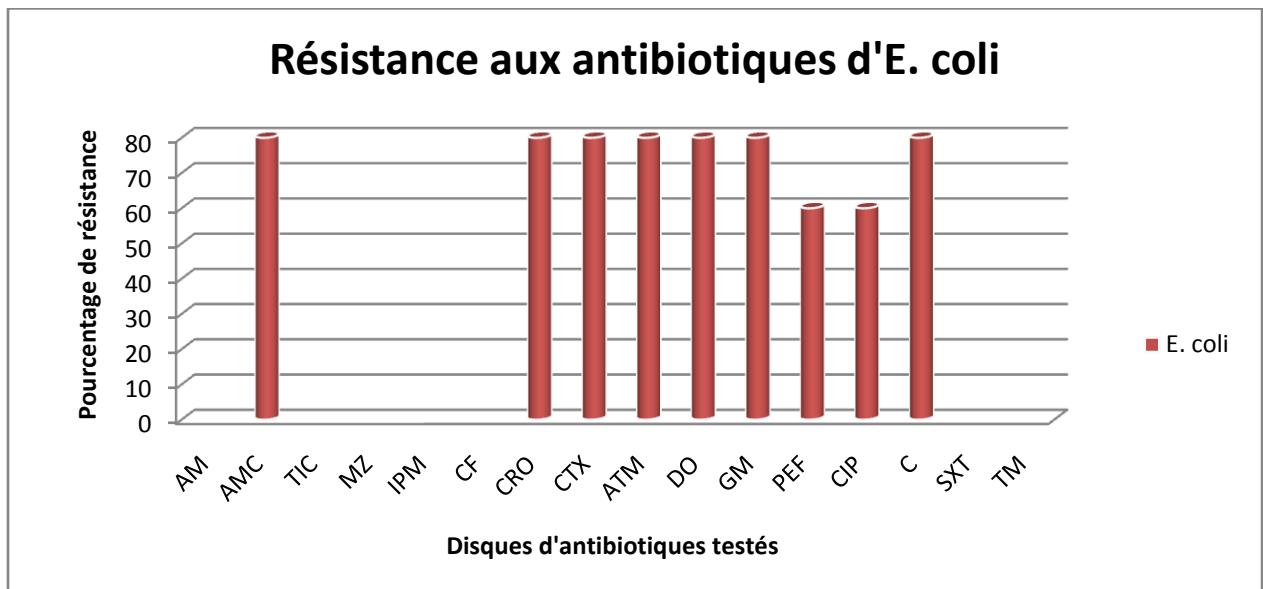
La résistance aux antibiotiques des isolats *d'Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et de BGNNF est représentée sur les **Figures 4 à 7**.



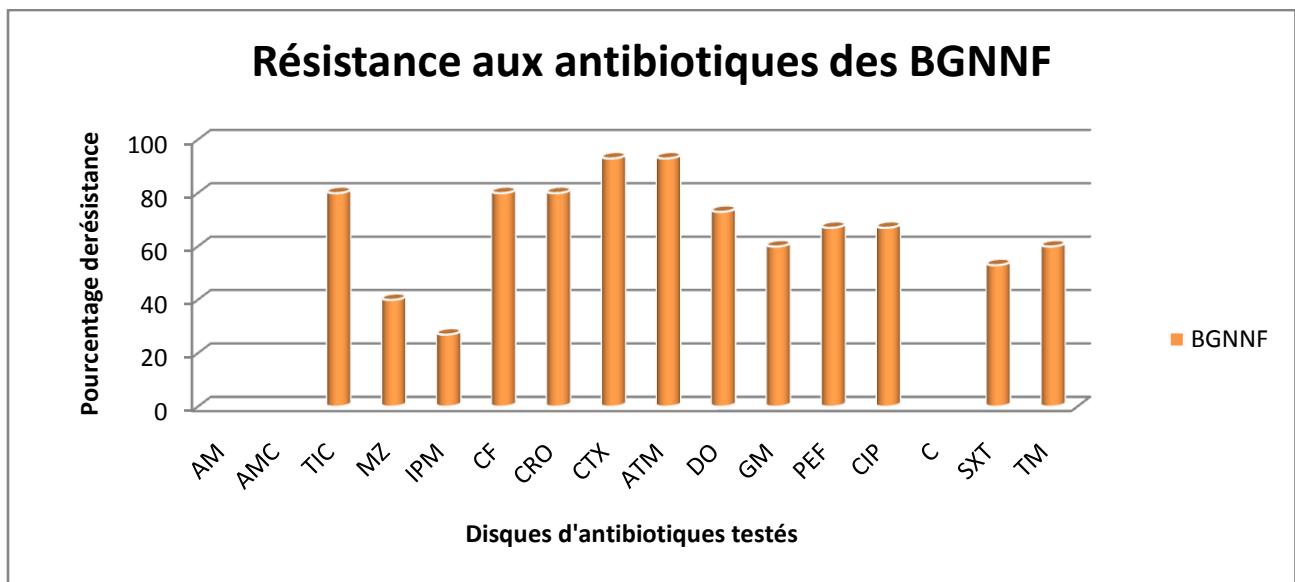
**Figure 4:** Profil de résistance (%) des souches *d'Enterobacter cloacae* isolées lors d'hémocultures chez les enfants âgés de 0 à 59 mois à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012.



