

## LISTE DES ABBREVIATIONS

<b>%</b>	: Pourcentage
<b>°C</b>	: Degrés Celsius
<b>µm</b>	: Micromètre
<b>23S</b>	: Petite sous unité ribosome
<b>ARN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>B.P.S</b>	: Bactérie pathogène spécifique
<b>BLSE</b>	: Béta-lactamase à spectre étendu
<b>C3G</b>	: Céphalosporine de 3ème génération
<b>CASFM</b>	: Comite d'antibiogramme de la société française de microbiologie
<b>CLIN</b>	: Comité de lutte contre les infections nosocomiales
<b>CMI</b>	: Concentration minimale inhibitrice
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Dioxyde de carbone
<b>D</b>	: Diamètre maximale inhibitrice
<b>d</b>	: Diamètre minimale inhibitrice
<b>ETH</b>	: Ethionamide
<b>GISA</b>	: Glycopeptide Intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>I</b>	: Diamètre inhibitrice intermédiaire
<b>INH</b>	: Isoniazide (INH)
<b>INN</b>	: Infection néonatale
<b>J</b>	: Jour
<b>KES</b>	: <i>Klebsiella spp</i> , <i>Enterobacter spp</i> et <i>Serratia</i>
<b>KTG</b>	: Kanamycine, Tobramycine et Gentamycine
<b>Méthi R</b>	: Methicilline résistant
<b>MLS</b>	: Macrolide, lincosamine, streptogramine
<b>MSAS</b>	: Ministre de la Sante et l'action sociale
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>Pase</b>	: Pénicillinase

<b>PBN</b>	: Pénicillinase de bas niveau
<b>PHN</b>	: Pénicillinase de Haut niveau
<b>PS</b>	: Phénotypes sauvage
<b>R</b>	: Résistant
<b>RAM</b>	: Résistance aux antimicrobiennes
<b>S</b>	: Sensible
<b>SARM</b>	: Staphylocoque Aureus Résistant à la Méthicilline
<b>SCN</b>	: Staphylocoque coagulasse négative
<b>SIDA</b>	: Syndrome immunodéficience acquise
<b>spp.</b>	: Espèces non identifiées ou non encore décrites au sein d'un genre
<b>SRIS</b>	: Syndrome de la réponse inflammatoire systémique
<b>TCE</b>	: traumatisme cranio-encéphalique
<b>VIH</b>	: Virus immunodéficience humaine
<b>VP</b>	: Voges proen
<b>VRSA</b>	: Vancomycin résistant <i>Staphylococcus aureus</i>

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Schéma illustrant les différents cibles et mécanismes de résistance aux antibiotiques .....	26
<b>Figure 2:</b> Répartition de la tranche d'âge .....	32
<b>Figure 3:</b> Répartition des hémocultures positives selon le service demandeur de l'examen.....	33
<b>Figure 4:</b> Répartition des hémocultures positives selon l'indication clinique ...	34
<b>Figure 5:</b> Répartition selon le germe isolé .....	35
<b>Figure 6:</b> Distribution des germes selon les services.....	36
<b>Figure 7:</b> Profil global de résistance aux Bêta-lactamines.....	37
<b>Figure 8:</b> Profil global de résistance aux aminosides, quinolones et macrolides .....	38
<b>Figure 9:</b> Profil global de résistance aux cyclines, phénicolés, glycopetides et autres .....	39
<b>Figure 10:</b> Profil de résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines .....	40
<b>Figure 11:</b> Profil de résistance des entérobactéries aux autres antibiotiques ....	40
<b>Figure 12:</b> Répartition des BLSE.....	41
<b>Figure 13:</b> Répartition des entérobactéries selon le phénotype de résistance des bêta-lactamines.....	41
<b>Figure 14:</b> Profil de résistance des <i>Pseudomonas spp.</i> .....	42
<b>Figure 15:</b> Profil de résistance des <i>Acinetobacter spp.</i> .....	43
<b>Figure 16:</b> Profil de résistance des <i>S. aureus</i> .....	44
<b>Figure 17:</b> Répartition des phénotypes de résistance par service.....	45

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau I :</b> Aspect des flacons positifs et orientation bactériologique .....	12
<b>Tableau II :</b> Caractères socio-épidémiologiques .....	32
<b>Tableau III :</b> Distribution des groupes de germes selon les services .....	37

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>PREMIERE PARTIE .....</b>	<b>4</b>
I. L'hémoculture.....	5
I.1. Définition.....	5
I.2. Intérêt .....	5
I.3. Indications .....	5
I.4. Technique .....	6
I.4.1. Paramètres .....	6
I.4.1.1. Paramètres pré-analytiques .....	6
I.4.1.2. Paramètres analytiques .....	8
I.4.2. Etude bactériologique .....	11
I.5. Principaux germes isolés dans les hémocultures .....	15
I.5.1. Cocci à Gram+.....	16
I.5.1.1. Les streptocoques .....	16
I.5.1.2. Les entérocoques .....	17
I.5.1.3. Genre <i>Staphylococcus</i> .....	17
I.5.2. Cocci à Gram-.....	18
I.5.2.1. <i>Neisseria meningitidis</i> .....	18
I.5.3. Bacilles à Gram Négatif.....	18
I.5.3.1. <i>Enterobacteriaceae</i> .....	18
I.5.3.2. Autres Bacilles à Gram-.....	19
I.5.4. Généralité sur les Bacilles à Gram positif .....	19
II. La résistance antimicrobienne/ La résistance antibactérienne .....	20
II.1. Définition.....	20
II.2. Intérêt .....	20
II.3. Epidémiologie / ampleur du problème .....	20

II.4. Techniques d'antibiogramme .....	21
II.4.1. Technique de diffusion .....	21
II.4.2. Autres techniques.....	23
II.5. Notion de résistance antimicrobienne.....	24
II.5.1. Définition .....	24
II.5.2. Types de résistances.....	25
II.5.2.1. Résistances naturelles : transmission verticale .....	25
II.5.2.2. Résistances acquises : transmission horizontale .....	25
II.5.3. Mécanismes de résistance .....	26
II.5.3.1. Modification de la cible .....	27
II.5.3.2. Défaut de perméabilité .....	27
II.5.3.3. Action d'enzymes .....	27
<b>DEUXIEME PARTIE.....</b>	<b>28</b>
I. Matériel et méthode .....	29
I.1. Type d'étude, Cadre et période d'étude.....	29
I.2. Echantillonnage .....	29
I.3. Collecte de données .....	30
I.4. Variables collectées .....	30
I.5. Outils d'exploitation .....	30
I.6. Equipement du laboratoire pour l'hémoculture .....	30
I.7. Techniques.....	31
II. Résultats .....	32
II.1. Caractères socio-épidémiologiques des hémocultures positives .....	32
II.2. Germes isolés.....	35
II.3. Résistance et sensibilité aux antibiotiques .....	37
III. Discussion.....	46
<b>CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS .....</b>	<b>52</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>55</b>
<b>ANNEXES</b>	

# INTRODUCTION

La résistance aux antibiotiques est un phénomène mondial qui ne connaît ni frontières géographiques et ni barrières d'espèce. Elle touche aussi bien les pays à faible revenu et à revenu intermédiaire que les pays plus développés. Il s'agit d'un problème particulièrement complexe qui s'accroît mondialement, menace notre capacité à traiter des infections bactériennes et compromet de nombreuses avancées médicales et en santé publique. La résistance aux anti-infectieux pourrait être responsable de plus de 10 millions de décès par an et en devenir ainsi la première cause à l'horizon 2050, entraînant un coût économique de 100 milliards de dollars américains de perte [35]. L'impact important de l'antibiorésistance en matière de morbi-mortalité au niveau européen a été confirmé en 2018 par une modélisation mathématique publiée par le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) et l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) [15]. La résistance aux antimicrobiens (et en particulier aux antibiotiques) progresse et il n'y a guère de perspectives de mise au point de nouvelles classes d'antibiotiques à court terme. Ainsi que pour une bonne élaboration et un choix d'une antibiothérapie efficace, il faut connaître le profil de sensibilité des germes responsables d'infection. C'est tout l'intérêt porté à la RAM, s'y ajoutant une fréquence croissante des infections nosocomiales ces dernières années, dont la prévalence atteint les 17% selon des auteurs [10]. L'antibiorésistance menace le cœur même de la médecine moderne et la viabilité à long terme d'une riposte efficace de la santé publique mondiale. Face à la menace constante des maladies infectieuses, des médicaments antimicrobiens efficaces, sont indispensables pour les mesures curatives comme pour les mesures préventives [64]. Cette menace est préoccupante en Afrique, une étude multicentrique regroupant 11 pays dont le Sénégal a révélé 56% de *Salmonella typhi* multirésistants [67]. Au Sénégal, des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées chez les patients hospitalisés dans les unités de soins intensifs ont été productrices de bêta-lactamase à 31,7% [12]. L'examen d'hémoculture est fortement indiqué dans les infections généralisées, les infections des organes



profonds, en général dans les pathologies infectieuses et la recherche de porte d'entrée. L'hémoculture est une technique de laboratoire dont le but est de mettre en évidence la présence ou l'absence de microorganismes (bactéries et levures) pathogènes dans le sang et d'étudier leur sensibilité aux différents antibiotiques. L'hémoculture n'est pas systématiquement effectuée dans nos pays à ressources limitées en cas d'indication, où les prescripteurs ont souvent recours aux traitements probabilistes. La connaissance des principales espèces bactériennes responsables de bactériémies et le profil de sensibilité aux antibiotiques permettent une antibiothérapie probabiliste des infections [86]. C'est dans ce contexte, que nous avons mené cette étude dont l'objectif général est de déterminer le profil de résistance phénotypique aux antibiotiques des souches isolées dans les hémocultures. Spécifiquement, il s'agira de déterminer :

- La fréquence des hémocultures positives
- Les germes isolés dans les prélèvements d'hémoculture
- Le profil de résistance de ces germes isolés
- Contribuer à la documentation de la résistance aux antibiotiques dans la région de Thiès

Ainsi, le document abordera dans la première partie la revue bibliographique, la deuxième partie l'exposé du matériel et des méthodes d'étude, les résultats, la discussion, la conclusion et recommandations.

# **PREMIERE PARTIE**

## **I. L'hémoculture**

### **I.1. Définition**

L'hémoculture est une technique de laboratoire dont le but est de mettre en évidence la présence ou l'absence de microorganismes (bactéries et levures) dans le sang et d'étudier leur sensibilité aux différents antibiotiques [32]. Dans certains cas, elle peut permettre de contrôler l'efficacité du traitement en cours [39].

### **I.2. Intérêt**

La technique d'hémoculture est décrite pour la première fois par Jacques Doleris. Rosembach, en 1884, est l'un des premiers à avoir obtenu une hémoculture positive au cours de l'évolution de la maladie. L'hémoculture a un double intérêt diagnostique et thérapeutique [49]. La diversité des états infectieux, explique sa prescription presque systématique en milieu hospitalier [80]. L'hémoculture représente le moyen le plus sûr d'identifier le germe responsable d'une septicémie, mais elle exige un délai souvent incompatible avec l'urgence de la situation. Les bactéries responsables de septicémie ou de bactériémie sont très variées. L'hémoculture, qui est un examen capital en pathologie infectieuse, n'est pas toujours pratiquée dans les normes recommandées, particulièrement dans certains hôpitaux en Afrique subsaharienne. Devant cette situation, le clinicien est souvent contraint d'effectuer un traitement probabiliste, en fonction de l'examen clinique du patient, et de l'épidémiologie locale des pathologies infectieuses [53, 69].

### **I.3. Indications**

Cet examen est indiqué devant tout syndrome infectieux associé à un contexte évocateur (infection récente ou en cours, chirurgie récente, présence d'une valve cardiaque prothétique, prothèse orthopédique, personne immunodéprimée), faisant suspecter un sepsis :

- Fièvre  $>$  ou  $= 38,5$  °C ;
- Hypothermie  $< 36,5$  °C ;

- Accélération du rythme cardiaque, augmentation du temps de recoloration cutané, détresse respiratoire, baisse du débit urinaire, défaillance d'organes.
- Fièvre prolongée ou inexpliquée ;
- Suspicion d'endocardite infectieuse ;
- Personne porteuse d'un cathéter périphérique ou central, chambre implantable, sonde ou prothèse orthopédique, qui présente une fièvre supérieure à 38,5 °C ou inférieure à 36,5 °C ; complication d'un foyer suppuré tel qu'une infection dentaire, un furoncle ou un abcès.

Le terme septicémie est de plus en plus abandonné au profit de *sepsis* et de syndrome de réponse inflammatoire systémique. Le syndrome de réponse inflammatoire systémique (SIRS) est caractérisé par la présence d'au moins deux des symptômes cités ci-dessus. On parle alors de *sepsis* si ces symptômes sont associés en même temps d'un foyer infectieux [47,74].

## **I.4. Technique**

### **I.4.1. Paramètres**

Afin de diminuer le risque de faux positifs et d'identifier avec certitude la où les bactérie(s) incriminée(s), certains paramètres techniques sont à prendre en compte [2].

#### **I.4.1.1. Paramètres pré-analytiques**

Ils sont essentiels pour obtenir des résultats de qualité [39].

##### **❖ Moment du prélèvement**

Le moment du prélèvement est capital. Pour une bactériémie discontinue, la recommandation internationale est en faveur du moment des frissons ou d'un clocher thermique pouvant correspondre à une décharge bactérienne. Au cours des états fébriles prolongés et inexpliqués, le moment du prélèvement importe peu. Le prélèvement doit être effectué avant toute antibiothérapie dans la mesure

du possible. Dans le cas contraire, une fenêtre thérapeutique de cinq jours est opérée pour effectuer les prélèvements. Ces prélèvements sont effectués de préférence à un intervalle d'environ une heure pour 2 à 3 hémocultures [44].

### ❖ **Volume sanguin**

Le nombre de bactéries par ml de sang étant en général faible, il importe de prélever une quantité suffisante de sang. Pour l'adulte, 10 ml par ponction veineuse périphérique. La veine du pli du coude est la plus indiquée. Chez l'enfant ou le nouveau-né, le volume de sang à prélever doit être déterminé par le médecin traitant. Pour le nouveau-né, il est souvent difficile d'obtenir plus d'1 à 2 ml de sang. Chez l'enfant 2 à 5 ml de sang peuvent suffire [44, 92].

### ➤ **Technique de prélèvement**

#### ✓ **Désinfection cutanée**

Le prélèvement doit être effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Si les recommandations de l'O.M. S sont précises en matière de ponction veineuse, un accent particulier est mis sur l'antisepsie pour l'hémoculture. L'antiseptique de choix est la teinture d'iode qui est bactéricide. Pour des sujets présentant une allergie connue à l'iode, l'utilisation du Chlorhexidine alcoolique est recommandée. Le choix peut être aussi porté sur la Bétadine dermique® ou à défaut de l'alcool iodé. La désinfection cutanée constitue une étape primordiale pour diminuer les contaminations. En effet, certains auteurs décrivent que plus de 15% des hémocultures positives sont contaminées lors du prélèvement par la flore cutanée et environnementale [24, 44].

#### ✓ **Mode de prélèvement**

Les modes de prélèvement sont variables. Le système est constitué d'une tubulure munie à chaque extrémité d'une aiguille permettant l'une à la ponction veineuse et l'autre à l'inoculation des flacons. D'autres utilisateurs emploient simplement

une seringue stérile montée avec laquelle ils ensemencent les flacons au lit du malade [44].

#### **I.4.1.2. Paramètres analytiques**

Différents facteurs influent sur la positivité d'une hémoculture [44].

##### **❖ Faible densité bactérienne**

Les bactéries sont le plus souvent en simple transit passif dans le sang. Le nombre de bactéries mis en culture, est alors faible et souvent de l'ordre de 1 bactérie/ml. Il est donc nécessaire d'ensemencer plusieurs ml de sang dans divers flacons et à plusieurs reprises pour majorer les chances de positivité d'une hémoculture.

Les répétitions des cultures permettent de :

- diminuer les chances de manquer une bactériémie transitoire.
- Confirmer le rôle pathogène d'isollements "saprophytes" tel que *Staphylococcus epidermidis*, si l'on les retrouve dans plusieurs prélèvements veineux.

Une augmentation de volume entraîne une augmentation de la sensibilité [90].

##### **❖ Vitalité bactérienne**

L'activation des différents mécanismes de défense de l'organisme, suite à une bactériémie, affecte la vitalité des corps bactériens captés lors du prélèvement.

Plusieurs éventualités se présentent :

- les corps bactériens sont intacts : ils sont soit libres dans le plasma en phase de multiplication ou bien ils correspondent à des bactéries au repos,
- les corps bactériens lésés ou masqués du fait du système immunitaire ou l'effet des antibiotiques,
- les corps bactériens sous forme "L" : correspondent à des bactéries déficientes nutritionnelles.

La faible densité bactérienne, l'état lésé des corps bactériens et la phagocytose, expliquent le retard dans la mise en évidence de la positivité d'une hémoculture par rapport à la rapidité d'obtention des cultures de repiquage au laboratoire [90].

### ❖ Milieux de culture

De très nombreux milieux présentés en flacon sous pression réduite, permettant l'ensemencement direct à travers un opercule de caoutchouc, sont proposés par les fabricants. Pour favoriser la multiplication des corps bactériens en faible densité, captés lors du prélèvement, il est nécessaire de procéder à une primo-culture [90].

#### ➤ Choix du bouillon

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

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

Un accent est mis sur la quantité de bouillon à ensemer. Dans l'idéal, l'OMS recommande de mélanger le sang avec dix fois son volume de bouillon soit pour 5 ml de sang un équivalent de 50 ml de bouillon [44, 90].

#### ➤ Facteurs de croissance

Certaines bactéries telles que les Streptocoques responsables de certaines endocardites ont des besoins spécifiques pour leur croissance. Aussi, les bouillons doivent être enrichis d'additifs. Ces facteurs sont le plus souvent présents dans le sang du prélèvement. L'hémine, la vitamine K3, favorisent le développement des bactéries exigeantes et des anaérobies [90].

### ➤ **Atmosphère**

La plupart des milieux commercialisés ont une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> et en Azote. L'enrichissement en oxygène pour les germes aérobies se fait au moment du prélèvement [44].

### ➤ **Anticoagulants**

Outre son rôle d'inhibition de la coagulation sanguine, il vise aussi à neutraliser les effets antibactériens du sérum et des phagocytes. Une concentration à 0,025% limite son effet inhibiteur sur la croissance des *Neisseria* et des *Peptostreptococcus*. L'anticoagulant habituellement utilisé est le Polyanéthol Sulfonate de Sodium. D'autres anticoagulants tels que le citrate, l'héparine sont aussi utilisés [44].

### ➤ **Saccharose**

Une concentration de 10 à 15% de saccharose éviterait la lyse des bactéries à paroi déficiente. Son efficacité n'est cependant pas encore démontrée [44].

