

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI OUZOU

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de microbiologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

En sciences Biologique

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Profil bactériologique et d'anti-bio résistance des bactéries isolées à partir des hémocultures au niveau du Centre Hospitalier Universitaire Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou

Soutenu le : 06/10/2022

Réalisé par : M^{elle} Chekikene Lyza et M^{elle} Moussouni Hanane

Présenté devant le jury :

M ^r Houali Karim	Professeur	UMMTO	Président
Mr Sebban Hillal	MCB	UMMTO	Promoteur
Mme Almi Dalila	MCB	UMMTO	Examinatrice

Année universitaire : 2021-2022

Remerciements

Nous tenons à remercier particulièrement avec gratitude notre encadreur Monsieur **Sebbane Hillal** pour avoir accepté d'encadrer se travaille, avec ses conseils et la confiance qui nous a accordé afin de réaliser se travaille.

Nos vifs remerciements pour les membres de jury

A Monsieur **Houali Karim**, nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Veillez trouver ici l'expression de notre vif respect grand remerciement.

Nous tenons également à remercier Madame **Almi Dalila**, nous sommes infiniment sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner se travaille. Nous tenons à vous présenter nos sincères remerciements et notre profonde reconnaissance.

Nous voudrions présenter nos remerciements et notre gratitude au médecin chef de service du laboratoire de microbiologie du centre hospitalier universitaire de **Nedir Mohamed deTizi Ouzou, Dr Djerboua Taoufik** d'avoir accepté de nous recevoir dans son laboratoire.

Aux médecins de service de laboratoire de microbiologie de centre hospitalier universitaire **Nedir Mohamed de Tizi Ouzou**, aux techniciens du laboratoire, et à tout le personnel du laboratoire.

Sincères remerciements.

Dédicaces

A Allah l'unique, le dieu le tout puissant, qui ma guide durant toute ma formation, louange et remerciement pour votre clémence.

A son prophète Mohamed, que la paix et le salut d'Allah soit sur lui.

Je dédie ce mémoire à mes très chers parents,

Merci pour votre soutien qui ma toujours poussé vers l'avant et merci d'avoir m'apporte de l'aide, ces grâce a vous que j'ai pu réaliser ces études, merci pour tous vos sacrifices que vous avez cessez de déployer.

Aucune dédicace et aucun mot ne sauraient susceptible d'exprimer mon amour, mon estime et mon grand respect pour vous, Je ne vous remercierai jamais assez pour tout ce que vous m'avez apporté.

A vous, je dédie ce travaille en témoignage de ma reconnaissance et mon amour.

Que dieu tous le puissant vous accorde une longue vie, sante, et de joie pour que votre vie soit illuminée pour toujours.

A ma très chère sœur,

Merci d'avoir m'apporter beaucoup d'aide, et merci d'avoir continuellement encourager. Ce travaille vous honore. Je vous le dédie tout en souhaitant a Allah le très haut tous puissant vous accorde de bonheur, de succès, de prospérité dans votre vie et que dieu vous protège.

A mon oncle Djafer,

Le plus gentil le plus attentionné, merci pour votre amour et votre soutien depuis toujours, vos encouragements ont été pour moi d'u grand réconfort, merci pour votre bonne humeur et votre présence avec moi, veuillez trouvez dans ce travail l'expression de mon affection la plus sincère. Que dieu tout puissant vous protège et vous procure bonheur et prospérité.

A mes chères amies, Radia et Dihia Merci beaucoup pour tous se que vous avez fait pour moi, vous êtes des amies si gentilles. Que dieu le tous puissant vous garde.

Lyza

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail comme un témoignage, de respect et d'admiration.

A ma très chère mère:

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me Couvre, ta bien veillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père :

Pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

A mon cher frère Rami et ma belle sœur Nassima

Puisse Dieu vous donner santé, bonheur, courage et surtout réussite.

*Surtout, je dédie ce travail à la personne la plus proche de moi qui m'a aidé et m'a soutenu depuis le début **mon proche ami Cherif.***

A ma grand-mère Fatma :

A laquelle je souhaite une longue vie

Merci d'être toujours là pour moi.

Hanane

Résumé

L'hémoculture demeure l'examen essentiel en pratique de microbiologie médicale, permettant de détecter l'agent étiologique responsable des bactériémies. L'objectif de cette étude est l'isolement et l'identification des différentes bactéries responsables de ces infections et de les identifier.

Il s'agit d'une étude menée sur une période d'un mois portant sur l'ensemble des bactéries isolées à partir des hémocultures des patients hospitalisés au niveau du centre hospitalier universitaire Nedir Mohamed Tizi-Ouzou. Durant cette période, 340 échantillons ont été étudiés, dont le nombre de cas positifs est de 140 cas. Parmi les bactéries isolées, il a été démontré que le *Staphylococcus aureus* a une résistance à l'Oxacilline et à l'Ampicilline, soit pour un taux de 100%, et les bacilles à Gram négatifs sont toutes résistantes à la Pipéracilline et à la Céfazoline. Les espèces les plus fréquemment isolées sont les : *Staphylococcus aureus*, les streptocoques, les staphylocoques à coagulase négative.

La connaissance de l'écologie bactérienne et le profil de résistance des germes pathogènes est nécessaire pour guider l'antibiothérapie des bactériémies.

Les mots clés: Antibiothérapie, Bacille à Gram négatif, Bactériémies, Hémoculture.

Abstract

Blood culture remains the essential examination in microbiology practice, making it possible to detect the etiological agent responsible for bacteremias. The objective of this study is to isolate the deferent bacteria responsible for these infections and to identify them.

This is a retrospective study conducted over a period of one minus on all bacteria isolated fromb lood cultures of patients hospitalized at the University Hospital Center Nedir Mohamed Tizi Ouzou.

During one month, 340 vials were revealed, of which the number of positive cases is 140 cases, this number reflected real bacteremia. Among the bacteria isolated, *staphylococcus aureus* has been shown to have resistance to Oxacillin and Ampicillin, i.e. at a rate of 100%, and gram-negative bacilli have total resistance to Piperacillin and Cefazolin depending on the species. The most frequently isolated species are: *staphylococcus aureus*, streptococci, staphylococci with coagulase negative. Knowledge of bacterial ecology and the resistance profile of pathogenic germs is necessary to guide antibiotictherapy for bacteremia.

Keywords: antibiotictherapy , bacteremia, Blood culture , gram negative bacilli.