**Figure 5:** Profil de résistance (%) des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées lors d'hémocultures chez les enfants âgés de 0 à 59 mois à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012.



**Figure 6:** Profil de résistance (%) des souches *d'Escherichia coli* isolées lors d'hémocultures chez les enfants âgés de 0 à 59 mois à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012.



**Légende :** BGNNF = bacilles à Gram négatif non fermentaires

**Figure 7:** Profil de résistance (%) des souches de BGNNF isolées lors d'hémocultures chez les enfants âgés de 0 à 59 mois à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar en 2012.

## 4. DISCUSSION

Comme toute étude rétrospective réalisée dans nos conditions de travail, la difficulté majeure à laquelle nous avons été confrontés était la disponibilité des documents à exploiter. En effet, les registres de Laboratoire sont mal tenus et entretenus, mal rangés. Il en est de même des doubles des feuilles d'antibiogramme que nous conservons au Laboratoire ; ils étaient « dispersés » un peu partout dans le Laboratoire et certains n'ont pas été retrouvés.

Certaines données d'état civil et le diagnostic clinique manquaient sur les bulletins d'analyses accompagnant les flacons d'hémoculture. Les pédiatres devraient faire un effort dans ce sens afin de fournir au Bactériologiste le maximum d'informations utiles à une l'interprétation des résultats de l'hémoculture.

### 4.1. Données globales

#### 4.1.1. Population de l'étude

Le choix de la tranche d'âge (0 à 59 mois) découle d'une directive de l'OMS. En effet, cette couche de la population des pays en développement (PED) est très vulnérable et exposée aux pathologies infectieuses invasives et parfois contagieuses. Or, nombre de ces maladies sont évitables par la vaccination, ce qui justifie la mise en place du Programme Elargi de Vaccination (PEV) et de Sites Sentinelles de Surveillance dont celui des méningites bactériennes pédiatriques (MBP) et de Diarrhées à Rotavirus. L'OMS a donc recommandé la pratique de l'hémoculture chez les enfants de cette tranche d'âge, spécifiquement ceux souffrant de maladies invasives comme les pneumonies et les méningites [9]. L'exécution systématique de cette analyse bactériologique augmente le taux de détection des bactéries incriminées dans la survenue de ces maladies. C'est ce que nous avons entrepris depuis un an (2012) à l'HEAR dans

le cadre de la surveillance des MBP. Afin d'avoir une vue d'ensemble de l'apport de l'hémoculture dans le diagnostic des infections chez l'enfant âgé de moins de 5 ans, nous avons inclus tous les patients répondant à ce critère d'âge, sans tenir compte du diagnostic clinique.