### ➤ **Molécules à groupement «thiol» ou «pyridoxal»**

Elles favorisent la croissance des bactéries et de certains Streptocoques déficients. Le groupement thiol neutralise un certain nombre d'antibiotiques, notamment les aminosides [44].

### ➤ **Inhibiteurs d'antibactériens**

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



## ❖ Flacons d'hémoculture [25]

### ➤ Constitution des flacons

De très nombreux milieux sont présentés par les fabricants en flacons sous pression réduite, permettant l'ensemencement direct à travers un opercule de caoutchouc. Ils contiennent le bouillon nécessaire pour la primo culture du prélèvement sanguin.

### ➤ Typologie des flacons

Malgré la diversité des flacons sur le marché, deux types de flacons sont généralement proposés au clinicien en pratique courante pour respecter le type respiratoire des micro-organismes :

#### ✓ Flacons aérobies

Grâce à leur atmosphère enrichie en oxygène, ils favorisent la croissance et la multiplication des bactéries aérobies strictes rencontrées en clinique. Le milieu de culture est mono ou biphasique.

#### ✓ Flacons anaérobies

Ces flacons grâce au bouillon spécifique qu'ils renferment, favorisent la culture des bactéries anaérobies strictes.

A cote de ces flacons classiques, il y'a aussi d'autres types de flacons :

#### ✓ Flacons spéciaux

D'autres types de flacons sont proposés en fonction de la clinique du patient par les fabricants, pour recherche de Mycobactéries et de champignons.

### I.4.2. Etude bactériologique

Dès réception au laboratoire les flacons doivent être incubés à l'étuve (35-37°C) et inspectés régulièrement [25].

## ❖ Détection manuelle

### ➤ Inspection journalière

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

- un dépôt flocculeux au-dessus de la couche d'hématies ;
- un trouble uniforme ou situé juste sous la surface ;
- une hémolyse ;
- une coagulation du bouillon ;
- une pellicule de surface ;
- la production de gaz carbonique ;
- la présence de grains blancs à la surface ou à l'intérieur de la couche de sang.

La durée d'observation varie de 10 jours à un mois surtout pour les bactéries à culture lente [25, 39].

**Tableau I** : Aspect des flacons positifs et orientation bactériologique [25]

Aspect des flacons	Orientation bactériologique
<b>Turbidité</b>	Bacilles à Gram négatif aérobies, <i>Staphylocoque</i> , <i>Bacteriodes</i> ..
<b>Hémolyse</b>	<i>Streptocoque</i> , <i>Staphylocoque</i> , <i>Listeria</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i>
<b>Production de gaz</b>	Bacilles à Gram négatif aérobies anaérobies
<b>Coagulum</b>	<i>Staphylocoque aureus</i>

Toute positivité d'un flacon entraîne un examen microscopique.

### ➤ **Examen microscopique**

Devant une croissance visible, le flacon est ouvert aseptiquement et une petite quantité de bouillon est prélevée à l'aide d'une anse stérile ou d'une pipette Pasteur. Un frottis coloré par la méthode de Gram permet de repérer la présence de germe. Le prélèvement du bouillon peut être exécuté à l'aide d'une seringue montée après désinfection de l'opercule de caoutchouc. Un examen microscopique est complété par des repiquages sur milieux solides [25].

### ➤ **Repiquage et isolement - Identification**

La réalisation des repiquages se fait en ensemençant en stries le contenu d'une anse ou d'une goutte de bouillon prélevée à la seringue, sur des milieux solides appropriés. Sur les ballons sans troubles visible ni changement d'aspect, des tests de stérilité sont effectués à J3 et/ou J10.

L'identification du germe se fera selon l'aspect des colonies sur des différents milieux de repiquage. Dans des conditions où les risques de souillure sont élevés, il est possible de procéder à des subcultures « à l'aveugle » [25, 11].

### ❖ **Détection automatisée**

Divers automates (BD BACTEC®, Bio Argos, VITEK® 2, Bact Alert, Organon Technica) permettent aujourd'hui de détecter les hémocultures positives par la mise en évidence de produits métaboliques générés par la croissance bactérienne. Avec les automates, une durée de 5 jours a été validée. Ces méthodes permettent un rendu beaucoup plus précoce des résultats. Leur seul inconvénient est le coût onéreux. Différents systèmes plus sophistiqués sont proposés mais ils n'ont pas fait la preuve évidente d'une supériorité pour la détection de positivité des hémocultures [16, 55, 83].

### ❖ **Résultats - Interprétation**

Les résultats d'une hémoculture peuvent revêtir deux aspects :

### ➤ **Résultats normaux**

Pour confirmer le diagnostic d'une septicémie, il faut s'assurer que toutes les conditions techniques ont été réunies. Par ailleurs, un résultat positif isolé peut être dû à une simple bactériémie physiologique ou encore la traduction d'une contamination exogène du prélèvement par les bactéries de la peau ou de l'air.

### ➤ **Résultats pathologiques**

L'interprétation des résultats est parfois délicate et nécessite une étroite collaboration entre le clinicien et le microbiologiste. Schématiquement, on peut distinguer différents types de résultats [54] :

#### ✓ **Premier cas**

La même espèce bactérienne est isolée sur plusieurs flacons d'hémocultures du même patient. L'interprétation est aisée, cette bactérie est considérée comme responsable même si elle n'est pas reconnue comme une bactérie pathogène opportuniste.

Cependant les hémocultures positives d'un patient peuvent être polymicrobiennes, leur interprétation est plus difficile. La localisation du foyer infectieux permet de régler en général le problème. Ils sont surtout observés lors de port continu de cathéter ou chez les patients immunodéprimés et très souvent chez les agonisants [74].

#### ✓ **Deuxième cas**

Sur l'ensemble des hémocultures pratiquées chez un malade, une seule est positive. L'interprétation consistera ici à démontrer que le germe isolé provient ou non d'une contamination :

- S'il s'agit d'une bactérie pathogène spécifique (B.P.S.), elle peut être considérée comme responsable.
- S'il s'agit au contraire d'une bactérie peu fréquemment retrouvée comme germe de souillure, en l'occurrence les Entérobactéries, les Streptocoques,

elle peut être considérée comme responsable surtout si le foyer infectieux est évocateur ou si le contexte clinique est en faveur de sa responsabilité [74].

### ✓ Troisième cas

Toutes les hémocultures réalisées sont négatives. Un tel résultat est un bon argument pour éliminer une septicémie, à condition bien sûr que les conditions de réalisation aient été scrupuleusement observées. C'est ainsi qu'il a été démontré que 0,3 à 15,3% des flacons d'hémoculture contenant initialement un microorganisme ne donnent pas de signal positif. Ces faux-négatifs peuvent être provoqués par [74] :

- un délai trop important entre la réalisation du prélèvement et la mise en culture, il peut être fatal à certaines bactéries fragiles.
- un mauvais remplissage du flacon peut également être responsable de faux négatifs.
- une infection décapitée, pour près de 50% des patients souffrant de sepsis et recevant une antibiothérapie, les hémocultures réalisées sont négatives alors que l'infection est bien réelle.

Les résultats de l'hémoculture en cas de positivité doivent cependant être complétés par l'étude de l'activité des substances antibactériennes en vue d'une antibiothérapie en rapport avec la clinique du patient. La confrontation entre les résultats de laboratoire et la clinique s'avère donc indispensable à toutes les étapes du diagnostic [54, 74].

### **I.5. Principaux germes isolés dans les hémocultures**

Il convient tout d'abord de distinguer les bactériémies vraies des contaminations. Si les bactériémies vraies sont le plus souvent mono microbiennes, une hémoculture positive poly microbienne oriente plutôt vers une contamination du prélèvement. Les *Bacillus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium* (bactéries de

la flore cutanéomuqueuse) sont des contaminants dans plus de 95% des cas, les *Staphylocoques coagulase négative* à 85%, les *Entérocoques* à 20%, et les *Streptocoques alpha viridans* à 60%. Ces germes peuvent être parfois responsables de bactériémies vraies. La distinction vrai/ faux positif pourra se faire en répétant les hémocultures chez le malade et surtout en tenant compte de la clinique [39, 70].

### **I.5.1. Cocci à Gram+**

#### **I.5.1.1. Les streptocoques**

Les Streptocoques appartenant au genre *Streptococcus*, sont des Cocci à Gram positif. Ils poussent sur milieux usuels enrichis de sang, sérum et/ou ascite. Les infections streptococciques, si diverses dans leurs manifestations cliniques, sont parmi les plus fréquentes et les plus sévères des infections bactériennes, en dépit des moyens thérapeutiques efficaces disponibles actuellement. La plupart des Streptocoques sont des commensaux habituels des cavités naturelles ou des téguments. Cette flore commensale (Streptocoques oraux, Streptocoques des groupes B, C, D, G, L et *Streptococcus pneumoniae*) peut devenir pathogène dans certaines circonstances particulières et être responsable d'un grand nombre d'infections streptococciques sévères. Les Streptocoques du groupe A, bien qu'ils puissent se trouver à l'état latent sur la muqueuse pharyngée de nombreux porteurs asymptomatiques, sont des bactéries très pathogènes chez l'homme [42]. Les souches de *S. pneumoniae* sont naturellement sensibles aux bêta-lactamines, notamment à la pénicilline G et à l'Amoxicilline avec des CMI inférieur à 0,06 mg/l. La détection d'une souche résistante à la pénicilline doit conduire à la détermination de la CMI des autres bêta-lactamines car il existe des résistances croisées à des niveaux variables. Le céfotaxime et l'imipénème restent généralement actifs. Environ 50% des souches sont résistantes aux Macrolides mais restent sensibles aux synergistines. Seuls les glycopeptides sont

constamment actifs. Il existe une résistance naturelle aux Aminosides, à l'acide fusidique, aux polymyxines et à la plupart des quinolones [1, 58].

#### **I.5.1.2. Les entérocoques**

Ce sont des Cocci à Gram positif, sphérique ou ovoïde, disposés en paire pour former des diplocoques pouvant se présenter sous forme de chaînettes parfois longues, ils ne se sporulent pas. Ils peuvent être considéré comme contaminants dans les hémocultures. Les entérocoques sont considérés comme contaminants dans les hémocultures, leur isolement doit être contextualisé pour une bonne interprétation [43].

#### **I.5.1.3. Genre *Staphylococcus***

Les Staphylocoques ont été découverts dans un pus par Pasteur en 1880. Les espèces appartenant au genre *Staphylococcus* possèdent une catalase et se développent en aérobiose [43]. La pénicilline G est très active sur les souches de *S. aureus* non productrices de pénicillinase, mais ces souches sont de plus en plus rares (inférieur à 10%). Les souches productrices d'une pénicillinase redeviennent sensibles à l'Amoxicilline en présence d'Acide clavulanique. Les Pénicillines semi-synthétiques du groupe M (méthicilline et oxacilline) ne sont pas détruites par la pénicillinase de *S. aureus*. Ces souches sont désignées comme Staphylocoque Aureus Résistant à la méthicilline (SARM) ou encore comme souches (méthi R). Cette résistance est aussi qualifiée d'homogène. En effet, pour certaines souches, seulement une partie de la population bactérienne est capable *in vitro*, dans des conditions techniques précises, d'exprimer sa résistance. La Vancomycine et la Téicoplanine sont des antibiotiques de recours pour traiter les septicémies et les endocardites dues à des souches de *S. aureus* multi résistantes. Leurs indications sont limitées aux infections mettant en jeu le pronostic vital et pour lesquelles aucune autre antibiothérapie n'est efficace. L'émergence de mutants résistants au cours de monothérapies par la vancomycine a été signalée

depuis 1997. Ces souches de moindre sensibilité aux Glycopeptides sont désignées comme GISA : *Glycopeptides Intermediate Staphylococcus aureus*.. [48, 50].

#### ❖ *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* est présent dans l'environnement (air, sol, aliments, mobilier, et matériels) vit fréquemment à l'état commensal sur la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux. *Staphylococcus aureus* est le plus dans les sepsis à endocardite [42, 89].

#### ❖ Autres Staphylocoques

La densité de colonisation des SCN est plus importante au niveau des régions situées à proximité des orifices ou les zones humides comme la partie antérieure des narines, le périnée, les creux axillaires et les plis inguinaux. Les SCN isolés de l'hémoculture sont considérés en grande partie comme contaminants, leur implication dans les bactériémies sont évalués suivant la porte d'entrée et les critères cliniques [41, 42].

### I.5.2. Cocci à Gram-

#### I.5.2.1. *Neisseria meningitidis*

*Neisseria meningitidis* ou méningocoque est un diplocoque à Gram négatif intracellulaire en majorité en forme de grain de café mesurant 0,8 à 1µm de diamètre, Il est responsable de la méningite cérébro-spinale épidémique. Elles peuvent parfois être responsable de pneumopathie ou de méningite [31, 42].

### I.5.3. Bacilles à Gram Négatif

#### I.5.3.1. *Enterobacteriaceae*

Les entérobactéries sont une vaste famille de bactéries qui sont rencontrées tous les jours en bactériologie médicale. Elles sont nommées ainsi parce que la plupart des espèces qui composent cette famille sont des hôtes, soit normaux, soit pathogènes, du tube digestif de l'homme et des animaux. En fait, la famille des



*Enterobacteriaceae* est définie par des caractères bactériologiques et non par des caractères écologiques. Les genres les plus souvent rencontrés en pathologie sont *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Arizona*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, *Yersinia*, *Edwardsiella*... Elles ont la capacité de développer des mécanismes de résistance aux antibiotiques. Les entérobactéries (en particulier *Enterobacter spp.*, *E. coli* et *K. pneumoniae* ) sont capables de produire des  $\beta$ -lactamases à spectre élargies. Les résistances acquises aux carbapénèmes sont rares. Ces  $\beta$ -lactamases et carbapénèmases sont responsable de sepsis sévères et de choc septique [76].

#### **I.5.3.2. Autres Bacilles à Gram-**

##### **❖ *Haemophilus influenzae type b* :**

C'est un bacille à Gram négatif immobile de petite taille (0,5 – 2,5), agent supposé de la grippe (influenza) reçoit le nom générique d'*Haemophilus* car il exige pour sa croissance des milieux enrichis au sang et une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> « *Haemophilus influenzae type b* » est un hôte exclusif des muqueuses de l'homme principalement au niveau des voies aériennes supérieures. *Haemophilus influenzae* est retrouvé dans les sepsis du nouveau-né [62].

##### **❖ *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* ou bacille pyocyannique est un commensal du tube digestif, mais peu abondant chez le sujet sain, occasionne de nombreuses infections chez le sujet fragilisé [6].

#### **I.5.4. Généralité sur les Bacilles à Gram positif**

Les bactéries à Gram positif sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de Gram. Les bactéries à Gram positif sont souvent considérées comme des contaminants dans l'hémoculture [31].

L'isolement et l'identification des germes dans l'hémoculture sont complété par l'antibiogramme pour déterminer leurs résistances avec les antibiotiques.

## **II. La résistance antimicrobienne/ La résistance antibactérienne**

### **II.1. Définition**

Selon L'OMS la résistance aux antimicrobiens résulte de l'aptitude de certain micro-organisme à supporter l'attaque d'un antimicrobien, tels que les antibiotiques, auquel il était jusque-là sensible. La résistance aux antimicrobiens est favorisée par une mauvaise utilisation des médicaments [65].

### **II.2. Intérêt**

C'est un problème de santé publique. La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. La résistance aux antibiotiques entraîne une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales et une hausse de la mortalité. En Europe, sur des données récoltées en 2007, le Centre européen de contrôle des maladies (ECDC) évalue à 25 000 le nombre de décès par an résultants de la résistance aux antibiotiques. Une surmortalité équivalente est observée aux Etats Unis par le CDC d'Atlanta. Les données manquent pour les pays à bas revenu, mais l'augmentation de la résistance dans ces pays, associée au manque d'accès à des antibiotiques sûrs sont probablement responsables de très nombreux décès. La surveillance des bactéries multi résistants responsables d'infections graves permet de limiter ce problème [36].

### **II.3. Epidémiologie / ampleur du problème**

La résistance aux antibiotiques atteint désormais des niveaux dangereusement élevés dans toutes les régions du monde. Selon l'OMS, en 2011 et 2012, la RAM touche 500000 personnes présentant des infections bactériennes présumés dans 22 pays. De nouveaux mécanismes de résistance apparaissent et se propagent dans le monde entier, compromettant notre capacité à traiter les maladies infectieuses courantes. De même, dans les pays dépourvus de guides thérapeutiques normalisés, les antibiotiques sont prescrits de manière excessive. La résistance

aux antimicrobiens se propage comme une pandémie silencieuse. Au Sénégal, une étude a montré une prévalence de BMR de 20,59% dans des hémocultures [20, 34].

Pour déterminer cette résistance aux antibiotiques, les laboratoires biomédicaux peuvent recourir à plusieurs techniques.

## **II.4. Techniques d'antibiogramme**

On distingue différentes méthodes d'étude de la sensibilité des germes, mais la plus utilisée généralement est celle de la diffusion sur gélose.

### **II.4.1. Technique de diffusion**

L'antibiogramme (ABG) doit être réalisé sur une culture pure, fraîche de 18 à 24 heures et correctement identifiée. Cette technique comporte plusieurs parties [4,40] :

#### **❖ Préparation de l'inoculum bactérien**

On prélève une colonie et on la met en suspension dans un tube à hémolyse contenant 1ml d'eau physiologique puis agitation au vortex. Ajuster la densité de l'inoculum à l'aide du densitomètre de façon à obtenir une dilution de 0,5 sur l'échelle de McFarland. Puis, on ajoute de l'eau physiologique ou un fragment de colonie selon que la valeur affichée par le densitomètre soit supérieure ou inférieure à 0,6 plus ou moins [4].

#### **❖ Dilution de l'inoculum**

On réalise une dilution au 1/10 qui consiste à prendre 1ml de l'inoculum à l'aide d'une pipette de pasteur d'une anse en platine et le mettre dans un tube à vis contenant 9ml d'eau physiologique [4].

### ❖ **Ensemencement**

Les boîtes sont au préalable séchées à l'étuve à 37°C. Puis :

- Tremper un écouvillon stérile sec dans l'inoculum dilué
- Eliminer l'excès en pressant l'écouvillon contre les parois du tube
- Ensemencer en stries serrées sur toute la surface de la boîte au moins à trois reprises en tournant chaque fois la boîte d'un angle de 60°
- Passer l'écouvillon sur le rebord de la gélose [4].

### ❖ **Choix des disques d'antibiotique**

Le choix des disques se fait en fonction de la famille, des genres, voire de l'espèce bactérienne. Ici il s'agit de tous les bêta-lactamines comme décrit dans le CA-SFM [4].

### ❖ **Disposition des disques d'antibiotique**

Elle se fait à l'aide des pinces stériles ou bien à l'aide d'applicateur de disque.