Sommaire

Liste des figures	i
Liste des tableaux	ii
Liste des abréviations	iii
Introduction	1
Synthèse bibliographique	
Chapitre 01 : Bactériémie et septicémie	
1.1. Bactériémie et septicémie.....	3
1.2. La physiopathologie de la bactériémie	3
1.2.1. L'origine de la bactériémie	4
1.2.2. Porte d'entrée et foyer secondaire de la bactériémie	4
1.3. Les facteurs de risque développent la bactériémie au septicémie	5
Chapitre 02 :l'hémoculture	
2.1. Définition de l'hémoculture	8
2.2. Indication	8
2.3. Les prélèvements.....	8
2.3.1. Mode de prélèvement	8
2.3.2. Stratégie de prélèvement	9
2.4. La composition des flacons d'hémocultures	11
2.5. Transport et acheminement	11
2.6. Volume nécessaire a prélevé	11
2.7. Détection de la croissance bactérienne	12

Chapitre 03 : Les principales bactéries isolées à partir des hémocultures

3.1. Cocci à Gram positif	13
3.1.1. Staphylocoque	13
3.1.2. Streptocoque	14
3.2. Entérocoque	15
3.3. Bacilles à Gram négatif	15
3.3.1. Entérobactéries	15
3.4. Les espèces non fermentaires	17

Partie expérimentale

I-Matériel et méthode

1. L'objectif et lieu, période d'étude.....	19
2. Transport et enregistrement des échantillons	19
3. Incubation des hémocultures	19
4. Isolement des bactéries.....	20
4.1. Les milieux d'isolement utilisés.....	20
4.2. Technique d'ensemencement	21
5. Identification des germes isolés	21
5.1. Examens microscopique.....	21
5.2. Tests d'identification biochimique	21
5.2.1. Test d'oxydase	21

5.2.2. Test de catalase	21
5.2.3. Test de la coagulation	22
5.2.4. Test d'uréase	22
5.2.5. La galerie API	22
6. L'antibiogramme	23
6.1. Préparation de la suspension bactérienne.....	23
6.2. Technique d'ensemencement	23
 II-Résultat et discussion	
1. Répartition des hémocultures selon les services d'hospitalisation.....	26
2. Répartition des hémocultures selon le sexe	26
3. Répartition des hémocultures selon les germes isolées	27
4. Profil de résistance aux antibiotiques	28
4.1. Cocci à Gram positif	28
4.2. Entérobactéries	33
Conclusion	42

Références bibliographiques

Résumé

Liste des figures

Figure 01: Les trois principaux mécanismes des bactériémies	4
Figure 02 : Matériels nécessaire pour prélèvement d'hémoculture	10
Figure 03 : Procédure de prélèvement des flacons d'hémoculture	10
Figure04 : Colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur le milieu Chapman	13
Figure 05 : Colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur le milieu gélose au sang frais	14
Figure 06 : <i>Staphylococcus aureus</i> sous microscope optique au grossissement 400.....	14
Figure 07: <i>Brucella abortus</i> au sous microscope optique au grossissement 400	18
Figure 08: Profil du taux de résistance de <i>S. aureus</i>	28
Figure 09 : Profil de taux de résistance des <i>staphylococcus</i> à coagulas négative	29
Figure 10 : Profil de taux de résistance des <i>S. pneumoniae</i>	31
Figure 11 : Profil du taux de résistance des <i>E.faecium</i>	32
Figure 12 : Profil du taux de résistance d' <i>E. Coli</i>	34
Figure 13 : Profil du taux de résistance des <i>P. aeruginosa</i>	35
Figure 14 : profil du taux de résistance des <i>K. pneumoniae</i>	36

Liste des tableaux :

Tableau I : Porte d'entrée et localisation secondaire des bactéries Gram positif et bactérie Gram négatif.....5

Tableau II : Les API utilisés et le germe spécifique de chaque une.....22

Tableau III : La fréquence d'hémoculture de chaque service d'hospitalisation26

Tableau IV : Répartition des hémocultures selon le sexe.....27

Tableau V : Les principales souches bactériennes isolées à partir d'hémoculture27

Liste des abréviations

ADH : L'arginine-dihydrolase

API: Analytical profile index

ASM : Société Américaine de Microbiologie

CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

IDSA : Société Américaine de Maladies Infectieuses

ORL : Oto-rhino-laryngologie

PLP : Protéines liant les Pénicillines

SCN : *Staphylococcus* à coagulase négative

SFM : Société Française de MICROBIOLOGIE

VP : Voges Proskauer

Introduction

Introduction

Le sang est stérile. La présence de bactéries dans le sang circulant définit une bactériémie. Qu'elles que soit son origine, les bactériémies sont des infections graves et redoutées, du fait d'une mortalité importante.

Elle peut être la conséquence d'actes ordinaires tels que le brossage des dents, de soins dentaires ou d'actes médicaux ; ou peut être causée par des infections telles qu'une pneumonie ou une infection urinaire.

La détection des bactériémies reste l'une des activités les plus importantes des laboratoires de microbiologie clinique. L'hémoculture est l'outil de diagnostic le plus largement utilisées pour détecte les bactériémies. C'est une analyse de laboratoire dans lequel le sang prélevé chez le patient, est inoculé dans des flacons contenant un milieu de culture afin de déterminer si des micro-organismes (bactéries ou champignon) sont présents dans le sang du patient.

Il s'agit du moyen le plus important pour le diagnostic l'étiologie des infections du sang et du sepsis. Elle a également des implications majeures dans le traitement de ces patients. En cas de suspicion de bactériémie, l'administration empirique d'antibiotique est préconisée. Le traitement est ensuite ajusté en fonction des résultats des cultures es des tests de sensibilité.

La connaissance des principales espèces bactériennes responsables de bactériémies et de leur profil de sensibilité aux antibiotiques permet de donner une base objective à l'antibiothérapie probabiliste. Or, cet élément d'écologie bactérienne est en évolution permanente et la documentation microbiologique n'est pas toujours présente, en particulier dans notre région où les données sont rares.

Cette connaissance des espèces permet de réduire l'émergence et la diffusion de bactéries multi résistantes aux antibiotiques, qui viennent compliquer la prise en charge empirique des bactériémies

L'objectif de cette étude et nous avons voulu mettre la lumière sur les bactériémies et la technique d'hémoculture pour le diagnostic des bactériémies et septicémie au niveau du centre hospitalier-universitaire de TIZI-OUZOU en analysant les statistiques d'hémoculture concernant

Introduction

un mois dont l'objectif est d'isolé et identifié les germes causant et la description de leur profil épidémiologique.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01

Bactériémie et septicémie

1.1-bactériémie et septicémie

Une bactériémie est définie par la présence de germe dans la circulation sanguine (Farrester,2021).

La bactériémie peut être non infectieuse, comme elle peut entraîner des infections métastiques en particulier une endocardite en cas d'anomalies valvulaires cardiaques (Bush, 2020).

La bactériémie peut devenir une septicémie lorsqu'il y a une décharge massive de germe pathogène dans le sang de façon répétée à partir d'un foyer septique, avec un dysfonctionnement d'organe et la mise en jeu du pronostic vital, lié à une réponse dérégulée de l'hôte à l'infection. (Monier,2017).

La septicémie se déroule généralement en trois stades de gravité croissante : le syndrome septique, le sepsis sévère et choc septique.

1.2. La Physiopathologie de la bactériémie

Selon le type de mécanisme la bactériémie peut se diviser en trois types suivant leur point de départ et le type de foyer secondaire (Vaubaerdolle, 2007).

- **Transitoire** : c'est une décharge de quelques minutes à quelques heures de germe (le passage momentané) dans le sang sans entraîner pour autant de manifestations pathologiques. La bactériémie transitoire peut être due à des gestes quotidiens comme le brossage des dents ou à des interventions médicales ;

- **Continu** : se traduit par une décharge massive de bactéries dans le sang à partir d'un premier foyer infectieux. Ce type de bactériémie est d'origine lymphatique c'est le cas de la brucellose ou la fièvre typhoïde;

- **Intermittente** : dans ce cas la décharge des bactéries est irrégulière et répétée, sont les bactériémies thromboemboliques et endocardiques.

La figure 1 montre les principaux types de mécanisme de la bactériémie.