Les nouveau-nés représentent la majorité de nos patients. Ceci est dû au fait qu'à l'HEAR l'hémoculture est réalisée presque systématiquement chez eux dans le cadre du bilan pour infection. Nous avons noté une légère prédominance (58%) des enfants de sexe masculin ; d'autres auteurs avaient déjà constaté cela au Sénégal et ailleurs en Afrique [11, 12, 13, 14].

Le Service des Urgences représente un « passage obligé » pour la majorité des patients hospitalisés à l'HEAR car ils y reçoivent les soins indispensables à leur survie. C'est la raison pour laquelle le maximum d'hémoculture y a été réalisé ; suit le Service de Néonatalogie où toute suspicion d'infection exige une hémoculture.

#### **4.1.2. Indications des hémocultures pratiquées**

Le libellé du diagnostic clinique demeure un problème à l'HEAR. Il est rare qu'une orientation clinique précise soit portée sur les bulletins d'analyse. C'est la raison pour laquelle nous nous retrouvons avec des indications d'hémoculture inadéquates comme : Toux, Malnutrition sévère, Insuffisance motrice fonctionnelle.

Quand un diagnostic est mentionné, il reste vague : Fièvre, Syndrome infectieux, Convulsion fébrile, Diarrhée fébrile, Drépanocytose + fièvre, etc. Parfois, aucune indication n'est donnée au Bactériologue, le privant ainsi d'éléments d'orientation clinique.

La recommandation de l'OMS portant sur la réalisation de l'hémoculture devant une pathologie infectieuse invasive (pneumonie, méningite) connaît un début d'exécution [9]. En effet, ces deux entités cliniques représentent respectivement la 2<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> indication de l'hémoculture à l'HEAR en 2012 chez les enfants âgés de 0 à 59 mois hospitalisés. Le « Syndrome infectieux », diagnostic clinique aussi vaste qu'imprécis, vient en tête, suivi par « Infection néonatale ». Le diagnostic de MBP a été porté surtout chez les enfants âgés de 0 à 2 mois. Les autres indications, en dehors de l'Infection néonatale, sont réparties de façon assez homogène dans les différentes tranches d'âge que nous avons délimitées.

#### **4.1.3. Répartition mensuelle des hémocultures**

Habituellement à l'HEAR, le nombre d'hémocultures réalisées varie d'une année à l'autre selon la disponibilité des flacons près à l'emploi et/ou du milieu BCC déshydraté. Cela étant dit, nous avons noté un surplus de cas entre mars et juin et septembre à octobre. Ces périodes correspondent à l'installation de la saison des pluies avec comme corolaire la recrudescence du paludisme et le 1<sup>er</sup> pic de la grippe. Ainsi se justifierait la prépondérance du « Syndrome infectieux » comme indication de l'hémoculture chez nos patients.

Les épisodes de diarrhée accompagnés de fièvre sont aussi fréquents pendant ces périodes. Ils sont soit des symptômes d'une maladie (paludisme, infections ORL etc.), soit une véritable gastroentérite aiguë fébrile d'origine diverse. Là aussi, l'hémoculture est « trop » souvent demandée.

#### **4.1.4. Interprétation des hémocultures**

Les données cliniques sont indispensables au Microbiologiste pour interpréter les résultats d'une hémoculture. En effet, la signification clinique de l'isolement

d'un micro-organisme par hémoculture est délicate à interpréter. Nous n'avons pu faire la distinction entre une bactériémie et une septicémie d'une part et, d'autre part, la causalité bactérie-pathologie suspectée par le pédiatre.

### • Hémocultures positives

Moins du quart (23%) de nos cultures est positif et 40% d'entre elles proviennent des nouveau-nés. Lors d'une étude antérieure menée entre 1983 et 1987 à l'HEAR, **Didja** [15] avait rapporté un taux de positivité de 24%. Dans d'autres hôpitaux du CHU de Dakar, des taux allant de 13% à 22% ont été relevés durant la période 1996-2009 [16, 17]. Ailleurs en Afrique de l'Ouest, des taux allant de 14% à 30% [18, 19] ont été rapportés entre 1982 et 1988. Dans certains pays de l'Europe occidentale, malgré la qualité de leur plateau technique, les données hospitalières ont montré que dans 12 à 19% des hémocultures, une bactérie avait été isolée [20, 21].