- Après dépôt sur gélose, appuyer légèrement sur le disque afin pour assurer un contact uniforme avec le milieu
- Respecter une distance de 30mm entre deux disques et 15mm entre le disque et le rebord de la boîte
- Disposer au maximum 7 disques sur une boîte ronde de 90mm de diamètre et 16 disques sur une boîte carrée de 120mm de diamètre.
- Pour la disposition des disques chez les entérobactéries, les bêta-lactamines contenant d'inhibiteurs (AMC, TCC ou PIT) sont entourées des céphalosporines de troisième génération (C3G) et un monobactam. Cette disposition permettra de déceler l'existence d'une bêta-lactamase (BLSE) parfois d'une synergie entre qui se présente en forme « d'un bouchon de champagne » [4].

### ❖ La lecture des boîtes

Elle s'effectue le lendemain. Il faut mesurer à l'aide d'un pied à coulisse ou avec une règle graduée et noter le diamètre d'inhibition (en mm) autour de chaque disque d'antibiotique. Les résultats obtenus sont interprétés en fonction des diamètres critiques figurants dans les tableaux fournis par le CA-SFM [4].

### ➤ Lecture interprétative

Elle est fondée sur le phénotype de résistance qui est déduit en fonction des diamètres obtenus. Il existe deux diamètres

- **D** qui est la concentration critique inférieure expliquant la **sensibilité** d'une souche à un antibiotique testé.
- **d** qui est la concentration critique supérieure qui montre la **résistance** d'une souche par rapport à l'antibiotique testé.

Enfin si la valeur est comprise entre ces deux valeurs D et d, on considère que la souche est de sensibilité intermédiaire. Enfin les diamètres de la zone d'inhibition sont interprétés à l'aide de tables révisées comme le CA-SFM annuellement par des organismes publics de même que les phénotypes [33, 40].

## II.4.2. Autres techniques

### ❖ Technique de dilution

Des dilutions d'un facteur deux d'une solution antibiotique sont réparties dans les puits d'une microplaque ou des tubes. Une suspension bactérienne préparée à partir de colonies isolées y est alors ajoutée. Après une incubation d'une nuit à 35°C, la croissance est contrôlée visuellement dans les puits et la CMI est déterminé sur le tube ou puit avant la première trouble [4].

### ❖ E-test

Des bandelettes imprégnées d'antibiotiques E-test par gradient de concentration sont déposés sur la gélose où a été préalablement étalée une suspension

bactérienne ( $1-2 \cdot 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>) permettant la formation d'un tapis bactérien après incubation. La lecture de la CMI s'effectue directement à partir de la concentration correspondant au début de l'inhibition de la croissance bactérienne [4, 40].

#### ❖ Techniques automatisées

Les automates peuvent effectuer l'antibiogramme de l'isolat. Le fonctionnement est donc très similaire, avec cette fois des « cartes d'antibiogramme » communes ou non avec celles d'identification, constituées d'une série de puits réactionnels contenant une quantité décroissante, en général d'un facteur 2, d'un antibiotique donné. Le multiplexage permet de déterminer simultanément la concentration minimale inhibitrice (CMI) de plusieurs antibiotiques [4, 82].

#### ❖ Autres lectures possibles

D'autres techniques moins utilisées en pratique courante, existent, pour l'identification et l'antibiogramme : des tests rapides, les techniques FISH, les techniques moléculaires, la spectrophotométrie de masse [13,17,18,29,52,75,91].

Une bonne technique d'antibiogramme permet de mieux déceler les résistances des germes aux antibiotiques

## II.5. Notion de résistance antimicrobienne

### II.5.1. Définition

La méthode de référence pour déterminer l'efficacité d'un antibiotique sur une souche bactérienne est la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par les méthodes de dilution in vitro. La valeur de la CMI permet de définir si une souche bactérienne est résistante.

La notion de résistance peut être définie selon différents points de vue :

- pour le microbiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle dispose d'un mécanisme de résistance augmentant la valeur de la CMI,

- pour l'épidémiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle a une CMI significativement différente de celle de la population sauvage [46].

### **II.5.2. Types de résistances**

La résistance bactérienne peut être naturelle ou acquise. Les bactéries sont dites multi résistantes aux antibiotiques lorsqu'elles ne sont plus sensibles à plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques (résistance à plus de 3 familles différentes) [88].

#### **II.5.2.1. Résistances naturelles : transmission verticale**

La résistance est dite naturelle si ce caractère est présent chez toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre (phénotypes sauvages) et délimite de ce fait le spectre d'activité de l'antibiotique.

Ex : Toutes les entérobactéries sont naturellement résistantes aux Pénicillines G et M. [88].

#### **II.5.2.2. Résistances acquises : transmission horizontale**

C'est l'acquisition des phénotypes de résistances durant l'évolution des gènes permettant d'échapper à certains antibiotiques. Ces gènes de résistances aux antibiotiques se situent soit sur les chromosomes bactérien, soit sur les éléments extrachromosomiques appelés les plasmides [88].

#### **❖ Résistances liées aux chromosomes**

La résistance chromosomique résulte d'une mutation chromosomique qui confère à la bactérie la possibilité de résister à un antibiotique. La mutation est un événement rare qui affecte une bactérie sur une population de  $10^7$  à  $10^9$  bactéries. Elle est spontanée c'est-à-dire n'intervient que comme l'agent de sélection en éliminant les populations sensibles et laissant subsister et croître les mutants résistants. La mutation est un événement stable et héréditaire, car les bactéries

filles ont les mêmes caractères de résistances que la bactérie parentale. Elle est spécifique, elle n'affecte qu'un seul antibiotique [68].

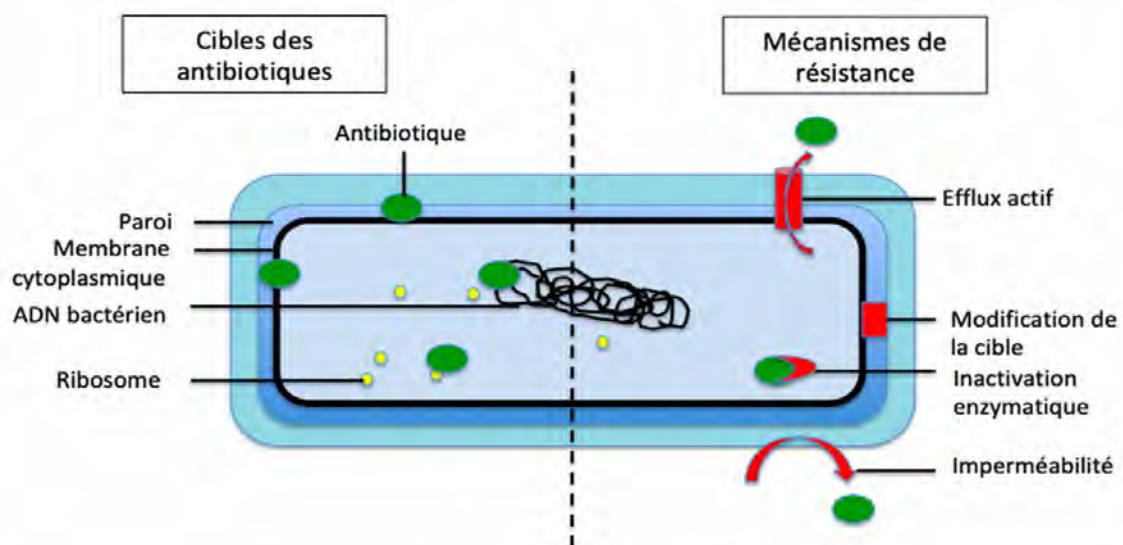
#### ❖ Résistances liées aux extrachromosomique ou plasmide

La résistance d'origine plasmidique est un phénomène d'une grande ampleur, car intéresse à plusieurs antibiotiques majeurs et elle s'exerce dans 90% des cas de résistance. Elle résulte de l'acquisition par la bactérie de fragments d'ADN extrachromosomique, les plasmides, qui ont la propriété de se répliquer indépendamment de l'ADN chromosomique et contiennent l'information génétique pour le mécanisme de résistance.

Les plasmides ou facteurs de résistance sont rencontrés principalement chez les Staphylocoques et les bacilles Gram à négatif [68, 88].

#### II.5.3. Mécanismes de résistance

La résistance aux antibiotiques peut résulter de plusieurs mécanismes : production d'une enzyme modifiant ou détruisant l'antibiotique, modification de la cible de l'antibiotique, imperméabilisation de la membrane de la bactérie... Tous ces mécanismes peuvent être isolés ou associés [7].



**Figure 1:** Schéma illustrant les différents cibles et mécanismes de résistance aux antibiotiques [7, 57].



### **II.5.3.1. Modification de la cible**

Un mécanisme fréquemment utilisé par les bactéries pour se soustraire à l'action des antibiotiques revient à produire des enzymes qui, en modifiant les cibles cellulaires, leur font perdre leur affinité pour les agents anti-infectieux. Dans le cas des macrolides, lincosamides et streptogramine B, la méthylation enzymatique de certains résidus adénine (A2058 chez *E. coli*) de l'ARN 23S empêche ces antibiotiques de se positionner correctement dans le domaine peptidyl-transférase et de bloquer dans la progression du néo-peptide dans le tunnel de sortie du ribosome.

### **II.5.3.2. Défaut de perméabilité**

A l'exception des polymyxines et peut être des aminosides, les antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram négatif traversent la membrane externe par diffusion passive à travers les porines. La diminution quantitative ou des modifications dans la région de construction interne de ces canaux protéiques peuvent freiner la pénétration intracellulaire des agents antibactériens et conférer, de ce fait, un bas niveau de résistance à plusieurs familles d'antibiotique.

### **II.5.3.3. Action d'enzymes**

Certains antibiotiques ne sont actifs qu'après avoir été modifié par des enzymes bactériennes. Par exemple, l'isoniazide (INH) et l'éthionamide (ETH) sont deux antituberculeux majeurs inhibant la synthèse des acides mycoliques pariétaux chez les mycobactéries par blocage de l'enoyle-ACP-réductase [68].

## **DEUXIEME PARTIE**

## **I. Matériel et méthode**

### **I.1. Type d'étude, Cadre et période d'étude**

Il s'agissait d'une étude rétrospective, transversale et descriptive sur une période de cinq ans allant de juin 2013 à mai 2018.

Le cadre d'étude était le service de laboratoire de biologie médicale du centre hospitalier régional de Thiès. Le personnel de ce laboratoire est composé de : 2 pharmaciens biologistes, 1 parasitologue, un médecin anatomopathologiste, un généticien, 12 techniciens supérieurs en biologie, 10 aide-laboratoire et préleveurs, 4 secrétaires, 1 agent administratif, 1 technicien de surface et 1 agent de sécurité. Le laboratoire comprend différentes unités dont l'hématologie, la biochimie, la séro-immunologie, l'anatomopathologie, la biologie moléculaire et la microbiologie. Dans l'unité de microbiologie, l'hémoculture était effectuée par la technique classique jusqu'en 2016, puis cette technique a été remplacée progressivement par la technique automatisée de BD BACTEC FX40. Le laboratoire fait partie des 25 sites accompagnés par la direction des laboratoires du Ministère de la santé et l'action sociale dans la mise en place d'un système de management qualité avec comme référence la norme 15189v2012.

### **I.2. Echantillonnage**

Nous avons effectué un échantillonnage exhaustif de toutes les hémocultures exploitables du laboratoire pendant la période d'étude. L'étude s'est réalisée à partir d'échantillons de prélèvement de sang venant de patients hospitalisés dans les différents services de l'hôpital régional de Thiès mais également d'autres hôpitaux.

Critère de sélection des échantillons : Toutes les hémocultures effectuées au laboratoire quelque soit l'origine du prélèvement, et ayant été bien renseigné dans le registre de donnée du service, ont été sélectionnées dans cette étude.

Par contre résultats celle dont le germe a été mal identifié et/ou l'antibiogramme n'a pas été bien renseigné dans le registre de donnée du service ont été écartées.

### **I.3. Collecte de données**

Nous avons collecté nos données à partir de :

- Registres d'enregistrement des analyses du laboratoire
- Registres de bactériologie
- Registres d'antibiogramme
- Fiches de collecte

### **I.4. Variables collectées**

Dans l'analyse des résultats, nous avons pris en compte les variables que sont :

- Age des patients
- Sexe des patients
- Diagnostic clinique
- Provenance des prélèvements
- Germes isolés
- Résistance/sensibilité aux antibiotiques.

### **I.5. Outils d'exploitation**

Une fois la collectes de données terminée, nous avons procédé à une:

- Saisie de données par Excel
- Exploitation de ces données par le logiciel SPPSS 16.0.

### **I.6. Equipement du laboratoire pour l'hémoculture**

Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé comme équipements :

- Etuve
- BD BACTEC FX40
- Autoclave

- Bec Benzen
- Densitomètre
- Microscope optique
- Outils et consommables de bactériologie classique.

### **I.7. Techniques**

Les différentes étapes de l'hémoculture sont détaillées dans la première partie. Il s'agissait :

- La prescription,
- Le choix des flacons d'hémoculture,
- Les conditions et le prélèvement,
- Incubation sur étuve ou automate BD BACTEC FX40) à 35-37C,
- Identification et d'antibiogramme par des méthodes classiques,

## II. Résultats

### II.1. Caractères socio-épidémiologiques des hémocultures positives

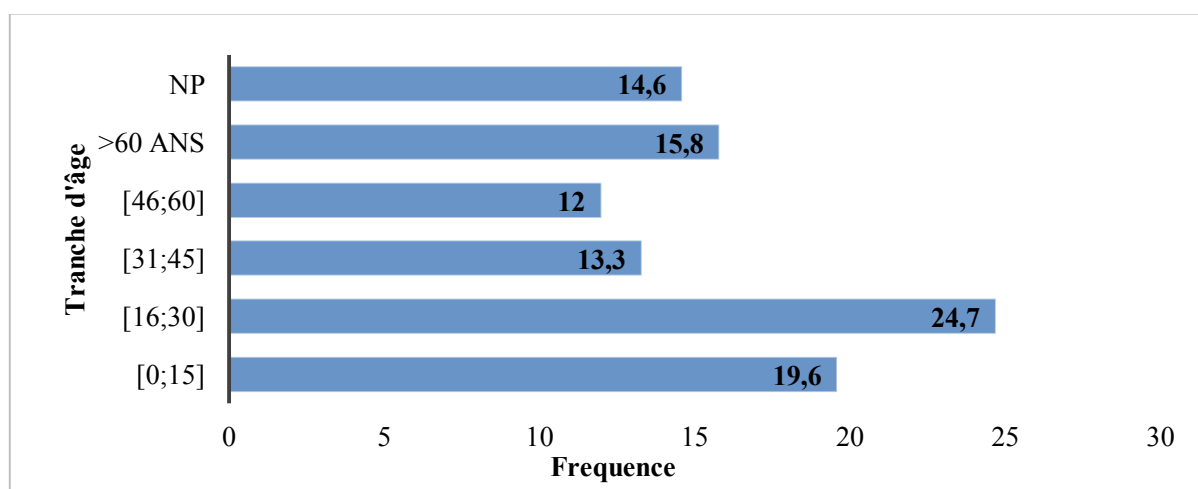
Durant la période d'étude (juin 2013-Mai 2018), 716 demandes d'hémocultures ont été collectées. Les caractères socio-épidémiologiques des patients ayant une hémoculture positive se présentait comme suit :

#### ❖ Caractères sociologiques

**Tableau II** : Caractères socio-épidémiologiques

Caractères		Description
<b>Hémocultures positives</b>		158 soit 22,07%
<b>Sexe</b>	<b>M</b>	77
	<b>F</b>	68
	<b>Non précisé</b>	17
<b>Sexe ratio H/F</b>		1,13
<b>Age</b>		3 jours - 89 ans

Les patients avec hémocultures positives représentaient 158 échantillons soit une fréquence de 22,07%. Le sex ratio était de 1,3. La tranche d'âge la plus représentée était celle entre [16 – 30 ans] suivie de la tranche [0 – 15]. La figure 2 montre la répartition selon la tranche d'âge.

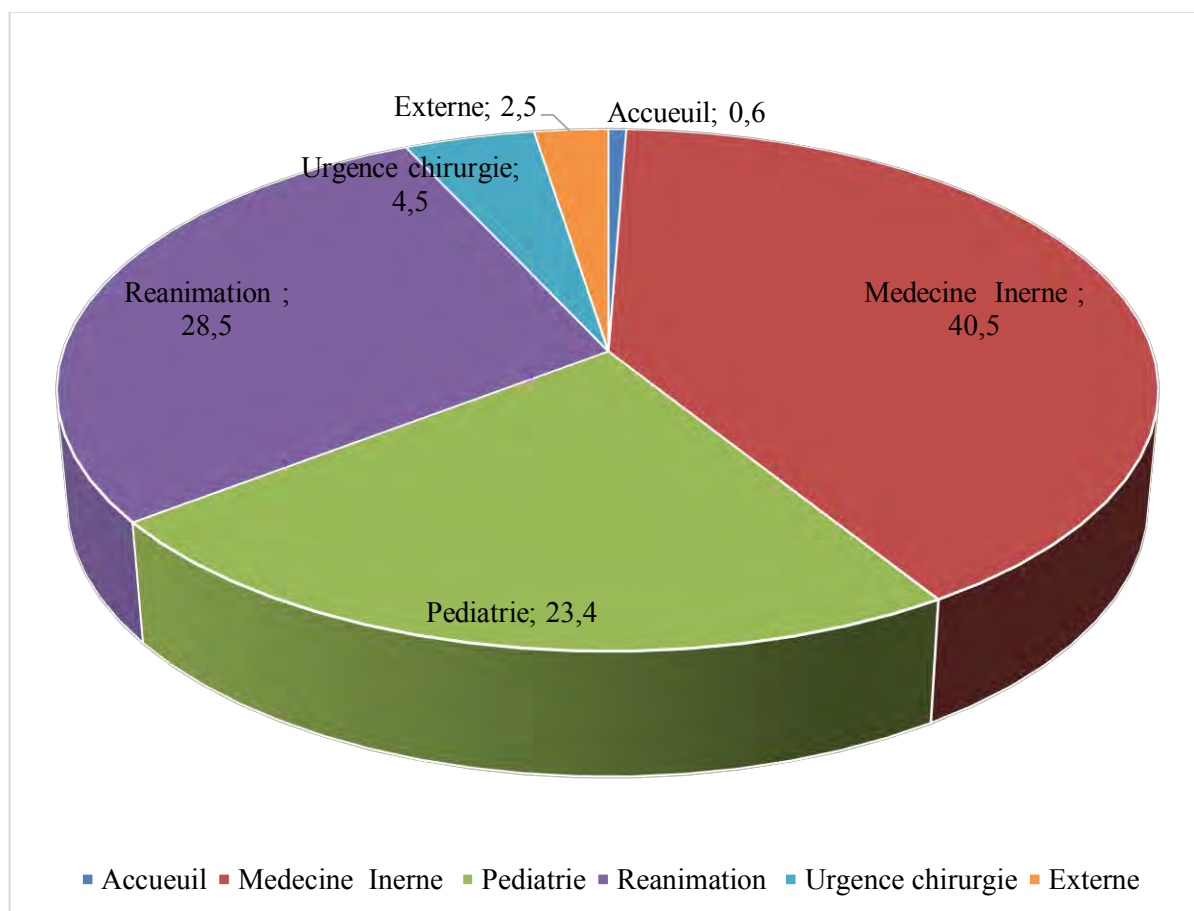


**Figure 2:** Répartition de la tranche d'âge

### ❖ Fréquence des hémocultures positives selon le service demandeur de l'examen

Le service d'hospitalisation de la Médecine qui regroupait la Médecine Interne, l'hospitalisation de la cardiologie et de la dermatologie présentait un pourcentage plus élevé d'hémoculture positive avec un taux de 40,5%, suivi de la réanimation puis et de la pédiatrie.