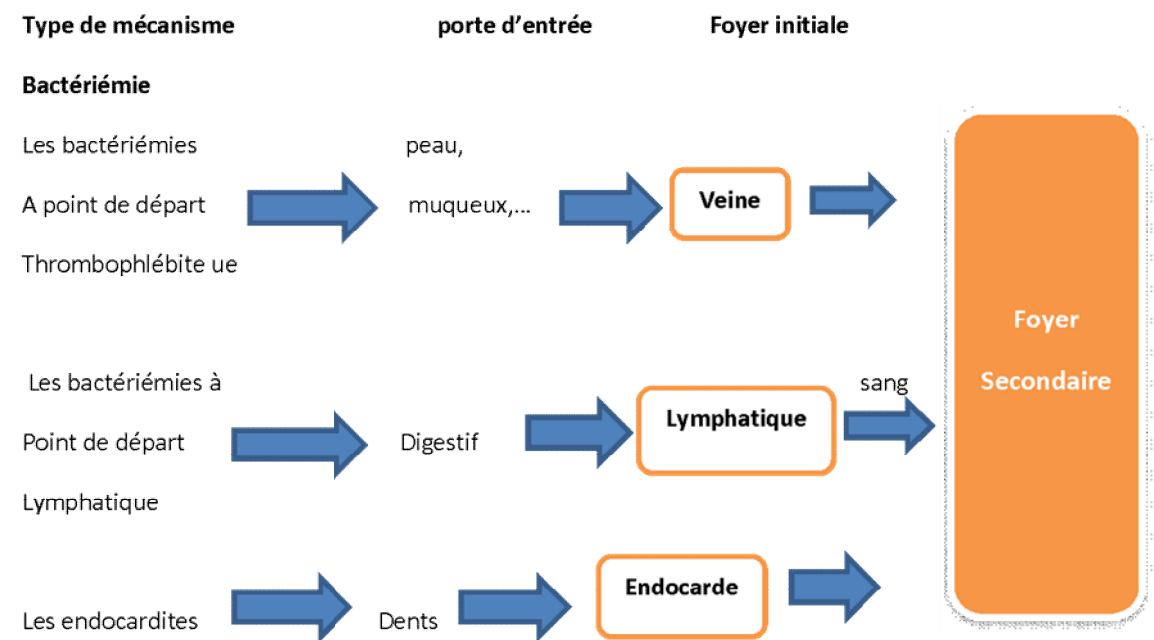


Figure 1. Les trois principaux mécanismes des bactériémies (Lachhab, 2014).

1.2.1. Origine de la bactériémie

La bactériémie est différente selon le lieu d'acquisition d'infection, elle peut être associée au soin (nosocomiale) si elle survient au cours d'une prise en charge dans un établissement de santé (diagnostique, thérapeutique) ; présentant une bactériémie avec un germe nosocomiale, ou chez un patient ayant subi une opération dans le précédent (ou dans l'année si matériel prothétique) et présentant des signes d'infection du site opératoire.

Les bactériémies communautaires sont celles contractées en dehors de l'hôpital, acquises dans la communauté. Se développent spontanément, sans association avec une intervention médicale.

1.2.2. Porte d'entrée et foyer secondaire de la bactériémie

Les germes responsables de bactériémie et de septicémie peuvent avoir différentes portes d'entrées par lesquelles peuvent pénétrer dans l'organisme pour gagner leur foyer secondaire dont l'infection. Les portes d'entrées sont différentes selon l'origine de la bactériémie soit communautaire ou bien associée au soin (Kévin, 2018).

La porte d'entrée et le foyer secondaire se diffèrent aussi en fonction de bactérie responsable de la bactériémie. Ce qui explique le tableau I

Tableau I : Porte d'entrée et localisation secondaire des bactéries Gram positif et Gram négatif.

Bactérie Gram positif		
La bactérie	Porte d'entrée	Localisation secondaire
Staphylocoques	Cutané (geste invasif, cathéter périphérique ou central)	Endocardite, rate, le foie arthrite (os), articulaire, méningite
<i>Streptococcus beta hémolytique</i>	Digestive	Endocardite, Arthrite
<i>Streptococcus du groupe B</i>	Digestive	Endocardite
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pulmonaire, méningite	Méningite, Arthrite, Endocardite
<i>Enterococcus</i>	Digestif	Endocardite
<i>Streptococcus raux</i>	Bucco-dentaire	Endocardite
Bactérie Gram négatif		
La bactérie	Portes d'entrées	Localisation secondaire
<i>Escherichia coli</i>	Digestive, urinaire	Endocardite, extra digestive
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Associé à des matériels étrangers (sonde urinaire.)	Endocardite, pneumopathie, Abces, arthrite.

1.3. Les facteurs de risque développent la bactériémie à la septicémie

Selon **Zidouh (2019)**, plusieurs facteurs favorisent la survenue de septicémie au cours d'une bactériémie :

✓ L'âge

De nombreuses études ont montré l'augmentation de taux de bactériémie chez les sujets plus âgés. Cela provient de plusieurs facteurs on cite par exemple : l'immuno-sénescence qui causé par l'augmentation de l'Age, la malnutrition, l'institutionnalisation...dans ce cas la bactériémie devient plus sévère avec le vieillissement de la population avec des taux de mortalités allant de **21,1% à 35%**;

La bactériémie peut être aussi assez importante chez les nouveau née à cause de l'immature immunitaire, absence ou faible concentration d'anticorps;

✓ les procédures invasives

L'implantation d'un cathéter vasculaire, d'une sonde vésicale ou d'une sonde endotrachéale peuvent constituer un risque d'infection sanguine dans les milieux hospitaliers, qui auraient pour origine un dispositif invasif ;

✓ la durée d'hospitalisation

La durée de séjour et le service est un facteur prédictif de survenue de bactériémie nosocomiale, plus la durée augmente plus le risque augmente ;

✓ l'état physique de patient

Dans le cas d'une personne de mauvais état générale surtout dans le cas des patients atteints de cancer et de maladie chronique comme le diabète et l'hépatopathie alors devient de faible immunitaire ; aussi la personne qui présente des problèmes aux dents ; ou en cas d'absence d'organe comme la rate suite à une ablation, en cas d'une femme enceinte;

✓ la toxicomanie

La prise répétée de drogue ou d'alcool permettent d'augmenter le risque de développement d'une bactériémie, peut aller jusqu'à l'atteindre de l'endocardite bactérienne due à un staphylococcus;

✓ les traitements d'antibiotique initiale inadapté

Les antibiotique sont des médicaments utilisés pour le traitement et prévenir les infections bactériennes ; mais dans certains cas ces bactéries évoluent une résistance à ces médicament en cas d'une prise irrégulier ce qui augmente le risque d'évolution des infections;

Chapitre02

L'hémoculture

2.1. Définition de l'hémoculture

L'hémoculture est une technique bactériologique permettant la mise en évidence des microorganismes circulants dans le sang, dans le but de diagnostiquer une bactériémie.

Cet examen clé consiste à la mise en culture d'un échantillon du sang dans des milieux de cultures ce qui permet d'isoler l'agent infectieux, suivie d'une caractérisation de son profil de sensibilité aux différents types d'antibiotiques, ce qui permet aux médecins de réaliser une antibiothérapie adaptée et active (**Accoceberry et al., 2015**).