La valeur d'une hémoculture positive doit être discutée. Une culture polymicrobienne doit être écartée sauf chez les malades immunodéprimés, ceux ayant un cathéter longtemps maintenu en place et les sujets agonisants. Habituellement, un bon critère d'interprétation d'une hémoculture positive est la présence du même germe dans plusieurs flacons.

Au terme de cette étude, 9% des cultures positives étaient souillées. Les critères utilisés pour cela étaient l'isolement de bactilles à Gram positif, de SCN, de deux espèces bactériennes différentes ou plus. Ces hémocultures souillées proviennent essentiellement des malades (prématurés, hypotrophiques, collapsus etc.) des Services de Néonatalogie et des Urgences chez lesquels le personnel médical (parfois peu qualifié) de l'HEAR rencontre d'énormes difficultés lors de la collecte du sang. Ce résultat est comparable aux 8% rapportés par Kallel à

partir des prélèvements effectués sur cathéters veineux centraux et sur veines périphériques [22] ; la bactérie prédominante était le SCN.

La bactérie qui nous a posé le plus de problèmes d'interprétation est le staphylocoque à coagulase négative. Il représente 29% des bactéries isolées lors de notre étude.

Nous l'avons considérée comme souillure car nous ne disposions pas de données cliniques précises (état immunitaire, prématuroté, présence de cathéter ou de sonde à demeure etc.) ni des résultats d'un second voire troisième ballon d'hémoculture provenant de prélèvements itératifs.

- **Hémocultures négatives**

Notre taux de 68% d'hémocultures négatives est proche des 70 à 82% rapportés lors d'études antérieures à Dakar [7, 16, 17] et à Abidjan [19].

Parmi les facteurs relatifs à ces forts taux de négativité, figurent la prise d'antibiotique qui malheureusement n'est pas renseignée dans nos registres d'hémocultures. Cette situation est classique dans les hôpitaux du CHU de Dakar [7, 22] où par ailleurs l'hémoculture n'est pas réalisée systématiquement dès l'admission chez les enfants suspects de MBP ou de pneumonie ; elle n'intervient généralement qu'après le démarrage de l'antibiothérapie. Cependant, la prévalence des bactériémies au cours des pneumonies non compliquées est considérée comme basse (1,1 % à 2,7 %) ; elle peut augmenter jusqu'à 13 voire 26 % en cas de pleurésie ou d'empyème [23]. Il a été rapporté aussi le rôle de l'anémie comme facteur de négativité de l'hémoculture [24].

La négativité des hémocultures peut être liée aussi à la survenue de pathologies infectieuses virales ou parasitaires.

## 4.2. Bactéries isolées

Plusieurs genres et espèces bactériennes ont été isolés lors d'hémoculture chez les enfants âgés de moins de 5 ans hospitalisés en 2012 à l'HEAR. La majorité des isolats sont des bacilles à Gram (-). L'interprétation de ces résultats est délicate, certaines de ces bactéries bien que potentiellement pathogènes peuvent être des contaminants.

### 4.2.1. Cocci

Comme rapporté dans la littérature [20], ils appartiennent essentiellement au genre *Staphylococcus*. Une seule souche de *S. aureus*, espèce pathogène spécifique, a été retrouvée ; les 33 autres étant des staphylocoques à coagulase négative.

Nous avons considéré ces SCN comme « souillure » car nous n'avions pas d'arguments cliniques (immunodépression, cathéter et/ou sonde à demeure, présence dans un seul ballon) pour juger de leur pathogénicité éventuelle. Il est alors fort probable que nos conclusions concernant les SCN ne soient pas pertinentes.