La figure 3 montre la répartition en fonction de la fréquence des hémocultures positives selon le service demandeur de l'examen.

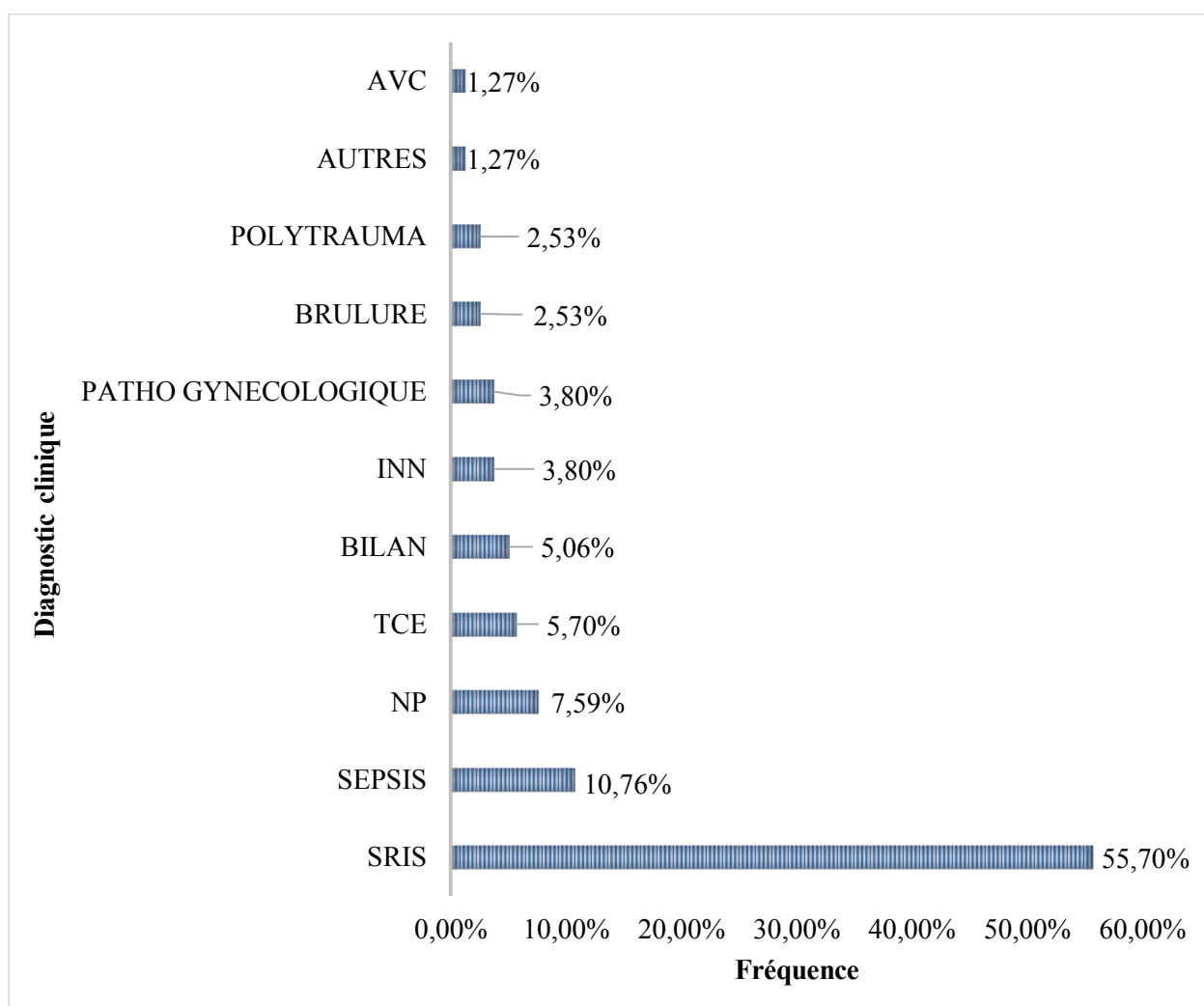


**Figure 3:** Répartition des hémocultures positives selon le service demandeur de l'examen

### ❖ Répartition des hémocultures positives selon le diagnostic clinique

Le diagnostic de SRIS représente le motif de demande d'hémoculture positive dans 55,70% (n=88) des cas. Les autres motifs de demande étaient : le SEPSIS (10,76%, n=17), les traumatismes cranio-encéphalique (5,70%, n=9), dans le cadre d'un bilan (5.06%, n=8), les pathologies gynécologiques et les infections néonatales dans les mêmes proportions chacun (3,80%, n=6).

La figure 4 représente la répartition des hémocultures positives selon l'indication clinique.



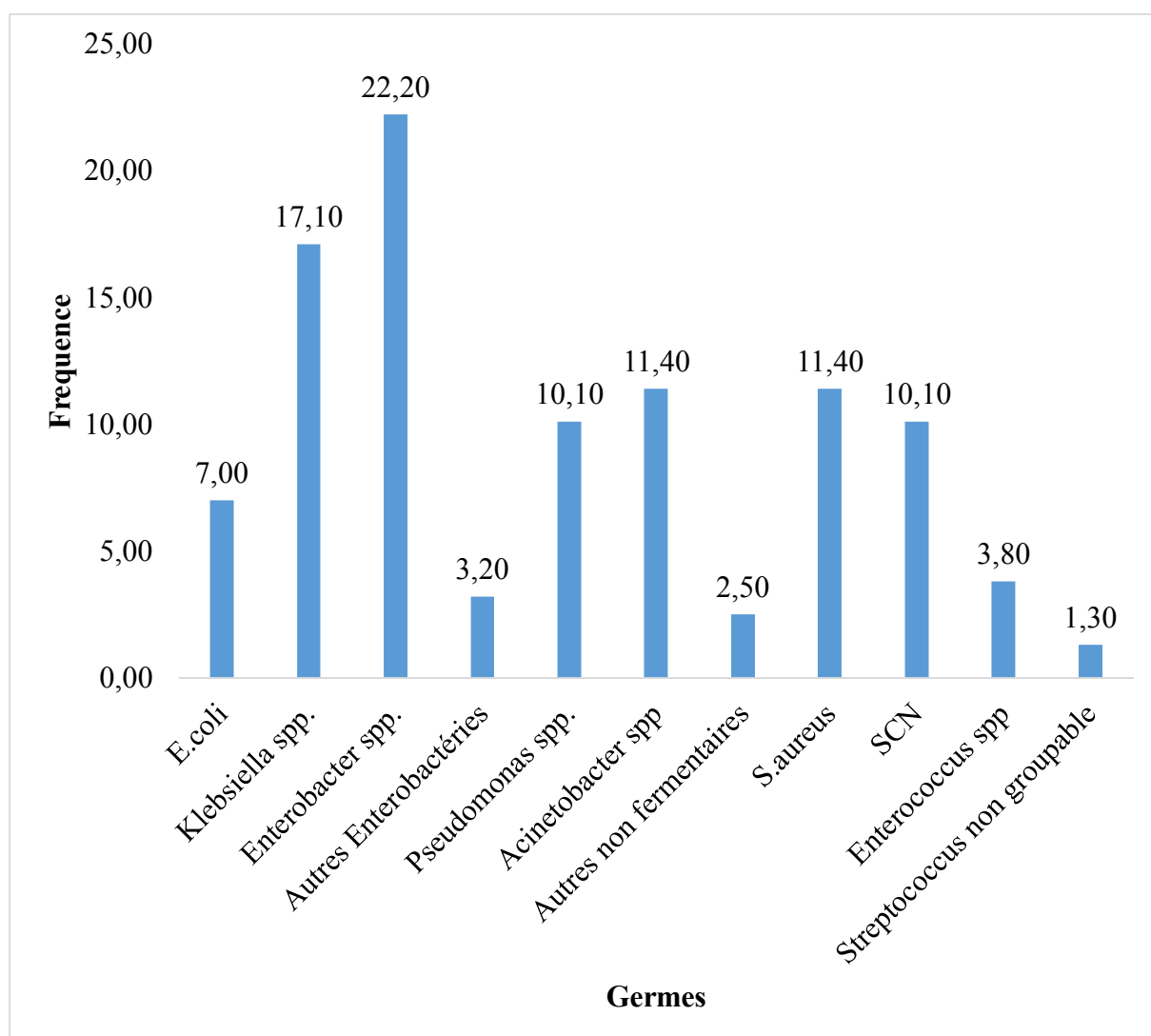
**Figure 4:** Répartition des hémocultures positives selon l'indication clinique



## II.2. Germes isolés

### ❖ Distribution globale des germes isolés

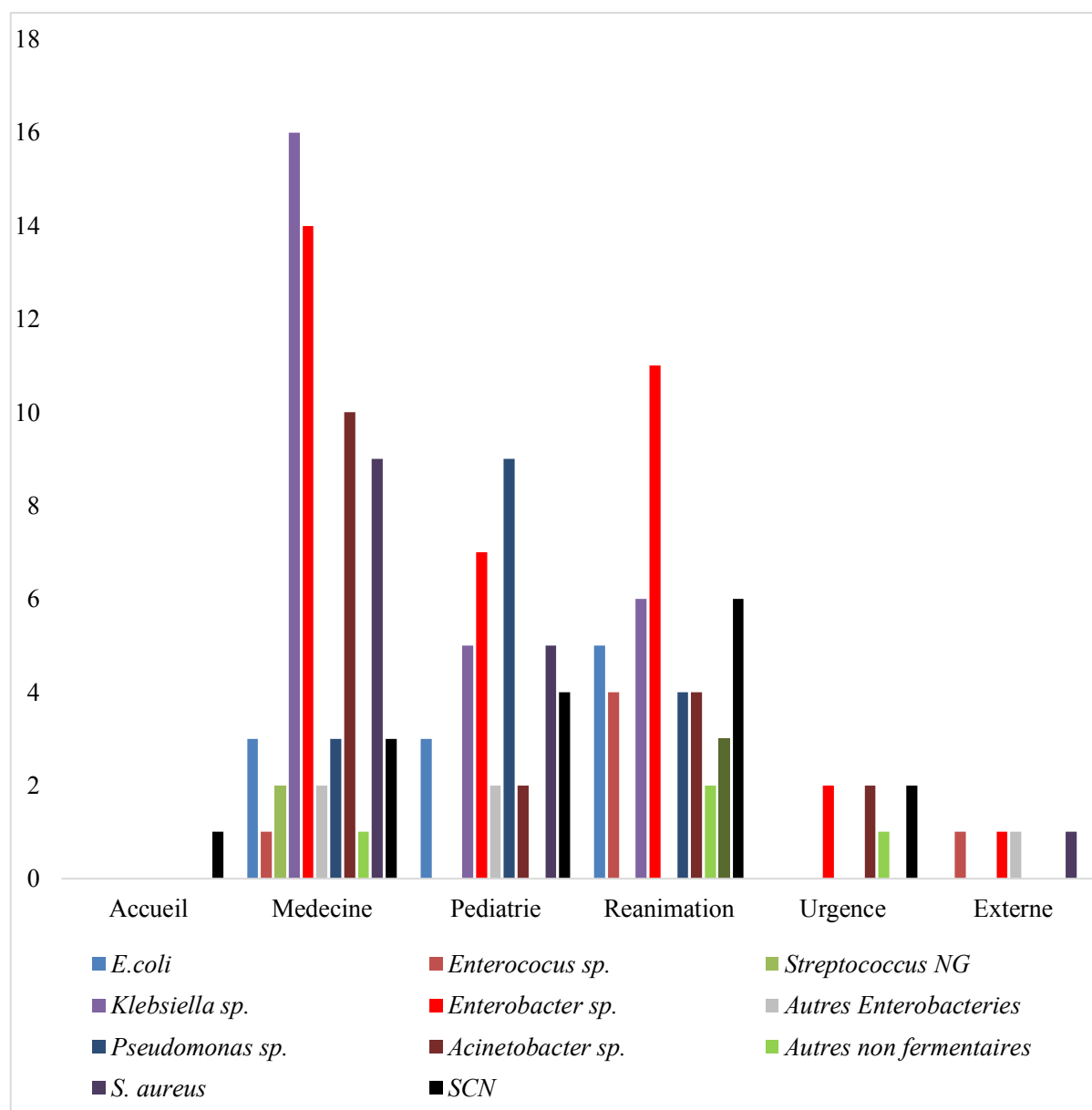
Les germes isolés étaient *Enterobacter spp.* dans 22,2% des cas, *Klebsiella spp.* dans 17,2% des cas, *Acinetobacter spp.* et *Staphylocoque aureus* chacun dans 11,4% des cas, *Pseudomonas spp.* et *Staphylocoque Coagulase Négatif* chacun dans 10,1% des cas. D'autres germes étaient retrouvés avec des proportions variables comme le montre la figure 5.



**Figure 5:** Répartition selon le germe isolé

### ❖ Distribution des germes selon les services

Les germes isolés au service de médecine interne étaient principalement *Klebsiella spp.* et *Entérobacter spp.* En pédiatrie, on notait l'isolement de *Pseudomonas spp.* et d'*Enterobacter spp.* En réanimation on notait une prédominance d'*Enterobacter spp.* de *Klebsiella spp.* et SCN. La figure 6 et le tableau IV illustre la répartition par service selon le germe isolé.



**Figure 6:** Distribution des germes selon les services

**Tableau III** : Distribution des groupes de germes selon les services

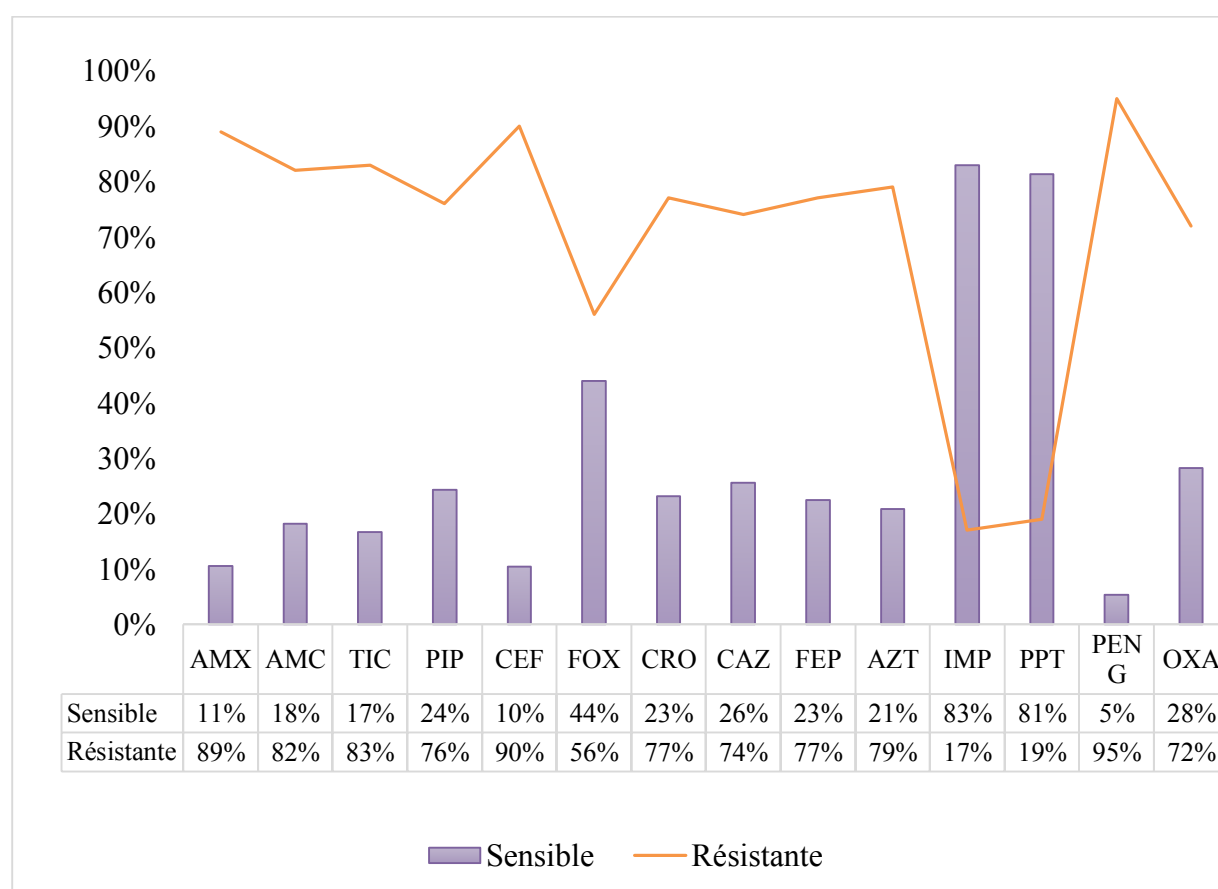
	Médecine	Pédiatrie	Réanimation	Urgence	Externe
<b>Entérobactéries</b>	35	17	22	2	2
<b>Non fermentaires</b>	14	11	10	3	0
<b><i>S.aureus</i></b>	9	5	3	0	1
<b>TOTAL</b>	58	33	35	5	3

### II.3. Résistance et sensibilité aux antibiotiques

#### ❖ Bêta-lactamines

La majorité des bêta-lactamines étaient largement inactives. Cependant, on notait pour les imipénème (carbapénèmes) et les Pipèracillines + Tazobactams un taux de résistance respectivement de l'ordre de 17% et 19%.