2.2. Indication

Les indications de l'hémoculture sont larges, et les signes présentés par un patient susceptible d'entraîner une bactériémie sont très divers, c'est ainsi l'hémoculture peut être réalisée dans les cas suivants :

- En cas d'une fièvre prolongée et inexplicée.
- En cas de présence d'infections graves chez le patient telles que la méningite, la pneumonie, l'endocardite.
- En cas d'une augmentation de tension artérielle ou le contraire.
- En cas d'une augmentation anormale du rythme cardiaque ou de la fréquence respiratoire. (**Biomérieux, 2020**).

2.3. Les prélèvements

2.3.1. Mode de prélèvement

Lorsque le médecin suspecte une bactériémie, l'examen de l'hémoculture est réalisé, cet examen consiste à effectuer un prélèvement sanguin par ponction veineuse périphérique, et généralement au niveau du pli du coude, et cela au moment des pics de fièvres reflétant un état infectieux grave, ou aux moments des frissons qui signifient une décharge bactérienne dans le sang. Cet examen doit être réalisé dans des conditions d'asepsie rigoureuses, afin d'éviter toute contamination par les germes de la flore cutanée, susceptible d'engendrer des résultats faussement positifs (**Caldeira et al., 2002; Calfee et Farr, 2002**).

Au moment de la réalisation des prélèvements, il est nécessaire de prélever un volume adéquat du sang pour une récupération optimale des bactéries, afin d'améliorer leurs détection et améliore la chance du diagnostic (**Zidouh, 2019**).

2.3.2. Stratégie de prélèvement

Le prélèvement de sang pour hémoculture est une étape cruciale pour cette analyse, il doit répondre à plusieurs critères ou exigences, notamment le respect des conditions d'usages et le maintien des conditions d'asepsie durant toute la procédure (**Zidouh, 2019**).

Les principales étapes à respecter pour réaliser un prélèvement d'hémoculture de qualité suivent un Protocole strict, et elles sont principalement :

- La fermeture de la porte de la chambre du patient au moment du prélèvement, afin d'éviter toute contamination par les aérosols;
- Vérifier l'identité du patient, et préparation des éléments nécessaires pour le prélèvement (les flacons, le coton, l'alcool,);
- Désinfection des mains du préleveur par une friction hydro alcoolique ou avec une autre solution de désinfection à efficacité reconnue, et le port d'un masque du type chirurgical et des gants stériles;
- Préparations des flacons et désinfection de l'opercule, puis antiseptie rigoureuse de site de ponction avec un antiseptique approprié (chlorhexidine alcoolique);
- Réalisation de la ponction au niveau de la veine préparée;
- Contrôle de remplissage des flacons en utilisant le repère visuel indiquée sur le flacon, en commençant le remplissage par le flacon aérobie puis le flacon anaérobie afin d'évacuer l'air présent dans la tubulure;
- Terminer la procédure en jetant le dispositif de prélèvement a ailette dans un centenaire a objet tranchant, et se consigner des informations concernant l'identification des flacons, notamment le nom et le prénom du préleveur, la date du prélèvement, la température du patient au moment du prélèvement et le site du prélèvement (**Baron et al., 2013 ; Accoceberry et al., 2015**).



Figure 02: Matériels nécessaire pour prélèvement d'hémoculture (Biomerieux, 2020).

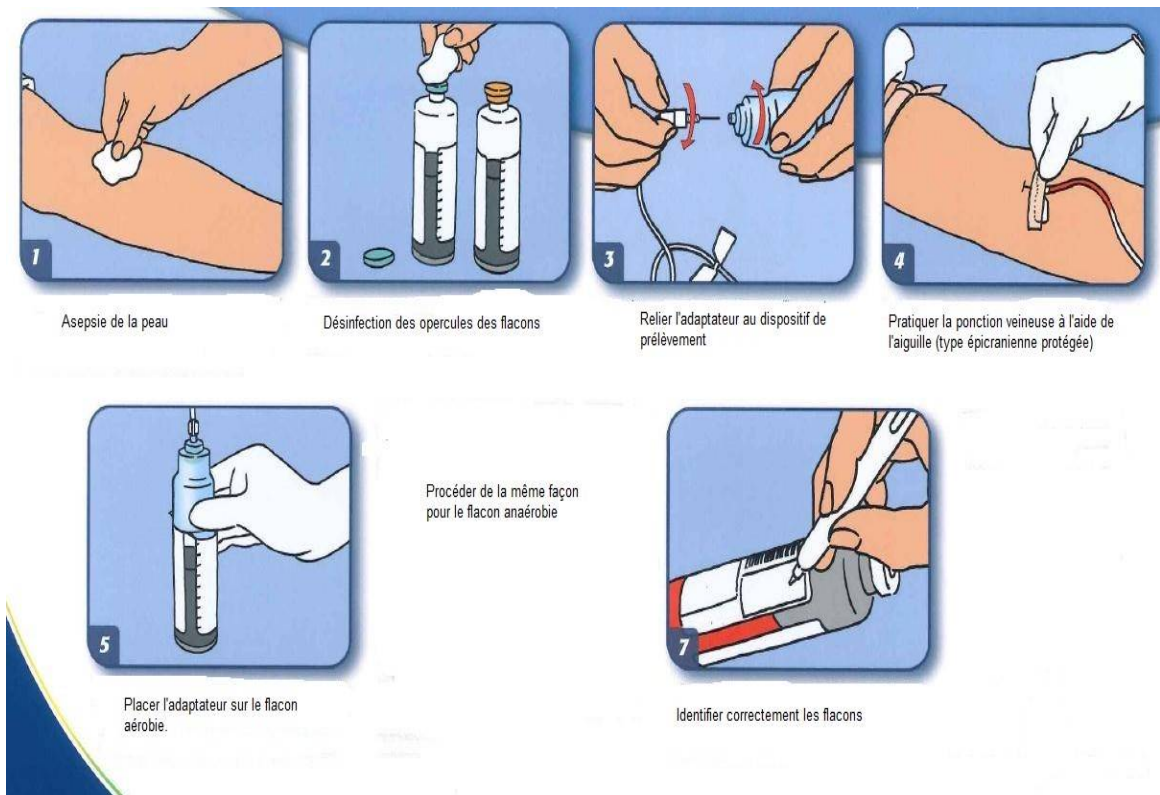


Figure 03: Procédure de prélèvement des flacons d'hémoculture (Biomerieux, 2020).

2.4. La composition des flacons d'hémocultures

Les bactéries responsables d'infections du sang sont très variées, et nécessitent des nutriments pour leur croissance, et exigent parfois certaines conditions de croissance spécifiques lorsqu'il s'agit de germes exigeants (**Garnier *et al.*, 2011**).

La composition des flacons d'hémocultures (aérobie ou anaérobie) a été évoluée grâce aux automates nouvellement inventés au cours des dernières décennies. Ces flacons sont supplémentés de facteurs de croissance, d'anticoagulants et parfois d'inhibiteurs d'antibiotiques, ce dernier a un effet neutralisant des antibiotiques dans le cas où le patient est sous un traitement (**Berrezzouk, 2008**).

Ces flacons comportent aussi une atmosphère permettant la croissance de nombreuses bactéries, notamment pour le flacon anaérobie qui comporte une atmosphère riche en CO₂ qui permet aux nombreuses bactéries exigeantes de se croître, tel que *Brucella*, *Streptococcus*, tandis que le aérobie contient du CO₂ et de O₂ (**Garnier, 2011**).