Pour illustration, chez un enfant âgé de 52 mois souffrant d'une aplasie médullaire dont le diagnostic clinique porté sur le bulletin d'hémoculture était « Syndrome infectieux », 5 hémocultures non itératives ont été faites en l'espace de 2 mois. Un staphylocoque coagulase (-) a été isolé dans les 5 flacons sans que cela n'attire l'attention du Bactériologiste. C'est fortuitement que nous avons appris à partir de l'Unité d'Hématologie que l'enfant était aplasique. Cette souche de SCN aurait dû être considérée comme pathogène et faire l'objet d'un antibiogramme. Cependant une étude américaine visant à définir les liens existants entre les souches de SCN isolées d'hémocultures et les bactériémies

vraies a constaté que 89% des isolats étaient des contaminants et seulement 11% avaient un lien causal avec la pathologie suspectée [25].

Les autres espèces de cocci (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*) étant des bactéries à fort potentiel pathogène, leur isolement au laboratoire ne posait aucun problème d'interprétation.

#### **4.2.2. Bacilles à Gram négatif**

Nous avons isolé des BGN fermentaires et non fermentaires. Les entérobactéries (EB) représentent la majorité : 80,5%.

##### **• Entérobactéries**

Leur fréquence d'isolement lors d'hémoculture varie selon les périodes, les études et les pays. Ainsi, Didja en 1988 à l'HEAR [15] avait rapporté un taux de 64.2% alors que Dosso en Côte d'Ivoire [26] en avait 75% et dans 9 pays d'Afrique du Nord et au Sud du Sahara il s'élevait à 59% [15, 26, 27].

Parmi ces EB, *Enterobacter cloacae* est l'espèce prédominante (31%), suivie par *Klebsiella pneumoniae*. Ces deux espèces sont les plus représentatives des EB responsables de septicémies ou de bactériémies au CHU de Dakar [7, 15, 17, 22]. Durant notre étude, comme dans celle de Gbaguidi-Haore, *E. cloacae* a sévit surtout chez les nouveau-nés. Sa diffusion s'effectuerait beaucoup plus par transmission croisée que par transmission mère-enfant [28].

Nous avons détecté peu de souches d'*E. coli*, de *Salmonella* et de *Proteus*. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'*E. coli* (sérotype K1) provoque souvent des MBP néonatales (lors desquelles l'hémoculture n'est pas systématique à l'HEAR) et que les salmonelles induisent chez l'enfant plutôt des gastroentérites fébriles généralement non accompagnées de bactériémie.

- **Bacilles à Gram (-) non fermentaires (BGNNF)**

On regroupe sous cette appellation les genres *Pseudomonas* et *Burkholderia*. Issus de l'ancienne grande famille des *Pseudomonadaceae*, ils sont considérés par certains auteurs comme des contaminants hospitaliers, donc des souillures à l'hémoculture.

Leur rôle pathogène n'a pu être formellement prouvé lors de notre étude bien qu'ils aient représenté 13% des isolats ; *P. aeruginosa*, prototype du groupe, n'a été détecté dans aucun ballon d'hémoculture en 2012 à l'HEAR chez notre population d'étude.

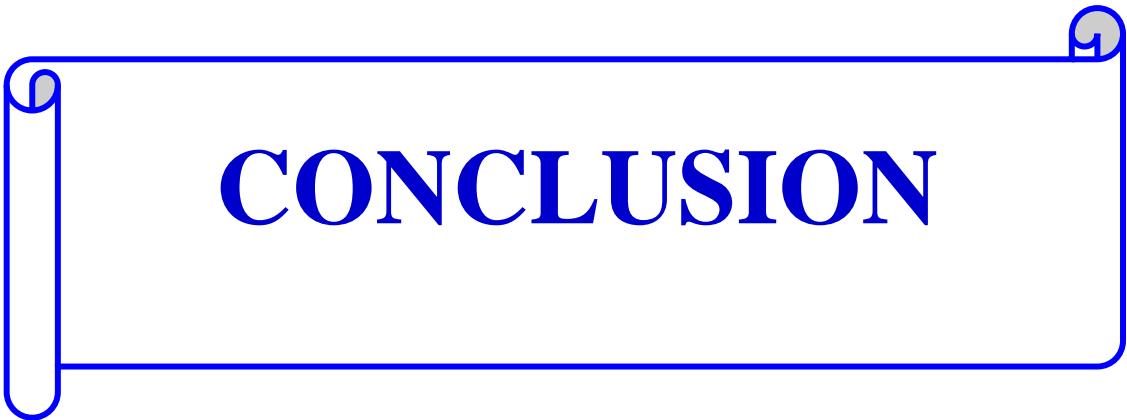
### **4.3. Profil de sensibilité des bactéries aux antibiotiques**