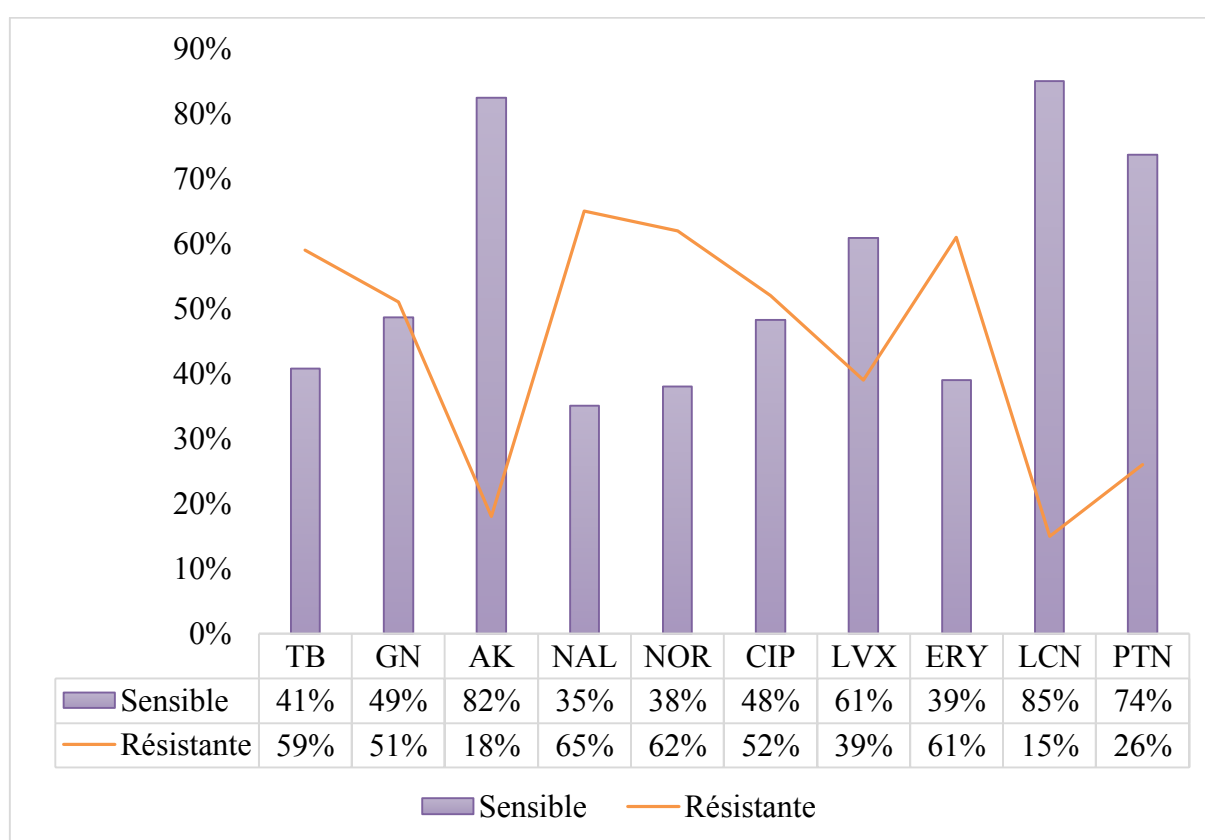
La figure 7 montre le profil de résistance aux bêta-lactamines.



**Figure 7:** Profil global de résistance aux Bêta-lactamines

### ❖ Aminosides, quinolones et MLS

Les entérobactéries et les non fermentaires ont été testées aux aminosides et quinolones, tandis que les *S. aureus* ont été testés aux aminosides, quinolones et MLS avec des profils de sensibilité différents. L'antibiogramme décelait une majorité de résistance élevée de ces germes à ces antibiotiques sauf à l'Amikacine, la Lincomycine et le Pristamycine. Les phénotypes de résistance qu'on en déduisait étaient de 37,5% vis à vis de KTG et de 31,25% pour MLS B. La figure 8 montre la sensibilité aux aminosides, quinolones et MLS.

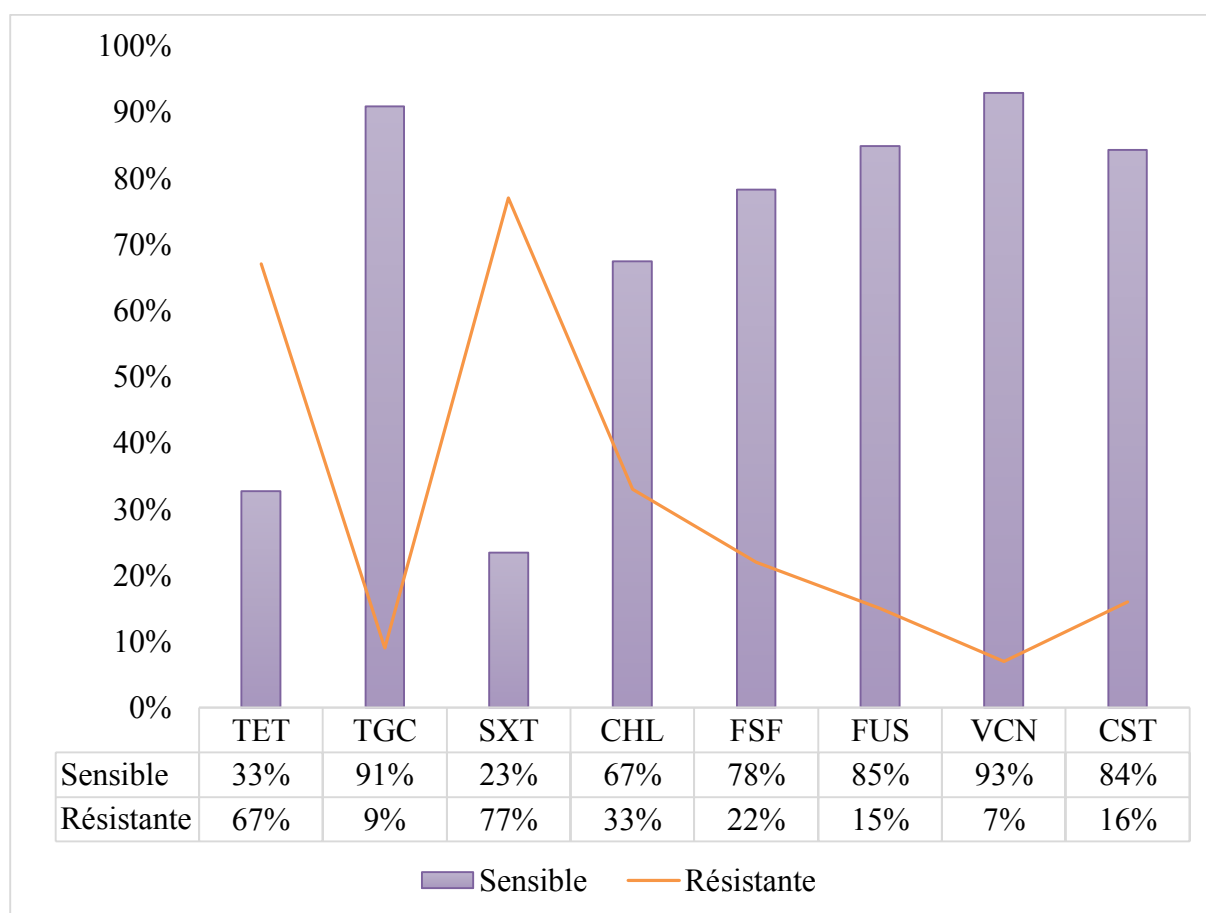


**Figure 8:** Profil global de résistance aux aminosides, quinolones et macrolides

### ❖ Profil global de résistance aux cyclines, phénicolés, glycopetides et autres antibiotiques

A ce groupe, une résistance moindre des germes a été observé. Une bonne sensibilité a été noté avec 91% aux Tigécyclines, 67% au Chloramphénicol, 78% à la Fosfomycine, 85% à l'acide fusidique, 93% à la Vancomycine et 84% à la Colistine.

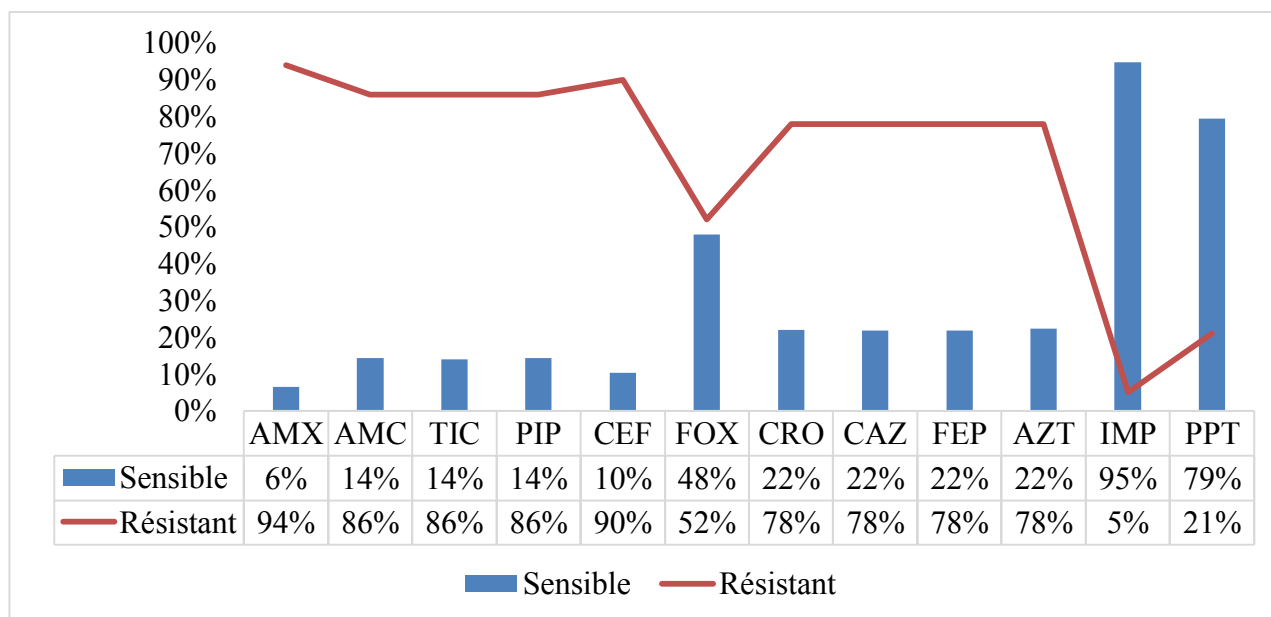
La figure 9 illustre cette répartition.



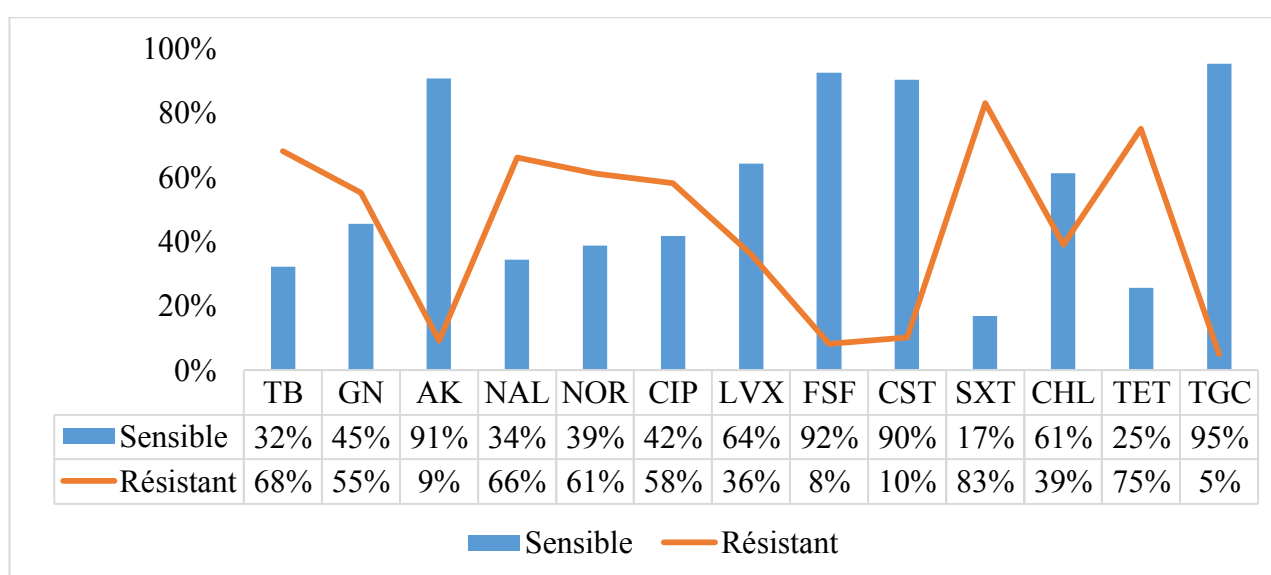
**Figure 9:** Profil global de résistance aux cyclines, phénicolés, glycopetides et autres

### ❖ Profil de résistance des entérobactéries

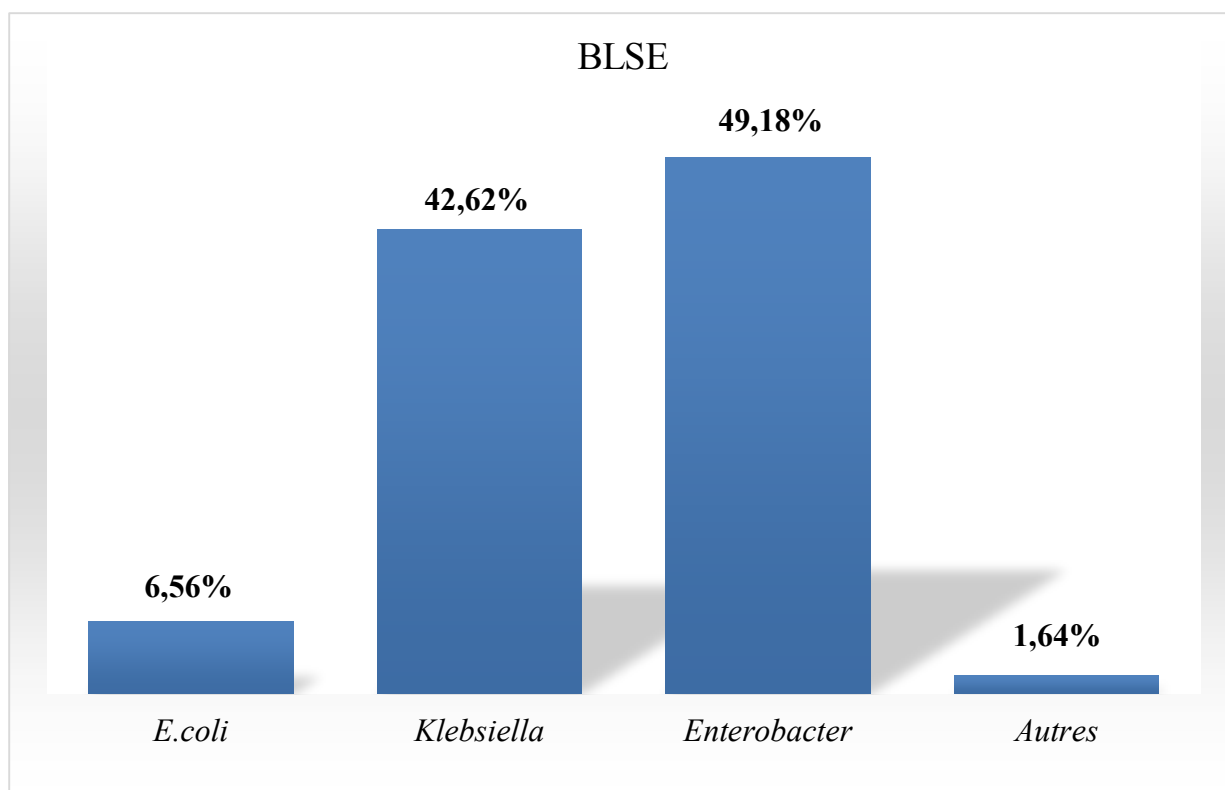
Les BLSE étaient à 78% (61 sur 78 testées), les germes *Enterobacters* et les *Klebsiella* prédominaient dans les BLSE. Pour les entérobactéries productrices de cette enzyme (BLSE), une bonne sensibilité dépassant 90% des vis-à-vis des antibiotiques suivants a été noté, il s'agit de l'amikacine, de la fosfomycine, de la colistine et la tigecycline, comme l'illustre les figures : 10, 11 et 12.



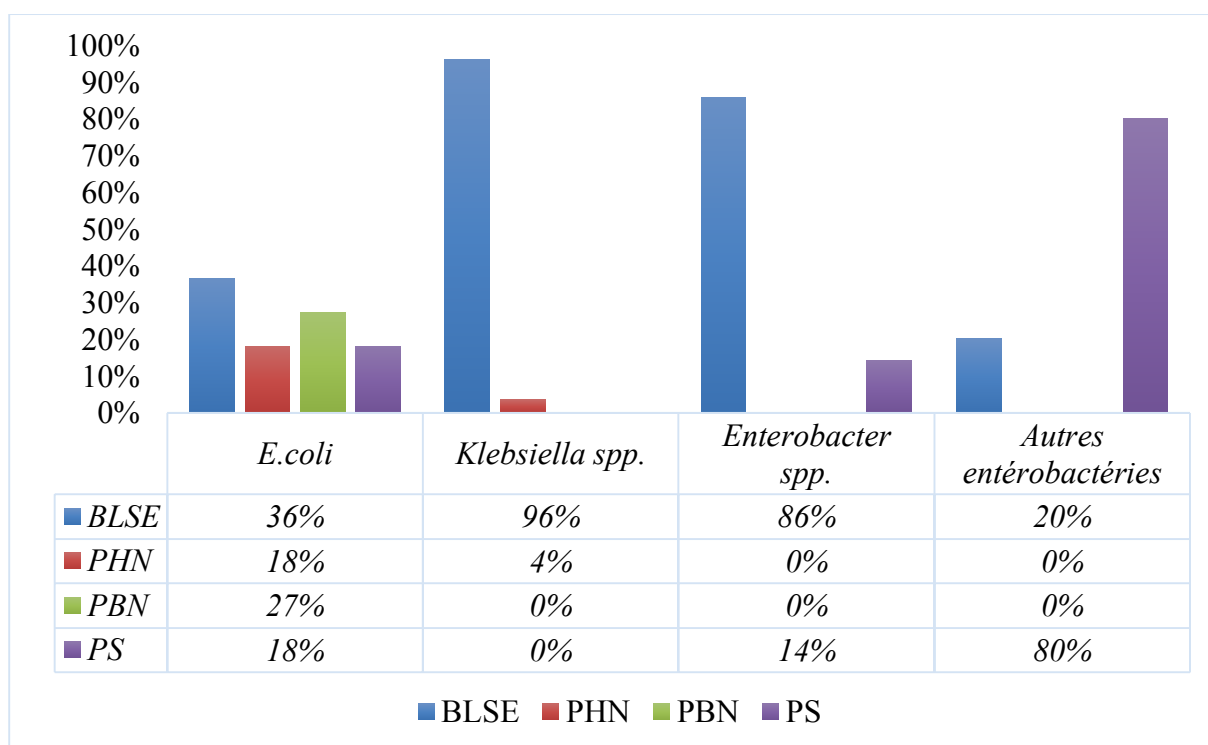
**Figure 10:** Profil de résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines



**Figure 11:** Profil de résistance des entérobactéries aux autres antibiotiques



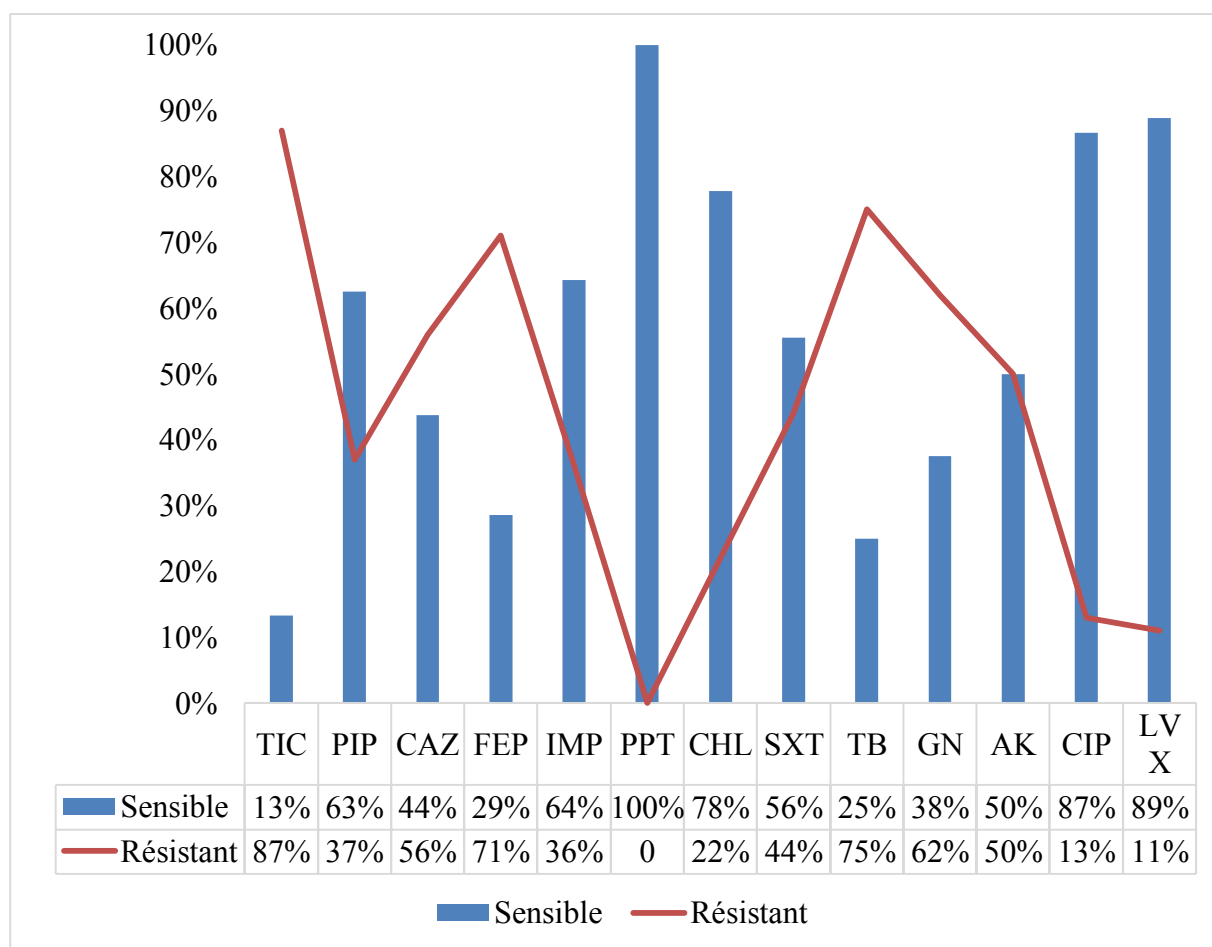
**Figure 12:** Répartition des BLSE



**Figure 13:** Répartition des entérobactéries selon le phénotype de résistance des bêta-lactamines

### ❖ Profil de résistance des *Pseudomonas spp.*

Les *Pseudomonas* présentaient une résistance nulle au piperacilline+ tazobactan, et des résistances moindres aux quinolones. Les *Pseudomonas* productrices de carbapénèmases étaient de 36% et de BLSE de 56% (céftazidime). On notait 50% de résistance à l'amikacine et des résistances variées avec les autres antibiotiques comme nous le montre la figure 14.

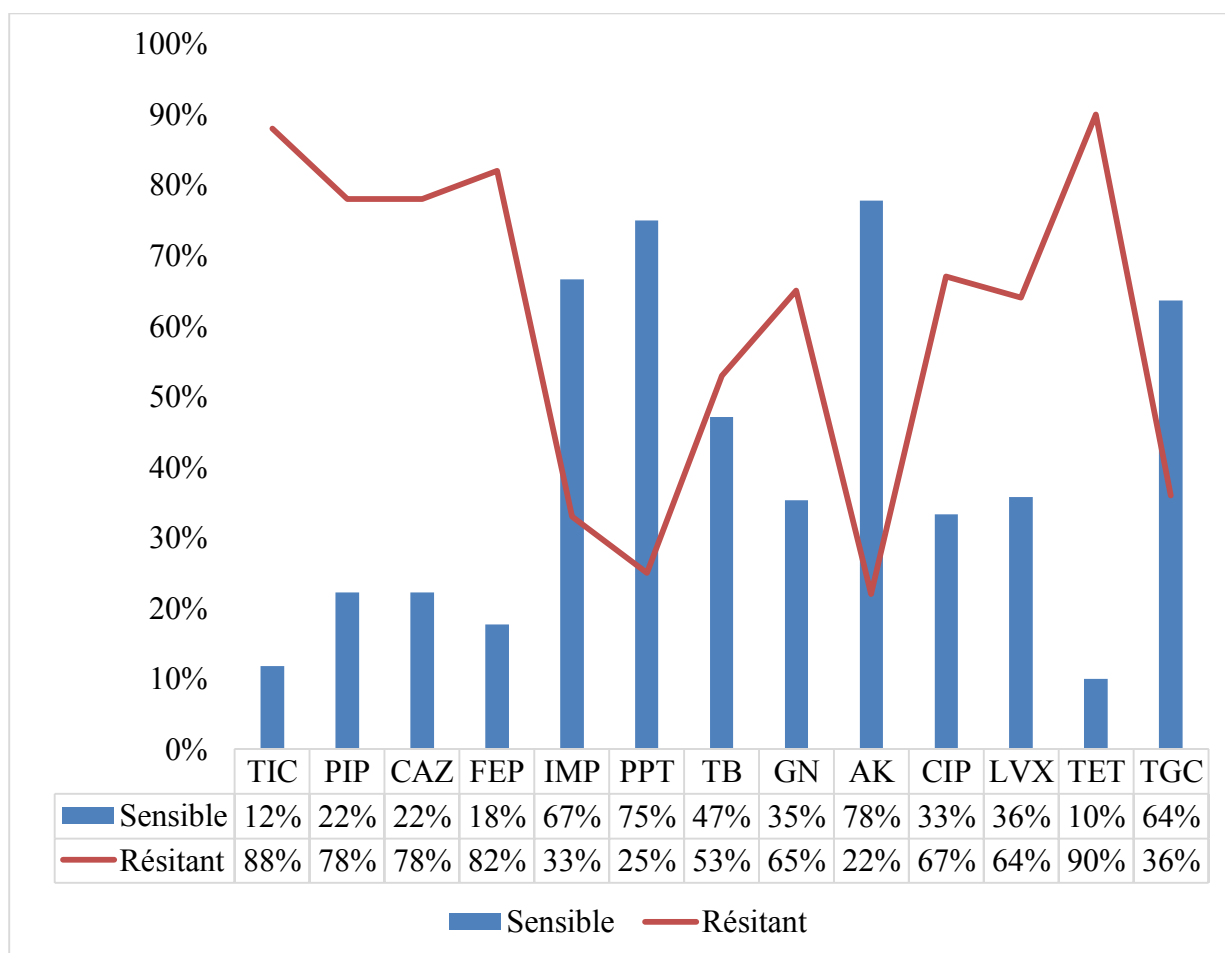


**Figure 14:** Profil de résistance des *Pseudomonas spp.*



### ❖ Profil de résistance des *Acinetobacter spp.*

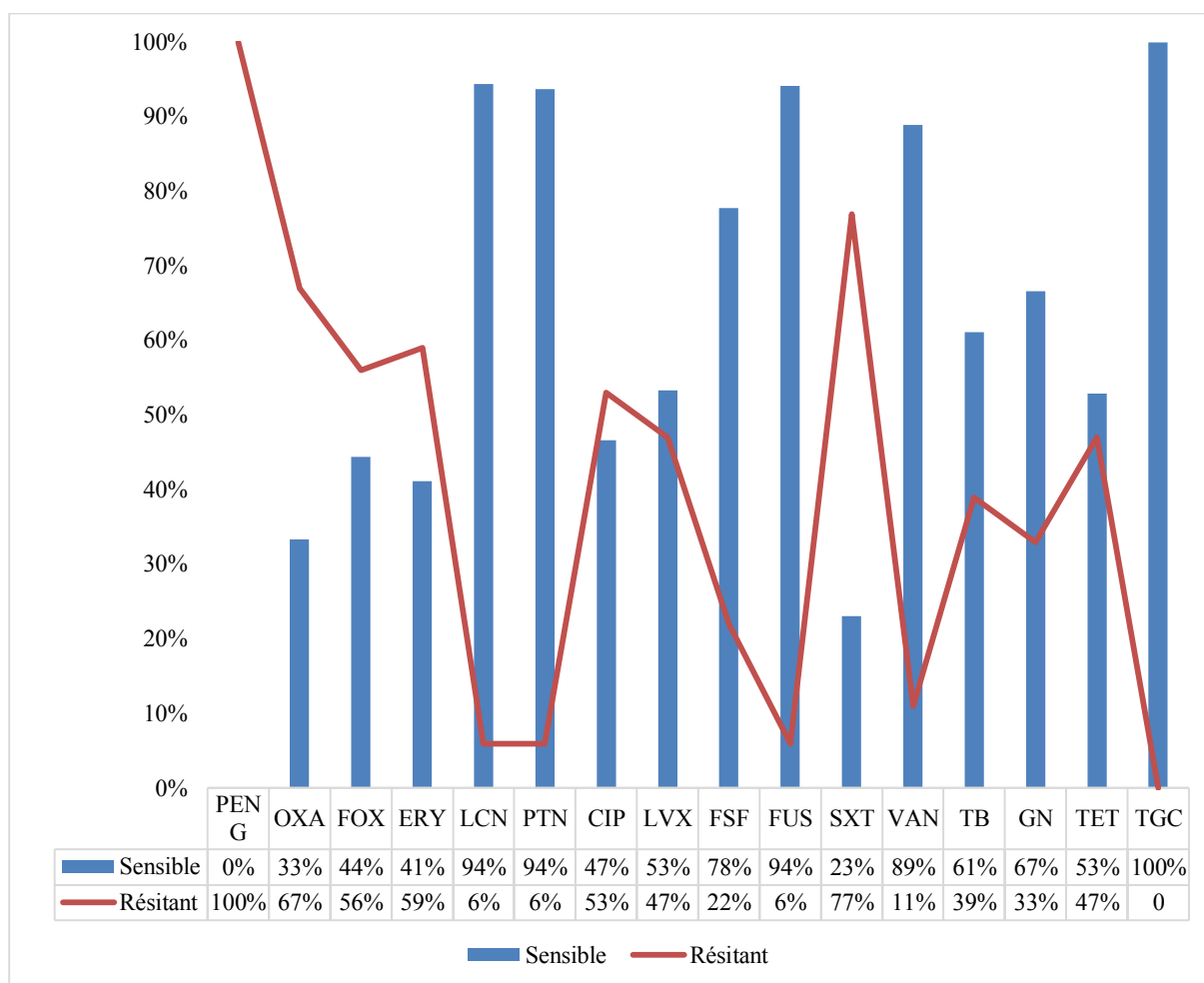
Les acétobacters présentaient des résistances élevées avec la plupart des antibiotiques testés, une résistance au imipenème à 33%, amikacine 22% et ceftazidime 78% comme le montre la figure ci-dessous :



**Figure 15:** Profil de résistance des *Acinetobacter spp.*

### ❖ Profil de résistance des *S. aureus*

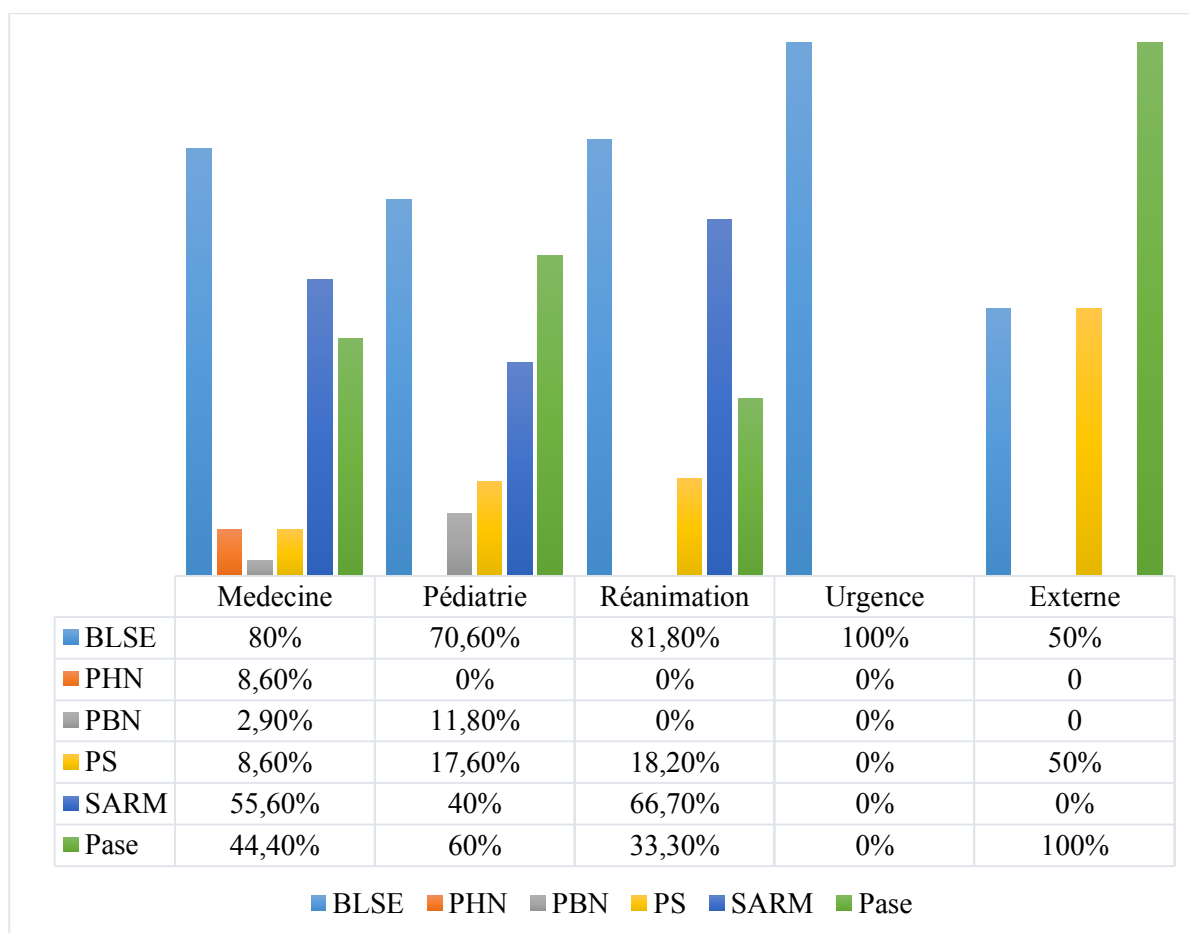
*S. aureus* avait une résistance nulle à la tigecycline. Les SARM étaient de 67. Les taux de résistance à la lincomycine, l'acide fusidique, et la gentamicine variaient comme le montre la figure 14.



**Figure 16:** Profil de résistance des *S. aureus*

### ❖ Répartition des phénotypes de résistance par service

La présence des BLSE a été dans tous les services. La répartition de l'ensemble des phénotypes répertoriés en fonction des services est exprimée dans la figure 16.



**Figure 17:** Répartition des phénotypes de résistance par service

### **III. Discussion**

Le sepsis a été considéré pouvant être sévère et mortelle respectivement à 31% des cas et 16% des cas dans l'étude de Juha Rannikko et al. en 2017[73]. Cette situation pourrait être aggravée par l'émergence des bactériémies multi-résistants [8]. Alors que l'hémoculture est la méthode de référence pour le diagnostic des bactériémies [63]. Notre étude a évalué le profil de résistance des antibiotiques des germes isolés, de façon rétrospective et descriptive, et est réalisée dans un contexte de surveillance des RAM.

#### **❖ Taille de l'échantillonnage**

Durant la période d'étude, nous avons enregistré 716 demandes d'hémocultures. Ceci, est largement en dessous de l'échantillonnage d'autres études. C'est le cas de celle réalisée au Mali par SIDIBE M. et al. qui a rapporté 1113 hémocultures chez 1014 patients de 1993 à 1998 ; étude réalisée dans le cadre du « bilan de six années d'hémoculture au laboratoire de l'hôpital national du Point G en 2000 » [81]. De même l'étude de Rishi SN Panday à Amsterdam, qui avait colligé 2659 hémoculture [59]. Cette faible demande pourrait être liée aux couts de l'hémoculture et à l'urgence du tableau clinique du patient. En effet, le prescripteur est obligé de faire recours directement à un traitement probabiliste pour ne pas retarder la prise en charge.

#### **❖ Résultats des hémocultures positives**

La positivité des examens bactériologiques n'est affirmée que sur la base des examens de culture sur les milieux solides d'identification et d'isolement. Le nombre de germes contaminants dans notre étude, est de 13,9% correspondant principalement aux SCN et Enterococcoques. Le collège américain des pathologies estime de 2 - 6% les contaminants dans les hémocultures [27]. Une Etude de 2019 à Amsterdam révélait des contaminants dans les hémocultures à

6,4% [59]. Comparé à notre étude, ces données montrent l'intérêt de respecter de façon rigoureuse les procédures dans la phase pré analytique.

Les hémocultures reçues au laboratoire biomédical du Centre Hospitalier Régional de Thiès dans notre étude sont positives à 22,07%. Nos résultats sont légèrement inférieurs à certaines données de la littérature. Comme c'est le cas des études au Sénégal, à Dakar (28,13%) en 1980 [22]. Par contre des taux plus faible était enregistré au Mali avec 15,5%, [51] à Dakar avec 14,7% en 1980 à l'hôpital d'enfant Albert Royer [21] à Lomé avec 18% en 2014 [78] et à Tehran 7,94% en 2014 [71]. En France, Dargere en 2014, a obtenue des hémocultures positives à 13% des cas [19]. Au Pays bas, en 2015, Van Werkhoven CH et al. ont obtenue 8,9% d'hémoculture positives [87]. Lee et al., Corée, ont obtenu une positivité d'hémoculture de 4,5% [45]. A Amsterdam, les hémocultures positives représentaient en 2019, 13,9% des cas dans le service d'urgence d'un CHU [60].