2.5. Transport et acheminement

Le transport et l'acheminement des flacons d'hémocultures au laboratoire étant importants afin de les incuber dans les automates. Dès que le prélèvement est terminé, il faut s'assurer que les flacons sont bien étiquetés et portent l'identification du patient et toutes les informations nécessaires pour le diagnostic notamment l'antibiothérapie éventuelle donnée pour le patient est sa nature. Ces flacons sont rapidement munis une fois que le prélèvement est réalisé (**Zidouh, 2019**).

2.6. Volume nécessaire à prélevé

Pour améliorer la chance de positivité de l'hémoculture et la détection des bactéries dans le sang, il est nécessaire de prélever un volume important du sang, tandis que le volume minimal a pour risque de perte de chance de diagnostic (**Zidouh, 2019**).

Pour augmenter les chances de marquer un nombre considérable de bactériémie, il est recommandé par la Société Américaine de Microbiologie (ASM) et la Société Américaine de Maladies Infectieuses (IDSA) de réaliser deux à quatre paires d'hémocultures tout en prélevant

dans chaque paire un volume de 20ml à 30 ml, et que chaque paire soit composée de plus de deux flacons si nécessaire (**Baron, 2013**).

2.7. Détection de la croissance bactérienne

La détection de la croissance bactérienne est faite actuellement par les systèmes automatisée, dont le système Bact/Alert, les flacons d'hémocultures sont incubés dans ce dernier à 35°C, et les microorganismes présents dans l'échantillon testé se multiplient en métabolisant les substrats du bouillon de l'hémoculture en produisant du CO₂ qui est mesure par réflectométrie. Pour cela le principe de ce système repose en une mesure indirecte du CO₂ produit par réflectométrie, et tout résultat positif est ensuite averti par une alarme visuelle dans le système (**Monier, 2017**).

Chapitre 03

Les principales bactéries isolées
à partir des hémocultures

3.1. Cocci à Gram positif

3.1.1. Staphylocoque

Le *Staphylococcus aureus* est une bactérie appartenant au genre *Staphylococcus* qui a une forme cocci à Gram positif.

Le genre *Staphylococcus* comporte deux espèces :

- *Staphylococcus aureus* (le staphylocoque à coagulase positive) : Il est impliqué dans nombreuses infections communautaires et nosocomiales, et considéré comme étant un véritable pathogène en raison de son potentiel de pathogénicité élevée (**Bousekraoui et al., 2017**).
- *Staphylococcus à coagulase négative (SCN)* : pathogènes opportunistes impliquées dans les infections nosocomiales (**Bousekraoui et al., 2017**).

Ces bactéries sont caractérisée par leur capacité à fermenter le glucose, catalase positive, oxydase négative, elle sont immobiles et aéro-anaérobies facultatives, et elles tolèrent de concentration élevées en sel, ce qui explique leur développements sur le milieu gélose Chapman, Parmi les espèces, le staphylocoque doré est l'espèce la plus fréquemment pathogène pour l'homme, et responsable de nombreuses infections cutanées et suppuratif (**Vassault A, 2007**).



Figure 04 : colonies de *Staphylococcus aureus* sur le milieu Chapman

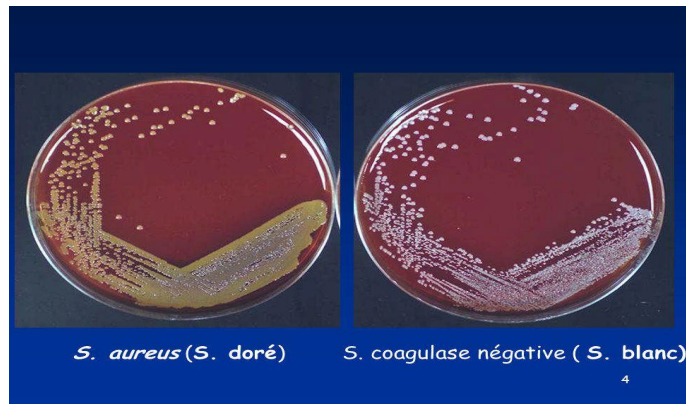


Figure 05: colonies de *Staphylococcus aureus* sur le milieu gélose au sang frais, (à gauche les colonies *S. aureus* et à droite les colonies de *S. coagulase négative*) (Raul Romain, 2020).

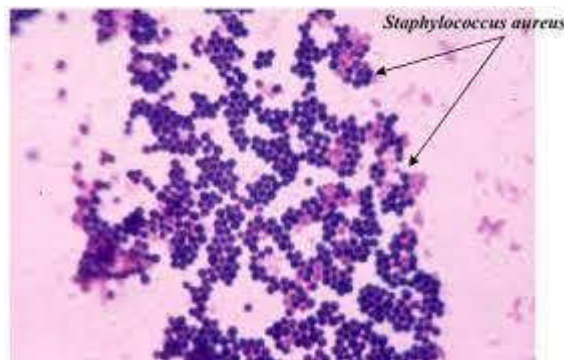


Figure 06 : *Staphylococcus aureus* sous microscope optique au grossissement 400 (Asadi et Jamali, 2017)

3.1. 2. Streptocoque

Ce sont des bactéries du genre *Streptococcus* qui ont une forme cocci à Gram positif, qui sont caractérisée par la présence d'une catalase qui les différencient des staphylocoques, une oxydase négative et une coagulase négatives sont des bactéries immobiles, et exigeantes qui se développe sur des milieux additionné au sang comme la gélose au sang frais (Tony *et al*, 1999).

Plusieurs espèces de genre *Streptococcus* appartiennent à la flore oropharyngée de l'homme et fait partie de la flore commensale, tandis que d'autres espèces sont pathogènes, il existe trois espèces d'importance cliniques en médecine, qui sont :

Streptococcus pyogenes : le streptocoque du group A caractérisé par une b-hémolyse complète qui produit une zone transparente autour de la colonie sur la gélose au sang frais, cette espèce est responsable de plusieurs infections, dont a pharyngite (**Tony et al, 1999**).

Streptococcus agalactiae : le streptocoque du groupe B caractérisé par une α -hémolyse partielle qui produit une zone verdâtre autour des colonies (**Tony et al, 1999**).

Streptococcus pneumoniae : la cause de pneumonies dans la majorité des cas, de méningites, d'otites et de sinusites, elle est communément appelée pneumocoque (**Bousekraouiet al, 2017**).

3.2. Entérocoques

Les entérocoques sont des coques ovoïdes à Gram positif, qui se posent en chaînette, elles sont aéro-anaérobies facultatives, elles sont rarement capsulées et immobiles. Ces bactéries sont caractérisées par la présence d'une enzyme esculinase, d'une **ADH** et d'une réaction **VP** positives (**Bousekraouiet al., 2017**).

Parmi les entérocoques, il ya deux espèces qui dominent la pathologie humaine, sont : *Entérocooccus faecalis* et *Enterococcus faecium*. Ces espèces sont à l' origine des infections urinaires, de bactériémies et endocardites (**Vassault, 2007**).

3.3. Bacilles à Gram négatif

3.3.1. Entérobactéries

Les entérobactéries est une famille de bactéries qui comprennent une grande variété d'espèces y compris des bactéries commensales de l'intestin et d'importants pathogènes comme les shigelles et les salmonelles (**Vassault, 2007**).

Escherichia coli

Bacille à Gram négatif de la famille des entérobactéries, connu également le colibacille, c'est une bactérie commensale de l'intestin de l'homme et des animaux elle est aérobic strict et immobile (**Bakhoun, 2004**).