Confrontés à l'indisponibilité de certains disques d'antibiotiques (rupture de stock, manque), nous n'avons pu respecter le protocole standard de l'ABG. Malgré ces aléas, des données de base ont pu être colligées.

La majorité (63%) des EB produisait une  $\beta$ -lactamase à spectre élargie (BLSE) ; cette production culmine à 91% chez *Enterobacter cloacae* et à 100% pour *Enterobacter hafniae* et *Enterobacter sakazakii*. Un peu plus de la moitié (54%) des souches de *Klebsiella pneumoniae* est BLSE (+) : c'est chez cette bactérie que la sécrétion de la BLSE a été décrite pour la première fois en Bactériologie [5]. Ces bactéries BLSE(+), multirésistantes par excellence, presque toujours d'origine hospitalière (principales cause d'infections nosocomiales), provenaient surtout des Services de Néonatalogie (62,4%) et des Urgences (28,5%) ; paradoxalement, seul 9% ont été isolées chez les patients de la Chirurgie.

Les rares souches de *Proteus mirabilis* et de *Salmonella* se sont avérées sensibles aux antibiotiques testés, notamment les  $\beta$ -lactamines, contrairement à celles d'*E. coli*.

Le profil de sensibilité des BGNNF est varié. L'activité de l'imipénème a été la meilleure (73%), une forte proportion de résistance vis-à-vis des autres molécules d'antibiotique a été constatée.



# CONCLUSION

L'hémoculture est l'un des moyens les plus simples pour faire face à l'urgence diagnostique et thérapeutique que posent les bactériémies et les septicémies. Par ailleurs l'OMS a mis en place un système de surveillance des infections invasives (pneumonie et méningite) à *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae* b. L'hémoculture fait partie du bilan biologique recommandé dans ce cadre. Nous avons donc fait le bilan d'une année de surveillance des hémocultures à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar, chez les enfants hospitalisés âgés de 0 à 59 mois.

Ainsi l'étude a montré que les entérobactéries occupaient la première place des bactéries que nous avons considérées comme pathogènes ; ce sont en majorité des *Enterobacter*, précisément *Enterobacter cloacae*. Des souches de *Burkholderia* et de *Pseudomonas* ont été isolées en situation pathogène. Ces bacilles, inhibés presque tous par l'imipénème, sont multirésistants et sécrètent en majorité (90%) une bétalactamase à spectre élargi. Ils sévissent surtout dans les services de Néonatalogie et des Urgences.

Les bactéries dont la surveillance fait des programmes de l'OMS ont été retrouvées rarement c'est le cas de *S. pneumoniae* et de *N. meningitidis* à l'exclusion d'*H. influenzae* b. Elles sont sensibles aux Bétalactamines, notamment les Pénicillines.

Nous avons retrouvé beaucoup de souches de staphylocoques à coagulase négative ; leur rôle pathogène n'a pas pu être établi par manque de renseignements cliniques.

Cette surveillance de l'écologie microbienne à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer permettra, certainement, aux Pédiatres d'instaurer une antibiothérapie efficiente.



## RECOMMANDATIONS

L'analyse de nos résultats nous permet de formuler les recommandations suivantes

➤ **A l'hôpital Albert Royer de**

- Elaborer des protocoles de prélèvement en rapport avec le CLIN pour la réalisation des hémocultures et des soins en général.

➤ **Aux Pédiatres et aux infirmiers de**

- Préciser au laboratoire de bactériologie le site de prélèvement dans la mesure du possible.
- Réaliser les hémocultures, si possible, avant toute antibiothérapie.
- Utiliser des antibiotiques à spectre étroit pour limiter l'émergence de souches résistantes.
- Faire une hémoculture devant toute suspicion de pathologie infectieuse invasive ; surtout devant une pneumonie ou une méningite.
- Les prélèvements doivent être réalisés dans les conditions d'asepsie rigoureuse.