#### ❖ Germes isolés

Notre étude révèle principalement les isolats suivant : *Enterobacter spp* dans 22.2% des cas, *Klebsiella spp* dans 17,2% des cas, *Acinetobacter spp* et *Staphylocoque aureus* chacun dans 11,4% des cas, *Pseudomonas spp* et *Staphylocoque Coagulase Négatif* chacun dans 10,1% des cas.

En 2002 à Suisse, Baudat V. et al., rapportait les mêmes proportions de positivité de *E.coli* (22%) et de staphylocoque coagulase-négative (10%). Par contre, dans leur série ils ont noté une proportion plus élevée d'isolement du *Staphylococcus aureus* (21%) par rapport à notre étude. Dans la même étude de Baudat V. et al. Les staphylocoques coagulase-négative ont été souvent isolés (17% des hémocultures positives), mais ont été considérés comme contaminants que dans 38% des cas [5]. Carvalho RH al. de Brésil en 2008 avait isolé principalement des staphylococcoques coagulase-negative (24.6%), *S. aureus* (19.3%), *Klebsiellae* et *P. aeruginosa* (23.4%) [14].

En Europe, en 2012 sur un rapport de 6313 hémocultures, ont été isolés : 10,1% de *S. aureus* ; 22,35% de SCN ; 12,5% d'autres Cocci Gram+; 7,6% d'*E. coli* ; 8,9% *Klebsiella spp* ; 5,4% d'*Enterobacter spp* ; 2,7% *Serratia spp* ; 8,1% d'autres entérobactéries ; 8,2% de *P aeruginosa* ; 8,2% de Champignons et 6% d'autres germes. A Lausanne, en 2015, Opota et all. obtenait la répartition suivante : *E. coli* 26,6%, *S. aureus* 13,90%, SCN 10,09%, *P. aeruginosa* 8,52, *Klebsiella spp.* 7,11% [66] des hémocultures positives au service de microbiologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech durant la période entre 2014 et 2018 ont été : *S aureus* 27,37%, *E coli* 19,81%, *Enterobacter spp.* 10,37%, *Klebsiella spp.* 7,54%, *Acinetobacter spp.* 10,37%, *Pseudomonas spp.* 5,66% [84]. Cela montre une similitude des isolats dans les différentes études, avec souvent des proportions différentes.

#### ❖ Sensibilité globale des souches isolées

Dans notre série, il y a une nette élévation des BLSE avec 78%. Cependant, on note pour les imipénèmes et les Pipéracilline + Tazobactam l'émergence de résistance respectivement de l'ordre de 17% et 19%. La majorité des germes ont une résistance élevée à la plupart des molécules testées à l'antibiogramme. Nous notons une résistance à l'Amikacine pour 18%, la Lincomycine (15%) et le Pristamycine 26%. Les phénotypes de résistance sont de 37,5% pour KTG et 31,25% pour MLS B. Pour les autres antibiotiques, nous observons une inversion des tendances, avec des germes moins résistants à ces antibiotiques. Nous avons globalement une sensibilité des germes aux Tigécyclines de 91%, au Chloramphénicol de 67%, à la Fosfomycine de 78%, à l'acide fusidique de 85%, à la Vancomycine de 93% et à la Colistine de 84%. Cela est comparable avec d'autres études avec des variations diverses ou globalement.

Par contre Hashemi et al. ont retrouvé des taux plus élevés de résistance de l'ordre de 19% pour l'imipénème et 30% pour l'amikacine [30] contre 18% pour amikacine et 19% pour imipénème dans notre étude .

L'amikacine qui était l'aminoside le plus actif sur les entérobactéries a présenté une baisse de son activité au fil des années. Cette molécule, tantôt protégée et réservée aux BMR, est de plus en plus utilisée à cause de l'inefficacité des autres aminosides.

Berrezzouk Mahassin n'ont observé aucune souche résistante aux glycopeptides [9]. D'après le CASFM 2016, la détermination de la sensibilité aux glycopeptides ne doit pas être réalisée par diffusion en milieu gélosé (d-D), La méthode utilisée est plutôt la microdilution en milieu liquide pour déterminer la CMI et ainsi le profil de résistance aux antibiotiques.

Nous avons aussi trouvé un taux de résistance à la méticilline (SARM) de 67%. Ce résultat est plus élevé à celui de Elouennass et al. en 2008 au Maroc dans un service de réanimation qui retrouvait un taux de 52,94% [23]. Nos résultats sont plus proche de ceux obtenue par Carvalho et al. au Brésil en 2014 avec des SARM à 64%. Toutefois, dans la même année, des auteurs marocains, ont rapporté une résistance nettement inférieure de 18,52 %. De la même manière, en France des un taux de 30% en 2003 était rapporté [56], De même, à Lomé, en 2014, Mounerou Salou et al. ont eu comme résultat, une méticillino-résistance de 20% (5/25) pour *S. aureus* [78]. A Doula, en 2014, *Staphylococcus aureus* résistant à la meticilline étaient de 55,2 %, aucune souche de staphylocoques résistante aux glycopeptides n'a été retrouvée [61]. Au Mali en 2018, il était dans les hémocultures des *S. aureus* résistants au Pénicilline G à 93% des SARM à 34% [85]. Dans notre étude, la résistance des *S. aureus* (SARM) était de 67% pour l'oxacilline et de 56% pour le céfoxitine. Tandis que Hamdat et al. montraient que l'utilisation du disque de céfoxitine donne des résultats plus sensibles et plus homogène que le disque d'oxacilline pour déterminer les SARM [28]. Nous avons noté 11% de VRSA ; ceci est supérieur aux résultats rapporté par Sarrafzadeh et al. (9.2%) [79].

Dans notre étude la prévalence des BLSE est de 78% avec une nette prédominance des *Enterobacter spp* (49,18%) et *Klebsiella spp* (42,62%). Ceci est largement supérieur aux résultats de certains auteurs camerounais où la production de bêtalactamase à spectre élargi (phénotype BLSE) a été retrouvée chez 27 % des souches d'entérobactéries avec une prédominance pour les isolats de *Klebsiella pneumoniae* [61]. A Lomé en 2014 Mounerou Salou et al. ont trouvé une proportion d'entérobactéries produisant une bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) de 85,9% (67/78) [78]. A Marrakech, en 2018, Les souches identifiées productrices d'une bêta-lactamase à spectre élargi représentaient 30,23% de l'ensemble des entérobactéries et étaient dominées par la *Klebsiella spp*, l'*Enterobacter spp*. et l'*Escherichia coli* [84].

Dans nos travaux, les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* ont manifesté un taux plus ou moins élevé de résistance. En Tunisie, Saïdani et al. retrouvaient que la majorité des souches de *P. aeruginosa* étaient sensibles à l'imipénème et à la colistine [77]. A Tehran, en 2014, Rabirad N. et al. ont testé les *Pseudomonas aeruginosa* avec plusieurs antibiotiques comme gentamicine (42.2%), amikacine (30.8%), , amoxiclav (95.8%), cefotaxime (48.4%), cefazidime (34.2%), cefoperazone (47.3%), ciprofloxacine (22.4%), chloramphenicol (32%) et tetracycline (42.6 %) [71]. A Lomé en 2014 SALOU Mounerou et al. ont trouvé que la majorité des souches de *P. aeruginosa* étaient sensibles à l'imipénème (85,7%). A Marrakech, en 2018, le taux de résistance à la fosfomycine était de 33,34% ; La piperacilline+tazobactam, la ceftazidime, et les fluoroquinolones partageaient un taux de résistance de 16,67% pour tous les isolats de *Pseudomonas aeruginosa*. [84]. Notre étude montre que les *Pseudomonas* présentent une résistance nulle au piperacilline+ tazobactam, et des résistances moindres aux quinolones ; les carbapénèmases sont à 36%, les BLSE à 56% (céftazidine) et une résistance de 50% à l'amikacine était noté.



Nos résultats montrent que les *Acinetobacter spp.* présentaient des résistances élevées avec la plupart des antibiotiques testées, une résistance aux imipénèmes (carbapénémase) à 33%, amikacine 22% et ceftazidime 78%. Ces résultats sont moins élevés que l'étude effectuée à Madagascar, entre 2006–2008, la prévalence d'*A. baumannii* la résistance est élevée au ceftazidime (62.0%) et imipénème (45.7%) [72]. A Maurice, en Mai 2010, les *Acinetobacter spp* isolés des patients hospitalisés montraient une résistance élevée aux antibiotiques testées avec 86% pour la gentamicine, 50% pour l'amikacine, 95% pour la céfotaxime, 85% pour la ciprofloxacine, et 68% pour le méropénème [37]. En Juillet 2014, une étude similaire avait des variations de résistances pour gentamicine, céfotaxime, et ciprofloxacine (respectivement 79, 94 et 82%) pour amikacine (58%) et pour méropénème (74%) [38]. A Marrakech, en 2018, le taux de résistance des souches isolées d'*Acinetobacter baumannii* a été très élevé pour tous les antibiotiques testés (carbapénémase à 91%), sauf pour la colistine qui a gardé un taux de sensibilité de 100%. [84]. En Egypte, en 2018, les souches d'*Acinetobacter baumannii* productrices de carbapénémase étaient à 78% des cas [2]. Les carbapénèmes (imipénème) étant l'une des options thérapeutiques les plus importantes, ont vu leur efficacité diminué face à l'émergence de nouvelles souches résistantes.

Les services de médecine, de pédiatrie et de réanimation ont été les plus demandeurs d'hémocultures, ils ont présenté une répartition homogène des phénotypes de résistance aux antibiotiques.

## **CONCLUSION ET RECOMMANDATION**

Nous avons réalisé une étude transversale et descriptive sur le sujet Profil de résistance phénotypique aux antibiotiques des souches isolées dans les hémocultures à l'hôpital Régional de Thiès : étude rétrospective d'une période de 5 ans, de Juin 2013 à Mai 2018. Les objectifs ont été de déterminer : la fréquence des hémocultures positives, les germes isolés et le profil de résistance de ces germes. Pour atteindre ces objectifs, nous avons recueillis les données grâce à un questionnaire de variable, puis les données ont été enregistrées et analysées avec le logiciel SPPSS 16.0. L'hémoculture était réalisée au laboratoire régional de Thiès soit avec la méthode classique, soit avec la méthode automatisée de BD BACTEC™ FX40 et l'antibiogramme était effectué par la technique de diffusion sur gélose. Au terme de notre travail, nous avons enregistré 716 demandes d'hémoculture dont 158 étaient positives, représentant une fréquence de 22,07%. Nous notons une prédominance masculine de notre échantillonnage, avec un sex ratio de 1,3. La tranche d'âge la plus représentée, est celle entre 16-30 ans. Les demandes d'hémoculture qui reviennent positives, proviennent le plus souvent des services de Médecine, de Réanimation et de Pédiatrie avec respectivement 40,5%, 28,5% et 24,3%. Les germes isolés sont : *Enterobacter spp.* dans 22,2% des cas ; *Klebsiella spp.* dans 17,2% des cas ; *Acinetobacter spp.* et *Staphylococcus aureus* chacun dans 11,4% des cas ; *Pseudomonas spp.* et *Staphylococcus Coagulase Négatif* chacun dans 10,1% des cas. La distribution des groupes de germe est le suivant : Entérobactéries 49,4%; les Non Fermentaires 24% ; *S. aureus* 11,4% et les autres cocci Gram + 15,2%. Le phénotype de résistance montre une forte présence des BLSE 78% des entérobactéries, et 37% KTG, 67% de SARM, 11% de VRSA (à partir du diamètre minimal d'inhibition) et une émergence de la carbapénèmase à 17%. Ces résultats montrent l'intérêt de la surveillance des RAM, et la réadaptation de l'antibiothérapie probabiliste selon le profil de résistance des germes isolés dans les prélèvements d'hémoculture pour un bon usage des antibiotiques. Les limites de notre étude sont : l'absence de certaines données sociodémographiques vue le caractère rétrospectif ; la non confirmation

des germes supposés contaminants tels que les SCN et les entérocoques du fait que, la répétition des hémocultures n'est pas systématique, en pratique quotidienne. En perspective, il serait utile de mener une étude prospective afin de mieux décrire les souches de bactéries multirésistantes et d'établir un protocole de traitement probabiliste selon le contexte clinique.

- **Recommandation**

- **Aux autorités**

- Mise en œuvre des programmes de lutte et de surveillance de RAM élaborées
    - Mettre en place et sensibiliser sur les guides d'utilisation des antibiotiques
    - Mettre en place un comité d'antibiothérapie dans les structures de santé
    - Renforcer la formation des prescripteurs et des biologistes

- **A l'hôpital**

- Renforcer la collaboration entre Médecins et biologistes pour une meilleure approche thérapeutique
    - Renforcer la demande en hémoculture
    - Renforcer les laboratoires en équipement et intrants
    - Réadapter les traitements probabilistes
    - Redynamiser le comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) ou infections associées aux soins.
    - Redynamiser le groupe de travail sur l'utilisation des antibiotiques dans les structures.

- **A la communauté**

- Sensibiliser les populations sur les dangers de l'utilisation incontrôlée des antibiotiques (automédication et non-respect du traitement comme dans la posologie et la durée du traitement).

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. **Alby K., Daniels L.M., Weber D.J., Miller M.B.** Development of a treatment algorithm for streptococci and enterococci from positive blood cultures identified with the Verigene Gram-positive blood culture assay. *J Clin Microbiol.* 2013;51(11):3869–3871
2. **Amani A.T., Mahmoud A.F.K., Walid F.E.** First report of colistin resistance among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates recovered from hospitalized patients in Egypt New Microbes and New Infections. 2018, 26 ; P53-58.
3. **Barbara A., Roumain J.** Blood culture practices: Results of a French national survey among nurses. 2019 ; (5)2, e107-e113.
4. **Barraud O., Hidri N., Ploy M.C., Cattoir V.** Instauration et surveillance d'un traitement antibiotique dans Bactériologie médicale : Techniques usuelles. 3eme Edition, Elsevier Masson ; 2016, p531-p539
5. **Baudat V., d'Arnex-sur-Orbe,** "Hémocultures positives à l'Hôpital Cantonal de Fribourg, 1997-1998 : Signification clinique, microbiologie, épidémiologie, traitement et pronostic". Lausanne. 2002 .10248 : 06-09.
6. **Baykara N., Akalın H., Arslantaş M.K., et al.** Epidemiology of sepsis in intensive care units in Turkey: a multicenter, point-prevalence study. Crit Care. 2018;22(1):93
7. **Bengtsson-Palme J., Kristiansson E., Larsson D.G.J.** Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 2018;42(1):fux053.
8. **Bermejo-Martin J.F., Andaluz-Ojeda D., Martin-Fernandez M., Aldecoa C., Almansa R.** Composed endotypes to guide antibiotic discontinuation in sepsis. Crit Care. 2019 ;23(1) :140.
9. **Berrezzouk Mahassin.** Hémoculture, profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques ; Rabat Thèse Numéro 14 2008).

10. **Bilal A., Wei W., Muhammad I.A., Mohsin K., Saima M., Muhammad H. R., et al.** Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect Drug Resist.* 2018; 11: 1645–1658.
11. **Buchan, B.W. et N.A. Ledeboer,** Emerging Technologies for the Clinical Microbiology Laboratory. *Clinical Microbiology Reviews*, 2014. 27(4): p. 783-822.
12. **Camara M., Diop N.H., Ba D. A., Karam F., Mbow M., Faye A., Diop D. M., Diagne S.A., Toupane M., Mbengue A.S., Toure K.N.C, Mboup S., Gaye D.A.** Epidémiologie des souches de *klebsiella pneumoniae* productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire au Sénégal, 2011. *Rev. CAMES SANTE*. 2013 (1) 2, p33-37.
13. **Candel F.J., Borges S.M., Belda S., et al.** Current aspects in sepsis approach. Turning things around. *Rev Esp Quimioter.* 2018;31(4):298–315.
14. **Carvalho R.H., Filho P.P.G.** epidemiologically relevant antimicrobial resistance phenotypes in pathogens isolated from critically ill patients in a brazilian university hospital. *Brazilian Journal of Microbiology* (2008) 39:623-630.
15. **Cassini A., Hogberg L.D., Plachouras D., Quattrocchi A., Hoxha A., Simonsen G.S., et al.** Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis. United States*; 2019 ;19(1):56–66
16. **Cattoir L., Claessens J., Cartuyvels R., Van den Abeele A.M.** How to achieve accurate blood culture volumes: the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a measuring instrument and educational tool. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(9):1621–1626.

17. **Clark A.E., Kaleta E.J., Arora A., Wolk D.M.,** Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 2013. 26(3): 547-603.
18. **Croxatto, A., Prod'hom G., Greub G.,** Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol Rev*, 2012. 36(2):380-407.
19. **Dargere S., Parienti J.J., Roupi E., Gancel P.E., Wiel E., Smaïti N., et al.** Unique Blood culture for bloodstream infections in emergency departements. *Clin Microbiol infect*. 2014 20(11) :0920-7.
20. **Dia M.L., Ndour C., Ka R., et al.** P087: Multiresistant bacteria bacteremia cases in a Dakar University Hospital (Senegal). *Antimicrob Resist Infect Control*. 2013;2(Suppl 1): P87.
21. **Didja M., 1980.** Les isolements de bactéries dans les hémocultures à l'Hôpital d'enfants Albert Royer (H.E.A.R) du CHU de Fann : à propos de 1629 flacons étudiés sur une période de cinq ans. Thèse Pharm., Dakar, N° (80-P-20).
22. **Djoffon, 1980.** Bilan des prélèvements bactériens en milieu hospitalier universitaire dakarois de 1972 à 1979 : Etude de 19 000 souches. Thèse Méd. Dakar, N° (80-P-33).
23. **Elouennass M., Sahnoun I., Zrara A., Bajjou T., Elhamzaoui S.** Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002–2005). *Médecine et maladies infectieuses* 2008 ;38 : 18- 24



24. **Garcia R.A., Sppitzer E.D., Beaudry J., Beck C., Diblasi R., Gilleeny-Blabac M. et al.** Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line-associated bloodstream infections. *Am J Infect Control*. 2015 ;43(11) :1222-37;).
25. **Garnier F., Mainardi J.L.** Bactériémies et endocardites dans Bactériologie médicale : Techniques usuelles. 3eme Edition, Elsevier Masson ; 2016, p123-130
26. **Gyawali B., Ramakrishna K., Dhamoon A.S.** Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. *SAGE Open Med*. 2019;7:2050312119835043.
27. **Hall K.K., Lyman J.A.** Updated Review of Blood Culture Contamination. *Clin Microbiol Rev* 2006 19(4) : 788-802.
28. **Hamdad F., Donda F., Laurans G., Canarelli B., Rousseau F., Biendo M., et al.** Performances des différentes méthodes de détection de la résistance à l'oxacilline de souches atypiques de *Staphylococcus aureus* *Pathologie Biologie* 54 (2006) 447–452
29. **Harris D.M., et Hata D.J.,** Rapid identification of bacteria and candida using pna-fish from blood and peritoneal fluid cultures: a retrospective clinical study. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2013. 12: p. 2-2.
30. **Hashemi S.H., Esna-Ashari F., Tavakoli S., Mamani M.** The prevalence of antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae strains isolated in community and Hosppital acquired in infections in teaching hosppital of Hamadan, west of Iran. *Journal of research in Health Sciences*. 2013 ;13(1):75- 80
31. **Hossain B., Islam M.S., Rahman A., et al.** Understanding Bacterial Isolates in Blood Culture and Approaches Used to Define Bacteria as Contaminants: A Literature Review. *Pediatr Infect Dis J*. 2016;35(5 Suppl 1):S45–S51.