E. coli exprime les caractéristiques biochimiques générales des entérobactéries notamment, sa capacité à fermenter le lactose avec production du gaz et de H₂S, et capable de produire de l'indole, et incapable d'utiliser le citrate comme source de carbone, pas de formation d'acétoïne et le plus souvent uréase négative (**Biomerieux, 2004**).

Cette espèce est responsable de nombreuses infections, les plus fréquentes sont des infections urinaires et intestinales, ainsi que certaines bactériémies peuvent également se manifester. Chez le nouveau-né, les nourrissons prématurés en particulier, *E. coli* est une cause fréquente de bactériémie ou de méningite (**Allag, 2013**).

Klebsiella, Serratia, Enterobacter

Ce sont des bacilles à Gram négatif qui appartiennent à la famille des entérobactéries, et qui exprime les mêmes caractéristiques biochimiques de cette famille à l'exception de certaines espèces.

Ces trois genres sont des germes hospitaliers qui peuvent provoquer des infections sur des voies urinaires et respiratoires chez les patients hospitalisés dans les établissements de soin à long terme.

- Ces infections sont nosocomiales et communautaires : broncho-pulmonaire, urinaire, méningites purulentes et sepsis et d'une pneumonie (**Bousekraouiet al., 2017**).

3.4. Les espèces non fermentaires

Pseudomonas

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bactéries à Gram négatif, mobiles par une ciliature polaire, rarement immobiles, non sporulées. Qui appartiennent à la famille des *Pseudomonadaceae* (Vassault, 2007).

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce la plus fréquemment isolées en milieu clinique et qui est responsable de nombreuses infections, situons les infections pulmonaires et cutanées, et parfois les infections de la circulation sanguine, mais cette dernière est peu fréquente et en générale d'origine nosocomiale (Vassault, 2007).

Les *Pseudomonas* sont des bactéries à métabolisme oxydatif, c'est-à-dire ayant recours à des réactions enzymatiques d'oxydoréduction pour l'utilisation des nutriments comme sources de carbone et d'énergie. Parmi les caractéristiques biochimiques de *P. aeruginosa*, on retiendra la production d'un cytochrome C oxydase (test de l'oxydase positif), d'un nitrate réductase et d'un nitrite réductase permettant la réduction des nitrates (NO₃) en monoxyde d'azote (NO) puis en azote (N₂), ainsi que d'une arginine désaminase (ADH positive). Elles sont aussi caractérisées par la production d'une enzyme catalase. Les principales espèces isolées en milieu médicale sont : *P.aeruginosa*, *P.stutzeri*, *P.fluorecens* , *P.putida* (Schuster, 2001).

La brucella

Les brucelles sont de petites coccobacilles à Gram négatif et aérobies strictes, connues par leurs caractéristiques biochimiques présentant une catalase et oxydase positive. Ce sont des bactéries non capsulées, la plupart des souches isolées en pathologie humaine comprennent trois espèces principales *Brucella militans*, *Brucella abortus*, *brucella suis*, produisant une uréase d'une action rapide et intense, et qui sont responsable d'une maladie animale transmissible à l'homme, la brucellose (fièvre de malte) (Denis *et al*, 2007).

La brucellose est l'infection causée par la bactérie du genre brucella, caractérisée par la fièvre et des symptômes touchant tout l'organisme. Elle est principalement contractée par

contact avec des animaux infectés ou en consommant d'autres produits contaminés (Bousekraoui *et al.*, 2017).

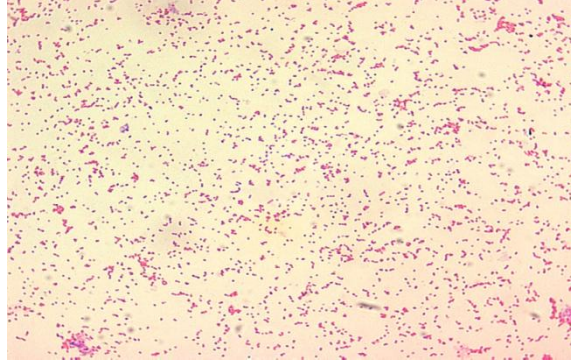


Figure 07 : *Brucella abortus* au sous microscope optique au grossissement 400 (ASM,2016).

Partie expérimentale

I-Matériel et méthode

1. L'objectif et lieu, période d'étude

L'objectif de notre étude est d'établir le profil bactériologique et étudier la résistance des bactéries isolées à partir des hémocultures aux différents antibiotiques au niveau de laboratoire de microbiologie médicale du CHU Tizi-Ouzou.

Durant une période de 1 mois on a étudié 340 cas, parmi eux 140 sont trouvés positifs. Les variables recueillies à la fin de la recherche sont :

- La fréquence des hémocultures demandées par les médecins.
- Répartition des hémocultures selon les services, le sexe.
- Répartition des hémocultures positives selon les germes isolés.

2. Transport et enregistrement des échantillons

Les flacons sont rapidement acheminés au laboratoire, après leur enregistrement dans un registre spécifique des hémocultures, sont immédiatement incubés.

Pour cette étape, un automate spécifique a été utilisé pour l'incubation (le Bact/Alert3D). En raison de l'utilisation des flacons classiques dans certains prélèvements on a travaillé avec deux méthodes : la méthode classique, et la méthode automatisée.

3. Incubation des hémocultures

Les hémocultures sont incubées à 37°C soit en utilisant des flacons classiques soit des flacons spécifiques pour automate sont incubés dans le Bact/Alert. Ce dernier constitue une étuve incubant des flacons hémocultures à 37°C capable de détecter automatiquement la pousse de micro-organisme dans le sang, possède un système d'agitation automatique munie d'un système de lecture optique lisant toutes les 10 minutes. Les flacons possèdent en bas un indicateur colorimétrique séparé de liquide par une membrane perméable au dioxyde de carbone (CO₂) qui produit par le métabolisme des microorganismes au cours de leur croissance, traverse la membrane de manière passive et introduit une réaction chimique en acidifiant l'indicateur colorimétrique qui change de couleur.

Un faisceau lumineux est émis en direction de l'indicateur colorimétrique. La lumière réfractée par l'indicateur colorimétrique est captée par un capteur. Celui-ci reçoit le faisceau puis cette information est ensuite envoyée dans le logiciel de traitement. Le signal recueilli est ensuite analysé selon trois algorithmes (seuil, delta et pente). Puis selon l'analyse le flacon est détecté comme positif ou non. Il existe de rares faux positifs et sont observés notamment chez les patients atteints de leucémies aiguës avec de très forte leucocytoses. En effet les leucocytes consomment de l'oxygène et produisent en retour du CO₂ pouvant tromper l'automate (**Vincent, 2010**).

4. Isolement des bactéries

Les flacons d'hémoculture ne s'ouvrent jamais ; un échantillon a été prélevé par ponction aseptique par l'utilisation d'une seringue stérile. La manipulation a été effectuée pris du bec benzène avec le port des gangs et de masque médical pour éviter toute contamination.

4.1. Milieux d'isolement utilisés

Le milieu d'isolement d'hémoculture doit être spécifique qui permet la multiplication des microorganismes qui se développent pas facilement. De ce fait, on a utilisé la gélose au sang cuit (chocolat).