➤ **Au Responsable et au personnel du Laboratoire de bactériologie de l'HEAR de**

- Veiller à la bonne tenue des registres de paillasse et à la complétude des informations figurant sur les bulletins d'analyse.
- Ensemencer précocement les ballons d'hémoculture afin de raccourcir le délai de rendu des résultats.
- Revoir les critères d'interprétation des hémocultures avec isolement de Staphylocoque à Coagulase négative en mettant les cliniciens à contribution.
- Veiller à l'Automatisation la technique d'hémoculture.

# BIBLIOGRAPHIE

## **1. BA ID.**

Le sepsis bactérien pédiatrique, nouveau-nés exclus : à propos d'une étude prospective menée dans l'Unité de Soins Intensifs du Centre Hospitalier National d'Enfants Albert Royer (DAKAR)

Thèse Méd., Dakar 2006 N°41

## **2. Société Française de Microbiologie.**

Diagnostic des bactériémies et des fongémies – Hémoculture,  
REMIC 2010, Société Française de Microbiologie, 4eme édition,  
Paris 2010 ; **8** : 55 - 63

## **3. Didja M.**

Les isolements de bactéries dans les hémocultures à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer (à propos de 1629 flacons étudiés sur une période de 5ans)  
Thèse Pharm ; Dakar 1988 N°20

## **4. Cheesbrough M.**

Blood Culture in:

District Laboratory Practice in Tropical countries, Part 2, second edition,  
Cambridge University Press, Cambridge 2006: 124 – 130.

## **5. Denis F, Garnier F.**

Hémocultures. In :

Bactériologie Médicale, Techniques usuelles, Masson, 1<sup>ère</sup> édition,  
Paris 2007 ; 11 : 107 – 116.

**6. Meyer MH, Letscher-Bru V, Jaulhac B, Waller J, Candolfi E.**

Comparison of Mycosis IC / F and Plus Aeorobic F/Media for diagnosis of fungemia by Bactec 9240 system.

*J Clin Microbiol* 2004; **42**: 773 – 777

**7. Seye MM.**

Evaluation de la pratique de l'hémoculture au laboratoire de Bactériologie – Virologie du CHU de Fann -Dakar de 2006 – 2008

Thèse Pharm., Dakar 2009 N°101

**8. Cartwright KAV.**

Early management of meningococcal disease.

*Infect Dis Clin North Am* 1999; **13**: 661-84.

**9. Popovic T, Ajello G, Facklam R.**

Techniques de laboratoire pour le diagnostic des méningites à *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*, OMS, 2<sup>e</sup> édition, WHO/IVB.11.09, Genève 2011 ; 27 – 58.

**10. Makki A.**

Septicémie et choc septique dans 4 hôpitaux de Beyrouth de 2005 à 2006, Université libanaise –

Maitrise en Sciences de Laboratoire 2007, catégorie Biologie et Médecine.

**11. Camara B, Cissé MF, Faye PM, Bâ M, Tall-Dia A, Diouf S.**

La méningite purulente en milieu hospitalier pédiatrique à Dakar (Sénégal).

*Méd Mal Infect 2003; 33: 422-6.*

**12. DIA N.**

Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes isolées d'hémoculture au CHU Aristide Le Dantec de Dakar.

Thèse Pharm., Dakar 1998 N°55.

**13. Faye-Kette M, Doukou ES, Boni C, Koffi A.**

Agents des méningites purulentes communautaires de l'enfant : tendance épidémiologique à Abidjan, Côte d'Ivoire de 1995 à l'an 2000.