32. **Houssaini Z.E., Harrar N., Zerouali K., Belabbes H., Elmdaghri N.** Prevalence of coagulase-negative staphylococci in blood cultures at the Ibn-Rochd University Hospital in Casablanca. *Pan Afr Med J.* 2019 Jul 12 ;33 :193.
33. [https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/CASFM2016\\_V1.0\\_FEVRIER.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/CASFM2016_V1.0_FEVRIER.pdf)
34. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/r%C3%A9sistance-aux-antibiotiques> consulté le 15/02/2020)
35. **INSERM.** Programme prioritaire de recherche : Antibiorésistance. 2020 p1-6.
36. **Institut Pasteur.** Biologie des microorganismes : cours international sur les antibiotiques et la résistance (ICARE), France, 2017.
37. **Issack M.I., Manraj S.S.** Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from hospitalised patients in Mauritius. Center for Disease Dynamics Economics and Policy Editor. 1st Global Forum on Bacterial Infections: Balancing Treatment Access and Antibiotic Resistance 2011. New Delhi, India (2011).
38. **Issack M.I.** Antibiotic resistance among hospitalized patients in Mauritius in 2014. *Int J Infect Dis.* 2016; 45:1–477)
39. **Jain S.** Sepsis: An Update on Current Practices in Diagnosis and Management. *Am J Med Sci.* 2018;356(3):277–286.
40. **Jehl F.** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommandations 2016. V1.0 Février., 2016, Société Française de Microbiologie. p. 117.
41. **Karakullukçu A., Kuşkucu M.A, Ergin S., Aygün G., Midilli K., Küçükbasmaci Ö.** Determination of clinical significance of coagulase-negative staphylococci in blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017;87(3):291–294.

42. **Kayser F.H., Bottger E.C., Deplazes P., Otto H., Roers A.** Microbiologie médicale, 2<sup>ème</sup> Edition. Lavoisier Médecine science France 2014 p265-293
43. **Khatib R., Labalo V., Sharma M., Johnson L.B., Riederer K.** Enterococcus spp. in a single blood culture: bacteremia or contamination?. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017;87(3):289–290
44. **Lamy B., Dargère S., Arendrup M.C., Parienti J.J., Tattevin P.** How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. *Front Microbiol.* 2016;7:697.
45. **Lee J.H., Kim Y.H.** Predictive factors of true bacteremia and the clinical utility of blood cultures as a prognostic tool in patients with community-onset pneumonia. *Medicine (Baltimore).* 2016 ;95(41) : e5058.
46. **Li B., Webster T.J.** Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections. *J Orthop Res.* 2018;36(1):22–32.
47. **Linsenmeyer K., Gupta K., Strymish J.M., Dhanani M., Brecher S.M., Breu A.C.** Culture if spikes? Indications and yield of blood cultures in hospitalized medical patients. *J Hosp Med.* 2016;11(5):336-40].
48. **Liu C.W., Lin S.P., Wang W.Y., Huang Y.H.** Influenza With Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Pneumonia. *Am J Med Sci.* 2019;358(4):289–293
49. **Loulergue J., Avril J.L., Omwanga D., 1987.** Etude des produits pathologiques : Hémocultures. Editions SIMEP, 41-5.
50. **Maiga A., Dicko O.A., Tchougoune L.M., Fofana D.B., Coulibaly D.M., Maiga I.I.** Haute prévalence des souches de Staphylococcus aureus résistantes à la méticilline au centre hospitalier universitaire du Point G à Bamako (MALI). *Mali Med.* 2017 ; 32 : 1-8
51. **Maiga I.I., Sidibe, Maiga A et Rochereau A. 2004.** Les bactéries isolées par hémocultures à l'hôpital du G. Mali Méd. ; 19 (1) : 18- 23.

52. **Makristathis, A., Riss S., Hirschl A.M.,** A novel FISH test for rapid pathogen identification in positive blood cultures. Clin Microbiol Infect. 2014 Oct;20(10): O760-3
53. **McComb M.N., Collins C.D.** Comparative cost-effectiveness of alternative empiric antimicrobial treatment options for suspected enterococcal bacteremia. Pharmacotherapy. 2014 Jun;34(6):537-44
54. **Micenková L., Beňová A., Frankovičová L., Bosák J., Vrba M., Ševčíková A., Kmet'ová M., Šmajš D.** Human *Escherichia coli* isolates from hemocultures: Septicemia linked to urogenital tract infections is caused by isolates harboring more virulence genes than bacteraemia linked to other conditions. Int J Med Microbiol. 2017;307(3):182-189
55. **Mirrett, S., Hanson K.E., Reller L.B.,** Controlled clinical comparison of VersaTREK and BacT/ALERT blood culture systems. J Clin Microbiol, 2007. 45(2): p. 299-302.
56. **Muller A.A., Mauny F., Bertin M., Cornette C., Lopez-Lozano J.M., Viel J.F., et al.** Relationship between spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and antimicrobial use in a French university hospital. Clin Infect Dis 2003;36:971–8
57. **Muylaert A., Mainil J.g.** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » Ann. Méd. Vét., 2012, 156, 109- 123
58. **Nagaraj S., Kalal B.S., Manoharan A., Shet A.** *Streptococcus pneumoniae* serotype prevalence and antibiotic resistance among young children with invasive pneumococcal disease: experience from a tertiary care center in South India. *Germes*. 2017;7(2):78–85.
59. **Nannan Panday R.S., Lammers E.M.J., Alam N., Nanayakkara P.W.B.** An overview of positive cultures and clinical outcomes in septic patients: a sub-analysis of the Prehospital Antibiotics Against Sepsis (PHANTASi) trial. Crit Care. 2019;23(1):182.

60. **Nannan Panday R.S., Wang S., van de Ven P.M., Hekker T.A.M., Alam N., Nanayakkara P.W.B.** Evaluation of blood culture epidemiology and efficiency in a large European teaching hospital. PLoS One. 2019;14(3):e0214052.
61. **Okalla Ebongueab C., Nda Mefo'oab J.P., Ngouadjeu Donghoab E., Eboumbou Moukokobc E.C., Adiogob D., Beyihabd G.** Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des isolats d'hémoculture (2006 – 2011) à Douala, Cameroun. Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie 2014, Tome 2, p27-39
62. **Okubo S., Fujioka K., Yamane M., et al.** Nontypeable Haemophilus Influenzae Sepsis in a Term Neonate. Kobe J Med Sci. 2018;63(4):E105–E108..
63. **Ombelet S., Barbé B., Affolabi D., et al.** Meilleures pratiques d'hémocultures dans les pays à revenu faible ou intermédiaire. Front Med (Lausanne). 2019 ; 6 : 131.
64. **OMS.** plan d'action mondial Pour combattre la résistance aux antimicrobiens 2016 ; [www.who.int](http://www.who.int)).
65. **OMS.** Résistance aux antimicrobiens. 2017. Lien : <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/fr.>
66. **Opota O., Croxatto A., Prodhom G., Greub G.** Blood culture based diagnosis of bacteraemia. Clin Microbiol Infect. 2015 21(4): 313-22.
67. **Park S.E., Pham D.T., Boinett C., Wong V.K., Pak G.D., Panzner U.** The phylogeography and incidence of multi-drug resistant typhoid fever in sub-Saharan Africa. Nat Commun. 2018. 30;9(1):5094.
68. **Partridge S.R., Kwong S.M., Firth N., Jensen S.O.** Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. Clin Microbiol Rev. 2018;31(4):e00088-17.

69. **Pliakos E.E., Andreatos N., Shehadeh F., Ziakas P.D., Mylonakis E.** The Cost-Effectiveness of Rapid Diagnostic Testing for the Diagnosis of Bloodstream Infections with or without Antimicrobial Stewardship. *Clin Microbiol Rev.* 2018. 30;31(3).
70. **Poolman J.T., Wacker M.,** Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*, a Common Human Pathogen: Challenges for Vaccine Development and Progress in the Field. *Journal of Infectious Diseases*, 2016. 213(1) : 6-13.
71. **Rabirad N., Mohammadpoor M., Rastegar Lari A., Shojaie A., Bayat R., Alebouyeh M.** Antimicrobial susceptibility patterns of the gram-negative bacteria isolated from septicemia in Children's Medical Center, Tehran, Iran. *J prev med hyg* 2014; 55: 23-26.
72. **Randrianirina F., Vaillant L., Ramarokoto C.E., Rakotoarijaona A., Andriamanarivo M.L., Razafimahandry H.C., et al.** Antimicrobial resistance in pathogens causing nosocomial infections in surgery and intensive care units of two hospitals in Antananarivo, Madagascar. *J Infect Dev Ctries.* 2010 ; 4:74–82
73. **Rannikko J., Syrjänen J., Seiskari T., Aittoniemi J., Huttunen R.** Sepsis-related mortality in 497 cases with blood culture-positive sepsis in an emergency department. *Int J Infect Dis.* 2017;58:52–57.
74. **Rello J., Valenzuela-Sánchez F., Ruiz-Rodríguez M., Moyano S.** Sepsis: A Review of Advances in Management. *Adv Ther.* 2017;34(11):2393–2411
75. **Rodríguez-Sánchez B., Marin M., Sanchez-Carrillo C., Cercenado E., Ruiz A., RodríguezCreixems M., et al.** Improvement of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry identification of difficult-to-identify bacteria and its impact in the workflow of a clinical microbiology laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014.

76. **Russo A., Falcone M., Gutiérrez-Gutiérrez B., et al.** Predictors of outcome in patients with severe sepsis or septic shock due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;52(5):577–585.
77. **Saïdani M., Boutiba I., Ghazzi R., Kammoun A., Ben Redjeb S.** Profil bactériologique des bactériémies à germes multi résistants à l’hôpital Charles-Nicolle de Tunis. *Med Mal Infect* .2006 ;36 : 1
78. **Salou M., Dossim S., Ekouevi D.K., Maïga A. I., Nyasenu Y.T., Issa E., et al.** Aspects épidémiologiques et bactériologiques des hémocultures au CHU-Sylvanus Olympio de Lome /Togo. *Journal de la Société de Biologie Clinique du Bénin*, 2014 ; N° 021 ; 69-74
79. **Sarrafzadeh F., Mirzabiegi Z., Torabi-Nami M.** Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus isolates among hospitalized patients; a tertiary medical care center experience from Southern Iran. *Cogent Medicine*. 2016 ; 3(1), 1163768
80. **Sciotto L., Abbas M., Serratrice J.** Detection of bacteriemia by blood cultures : who will benefit ? *Rev Med Suisse*. 2017 ;13(579) :1774-1778.).
81. **Sidibe M., 2000.** Bilan de six années d’hémocultures au laboratoire de l’Hôpital national du point G. Thèse Pharm. Bamako N° (00-P-4).
82. **Simpao A.F., Ahumada L.M., Larru Martinez B., et al.** Design and Implementation of a Visual Analytics Electronic Antibigram within an Electronic Health Record System at a Tertiary Pediatric Hospital. *Appl Clin Inform*. 2018;9(1):37–45. doi:10.1055/s-0037-1615787
83. **Somily A.M., Habib H.A., Torchyan A.A., et al.** Time-to-detection of bacteria and yeast with the BACTEC FX versus BacT/Alert Virtuo blood culture systems. *Ann Saudi Med*. 2018;38(3):194–199.
84. **Thèse: Zidouh A.** Le profil bactériologique des bactériémies et l’état de résistance aux antibiotiques. Maroc, 2019 ; N219, P 15-88

85. **Thèse** : Fofana M. Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées d'hémocultures et de collections purulentes au Centre Hospitalier Universitaire du Point "G". Mali 2018 ; Ph2018 P43 et 71
86. **Thwaites C.L., Lundeg G., Dondorp A.M., Adhikari N.K.J., Nakibuuka J., Jawa R.** Infection Management in Patients with Sepsis and Septic Shock in Resource-Limited Settings. Sepsis Management in Resource-limited Settings. 2019 ;8 p 163-184).
87. **Van Werkhoven C.H., Huijts S.M., Postma D.F., Oosterheert J.J., Bonten M.J.** Predictors of Bacteraemia in Patients with Suspected Community-Acquired Pneumonia. PLoS One. 2015;10(11): e0143817.
88. **Ventola C.L.** The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. P T. 2015;40(4):277–283.
89. **Wang A., Gaca J.G., Chu V.H.** Management Considerations in Infective Endocarditis: A Review. JAMA. 2018;320(1):72–83.
90. **Weinbren M.J., Collins M., Heathcote R., et al.** Optimization of the blood culture pathway: a template for improved sepsis management and diagnostic antimicrobial stewardship. J Hosp Infect. 2018;98(3):232–235.
91. **Wojewoda C.M., Sercia L., Navas M., Tuohy M., Wilson D., Hall G.S., et al.,** Evaluation of the Verigene Gram-Positive Blood Culture Nucleic Acid Test for Rapid Detection of Bacteria and Resistance Determinants. Journal of Clinical Microbiology, 2013. 51(7) : p. 2072-2076
92. **Yaacobi N., Bar-Meir M., Shchors I., Bromiker R.** A prospective controlled trial of the optimal volume for neonatal blood cultures. Pediatr Infect Dis J. 2015;34(4):351–354.



## **ANNEXES**

## **Annexe 1 : liste des antibiotiques**

AK: amikacine

AMC : amoxicilline+acide clavulanique

AMX : aminopénicillines

CAZ : céftazidime

CEF : céfalotine

CIP: ciprofloxacine

CRO : Céftriaxone

CST : colistine

ERY : érythromycine

FOX : céfoxitine

FSF: fosfomycine

FUS : acide fusidique

GN : gentamycine

IPM: imipenème

K : kanamycine

LCN : lincomycine

LVX : lévofloxacine

OXA : oxacilline

PEN G : pénicilline G

PIP : piperacilline

PPT : pipéracilline+tazobactam;

PTN : pristnamycine

SXT: sulfaméthoxazoletriméthoprime

TB: tobramycine

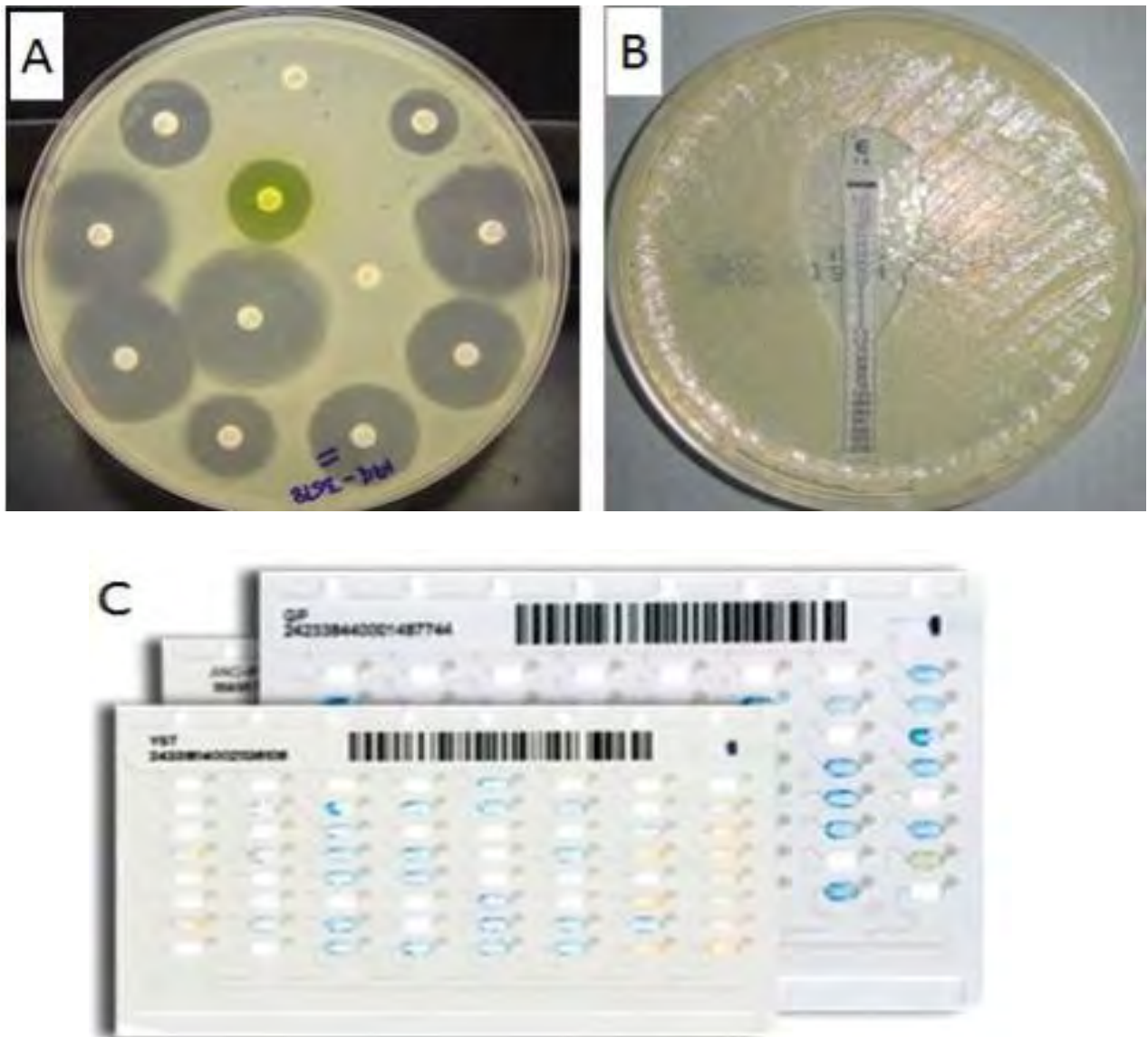
TET : tétracycline

TGC : tigecycline

TIC: ticarcilline

VAN : vancomycine

## Annexe 2 :



**Photos** : Méthodes d'antibiogramme

**A** : Diffusion sur gel/disque ; **B** : diffusion sur gel/Etest ;

**C** : Cassettes d'antibiogramme (automate)