✓ **La gélose au sang cuite**

C'est un milieu d'isolement enrichie contient des facteurs de croissance varié par la présence d'un mélange de piptone, et de l'amidon de maïs neutralisé les substances toxique libéré par les cultures. Elle est composé de gélose de base (gélose Mueller –Hinton, ou gélose Columbia), ajouté au moment de l'emploi à la gélose fondue 5 à 10% de sang frais défibriné dont la température a été ramené au environ 45° (**Pierre-Yves Guillaume, 2020**).

✓ **gélose au sang frais**

La gélose au sang frais rendue sélective pour les bactéries à gram positif, constituée d'une base nutritives non sélective à la quelle a été ajoute 5 % de sang frais. Elle convient à la culture des bactéries exigeantes (**Fraperie et Lassere, 2016**)

✓ milieu Chapman

C'est un milieu sélectif pour les *staphylococcus* qui les différencie par la fermentation du mannitol permettant une orientation entre autres vers les *Staphylococcus aureus* (Abdelmoiniam, 2016).

4.2. Technique d'ensemencement

La technique utilisée c'est l'ensemencement sur surface avec l'utilisation de la méthode de quatre quadrant. Les boîtes se mettre dans la jarre est incubé dans l'étuve à 37°C.

5. Identification des germes isolés

5.1. Examens microscopique

Consiste à la réalisation des deux examens microscopique un à l'état frais l'autre après la coloration de Gram.

Ainsi l'état frais nous va permettre de reconnaître la morphologie de germe isolées puis la coloration de Gram pour la détection le Gram de la souche isolée ce qui constitue le point de départ du choix des examens complémentaire à effectuer.

5-2. Test d'identification biochimique

5-2-1. Test d'oxydase

La recherche d'oxydase, plus précisément du cytochrome C₂ nous permet la différenciation d'un certain nombre de bacilles à Gram négatif non fermentatifs (oxydase positive) des entérobactéries (oxydase négative). Un disque d'oxydase a été utilisé sur lequel sont frottées quelque colonies bactérienne (Boukerouaz et Benmehidi, 2017). Les résultats sont observés immédiatement. La réaction positive se manifeste par une coloration bleu violet.

5.2.2. Test de catalase

Le test de la catalase est un examen important pour identifier les microorganismes, en particulier les bactéries à Gram positif. L'enzyme de la catalase peut convertir le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Une méthode pour détecte la présence de cette enzyme dans les bactéries est de mélange quelque colonies bactériennes avec une goutte de 10 volumes de

peroxyde d'hydrogène ;la bactérie est catalase positive si il Ya l'apparition des bulles donc le peroxyde d'hydrogène est dégradé (Sékou Koné, 2009).

5.2.3. Test de la coagulation

La recherche de la coagulation nous a permettre de différencier les souches de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive des autres souches *Staphylococcus* à coagulase négative. Ce teste s'effectue dans un tube à hémolyse en ajoutant 0,5 ml de plasma sanguine et 0,5 de bouillon BGT à quelque colonies bactérienne et l'incube 24 heure à 37°C. Si les souches de *Staphylococcus aureus* provoquant la coagulation du tube donc le test considéré positif.

5.2.4. Test d'uréase

Les bactéries possèdent de l'uréase transforment l'urée en carbone d'ammonium. Le test se fait sur milieu urée tryptophane (milieu urée indole).Quelque colonie sont ensemence dans un tube à hémolyse contenant le milieu urée indole et incube pendant 24 heure à 37°.

On considère le test positif si une couleur rouge apparait suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbone d'ammonium.

5.2.5. La galerie API

Galerie API (analytical profile index) est une galerie miniaturisée et standardisée de tests biochimiques, exploitable avec des bases de données d'identification complètes dont la plus connue est l'API 20E. D'autre type de galerie API sont utilisés en fonction de type de bactéries qu'on veut d'identifier, comme le montre le tableau II

Tableau II : les API utilisés et le germe spécifique de chaque une.

Type d'API	Utilisation
API 20E	Identification des entérobactéries et d'autres bacilles Gram négatif
API 20NE	Identification des bacilles Gram négatif non entérobactérie
API STAPH	Identification des Staphylocoques
API STREPT	Identification des streptocoques

6. Antibiogramme

L'antibiogramme est ne concerne que les hémocultures positives, il comprend la technique de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton (**Berrezzouk, 2008**).

6.1. Préparation de la suspension bactérienne :

Préparation de la suspension bactérienne à partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement, on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. On décharge parfaitement l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à **0.9 %**. On homogénéise rigoureusement la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5Mc Farland (McF).

Pour les molécules n'ayant pas de valeurs critiques du CLSI (ayant une charge SFM, telle que la Pristinamycine, Fosfomycine et l'oxacilline 5), l'inoculum à 0.5 McF doit être dilué au 1/10 (**Azizi et Askeur, 2019**).

6.2. Technique d'ensemencement

Un écouvillon stérile prolonge dans le tube contenant la suspension bactérienne et tourner plusieurs fois sur la paroi intérieur pour enlève l'excès de l'inoculum. La surface de boîte de

gélose et ensuite complètement ensemence en faisant des stries sèches, et tourner la boîte d'approximativement d'un angle de 60° et ensemence de nouveau. L'ensemencement se répète jusqu'à 3 fois pour s'assurer d'une distribution régulière de l'inoculum.

Les disques d'antibiotique s'appliquent sur la surface de la gélose avec 6 disques au maximum dans chaque boîte, en utilisant une pince stérile pour s'assurer le contact complet des disques avec la gélose.

La lecture

Les boîtes sont incubées dans l'étuve 24 heures à 37° ; La lecture se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (**Berrezzouk, 2008**).

II-Résultat et discussion

1. Répartition des hémocultures selon le service d'hospitalisation

Les résultats illustrés dans le tableau **IV**, montrent la répartition des hémocultures selon leur provenance. Le service d'urgence Pédiatrique occupe la première place avec un nombre de **132 cas (38,82%)**, suivie par le service Néonatalogie avec un nombre de **57 cas demandés (16,76%)**.

Tableau III : la fréquence d'hémoculture de chaque service d'hospitalisation

Service	Nombre	Fréquence
Urgence pédiatrique	132	38,82
Urgence Médicale	44	12,94
Réanimation Médicale	18	5,29
Néonatalogie	57	16,76
Service infection	39	11,47
Cardiologie	7	2,06
Réanimation chirurgien	5	1,47
Gastrologie	4	1,17
Néphrologie	7	2,08
Hématologie	27	7,94

2. Répartition des hémocultures selon le sexe

Parmi les 340 hémocultures étudiés, **110 cas** proviennent de femmes (**32,35 %**) avec seulement **46** sont réveillés positifs, **230** proviennent d'hommes (**67,64%**) parmi eux **94 cas** positifs ce que illustrés dans le tableau **IV**. Cela démontre une prédominance de sexe masculin par rapport au sexe féminin. Nos résultats sont identiques avec ceux de **Berrezzouk (2008)** mais

déférents par rapport aux résultats **Benmehenni** et **Bourghid** (2019) avec prédominance de sexe féminin de (59%) par rapport au sexe masculine(40) avec un sexe ration 1,45 %.

Tableau IV : répartition des hémocultures selon le sexe.