*Bull Soc Path Exo 2003 ; 96 (4) : 313-6.*

**14. Migliani R, Clouzeau J, Decousser JW, Ravelomananana N.**

Les méningites bactériennes non tuberculeuses de l'enfant à Antananarivo, Madagascar. *Arch Pédiatr 2000; 9: 892-7.*

**15. Didja M.**

Les isolements de bactéries dans les hémocultures à l'Hôpital d'Enfants Albert Royer (à propos de 1629 flacons étudiés sur une période de 5ans)

Thèse Pharm ; Dakar 1988 N°20

**16. DIA N.**

Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes isolées d'hémoculture au CHU Aristide Le Dantec de Dakar.

Thèse Pharm., Dakar 1998 N°55.

## **17.SY M. O.**

L'hémoculture au laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHU A. Le Dantec de Dakar (Etude prospective de 1068 flacons sur une période d'une année)  
Thèse Pharm., Dakar 2001 N°04.

## **18. Ahmedou MM.**

Bilan des souches bactériennes isolées d'hémocultures à l'Hôpital de Nouakchott sur une période de 2 ans ½, 1985 – 1987.  
Thèse Pharm., Dakar, 1988, N°74.

## **19. Dosso M.**

Etude de la sensibilité *in vitro* aux antibiotiques de différents isolats bactériens à Abidjan : résultats à propos de 90 souches.

*Médecine Digest.* 1995 ; 4 : 32 – 38.

## **20.Bally F, Eisenring M. C, Praz G, Troillet N.**

Surveillance des hémocultures des hôpitaux du Réseau Santé Valais (RSV) 2002-2005 - Centre de Maladies Infectieuses et Épidémiologie, Institut Central des Hôpitaux Valaisans, 1951 Sion.

## **21.Bandat V, Chuard C, Regamey C.**

Revue des hémocultures positives sur 2 ans à l'Hôpital Cantonal de Fribourg.  
*Revue Médicale Suisse 2005 ; 36 : 122 – 127.*

## **22.Migliani R, Clouzeau J, Decousser JW, Ravelomananana N.**

Les méningites bactériennes non tuberculeuses de l'enfant à Antananarivo, Madagascar

. *Arch Pédiatr 2000; 9: 892-7.*

**23. Myers, Angela L. MD, MPH<sup>\*</sup>; Hall, Matthew PhD<sup>†</sup>; Williams, Derek J. MD, MPH<sup>‡</sup>; Auger, Katherine MD<sup>§</sup>; Tieder, Joel S. MD, MPH<sup>¶||</sup>; Statile, Angela MD<sup>\*\*††</sup>; Jerardi, Karen MD<sup>\*\*††</sup>; McClain, Lauren MD<sup>‡</sup>; Shah, Samir S. MD, MSCE<sup>\*\*††</sup>**

Prevalence of bacteremia in hospitalized pediatric patients with community-acquired pneumonia.

*Pediatr Infect Dis J.* 2013; **32**: 736-40.

**24. Bouqui P, Raoult D.**

Endocardites dues à des bactéries rares et fastidieuses.

*Microbiologie Clinique.* 2001 ; **14** : 177 – 207.

**25. Admou B, Haouach K, Kachach M, Chabaa L.**

Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un CHU marocain.

*Revue Tunisienne d'Infectiologie. Avril 2011; 5(2) : 78 – 81.*

**26. Dosso M, Faye H, Aissi H, Sylla D. F, Ehounoud H. et Kotchi R.**

Les hémocultures au CHU de Cocody (Abidjan) de 1982 à 1986.

*Pub. Med. Afr.* 1987 ; 90 : 17-21

**27. Ben Bachir M, Ben Redjeb S, Boye C. S, Dosso M.**

Two years surveillance of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* in four African countries. Abstracts

Communication au 38<sup>th</sup> ICAAC, september 24-27, 1999, San Diego, California.

**28.Gbaguidi-Haoré H,Thouverez M, Thiriez G, Bertrand X, Menget A,  
Talon D.**

Emergence *d'Enterobacter cloacae* comme pathogène nosocomial majeur en néonatalogie: gestion d'une épidémie, surveillance épidémiologique et facteurs de risque.

Communication au XVII<sup>e</sup> Congrès National de la Société Française d'Hygiène Hospitalière, Nantes 2006.