	Femme	Homme
Total	140	230
Cas positif	46	94
Taux des positifs	32,86%	67,14%

3. Répartition des hémocultures selon les germes isolées

Le tableau V montre la répartition des principales souches bactériennes par ordre décroissante. *Staphylococcus aureus* est le germe le plus isolé avec un taux 30,72 %(43 isolats);suivies par les *Staphylococcus* à coagulas négative avec un taux 21,44% (30 isolats). Les *Klebsiella pneumoniae* sont isolés on quantité faible avec taux de 2,86% (4 isolats) seulement

Tableau V : Les principales souches bactériennes isolées à partir d’hémoculture.

Les bactéries isolées	Nombre	taux
<i>Staphylococcus aureus</i>	43	30,72
<i>Staphylococcus</i> à coagulas négative	30	21,44
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	18	21,85
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16	11,42
<i>Enterococcus faecium</i>	15	10,71
<i>Escherichia coli</i>	14	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	2,86

D’après ces résultats on remarque qu’il y a une prédominance des bactéries à Gram positif par rapport aux bactéries Gram négatif

Les résultats trouvés par **Azizi et Askeur (2019)** à l’EPH Boufarik montrent qu’il y a une prédominance des bactéries Gram négatif avec un taux de **74%** par rapport aux bactéries Gram positif **26%** donc ces résultats sont déférents de notre résultats.

4. Profil de résistance aux antibiotiques

4.1. Cocci à Gram positif

➤ *Staphylococcus aureus*

D’après la figure 08 Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* isolées sont résistantes à l’oxacilline et à la pénicilline ; environ la moites des souches ont développé ont une résistance à l Amikacine (**57,14%**) et a l’Ofloxacine (**45%**). Une faible résistance des isolats détecte vis-à-vis la Rifampicine (**19,5**).Aucune souche n’a résistante à Lévofoxacine et à la Vancomycie

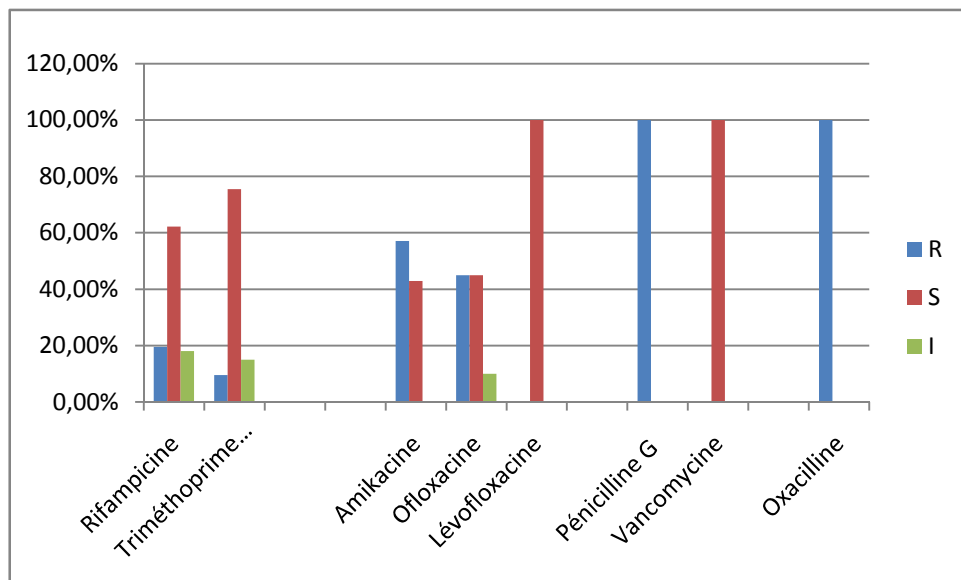


Figure 08 : profil du taux de résistance de *S. aureus*.

Ces résultats sont proches de ceux trouvés par de **ZIDOUH (2019)** au niveau du service de microbiologie de l'hôpital militaire Avicenne Marrakech. Toutes les souches isolées étaient sensibles aux glycopeptides (Vancomycine et Teicoplanine).

Le taux de résistance de *Staphylococcus aureus* était très élevé pour la Pénicilline G (**96%**) ; un taux de résistance était très faible pour la Lévofloxacine (**7,14%**) ; moyennement élevé pour les aminosides (Gentamicine (**28,57%**); la Tobramycine (**28,57%**) ; la Kanamycine (**32,14%**).

➤ *Staphylococcus à coagulase négatif*

Le taux de résistance des isolats de *Staphylococcus* à coagulase négative était **46,66 %** à Triméthoprim-sulfaméthoxazole, une forte résistance observée à la Pénicilline (**80%**), une faible résistance montrée à la Rifampicine (**9,20%**) et à l'Amikacine (**13,58%**). Toutes les *Staphylococcus* isolées montrent une résistance à l'Oxacilline. Une sensibilité totale est observée à la Lévofloxacine. Ces résultats ont été montrés dans la figure 09

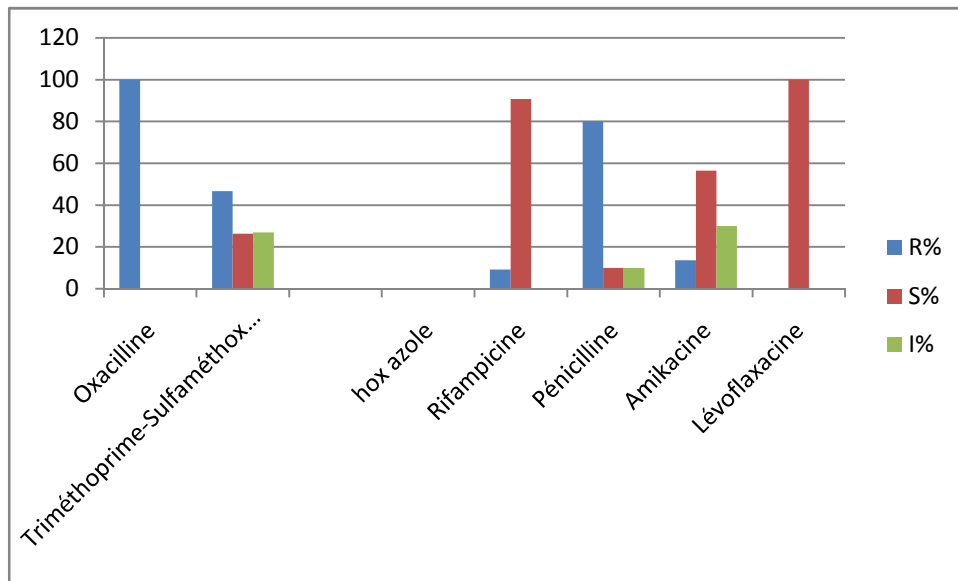


Figure 09: profil de taux de résistance des *Staphylococcus à coagulase négative*.

Les souches isolées dans l'étude de **ZIDOUH (2019)** montrent une résistance intéressante à la Mécilline (**50%**) ; une résistance moyenne à la Lévofloxacine, à la tétracycline, et au Cotrimoxazol (**66%**) ; la résistance à la Kanamycine et Tobramycine et un peu faible (**33%**). toutes les souches étaient sensibles aux glycopeptides (Vancomycine et Teicoplanine).

100% des isolats étaient résistante à la pénicilline ; un taux de résistance était **83,33%** à l'érythromycine.

Staphylococcus aureus est un pathogène redoutable qui a eu développe des résistances à chaque nouvel antibiotique introduit depuis un demi-siècle. La plasticité de son génome lui confère d'acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques (Veyssier, 2019).

Les *Staphylococcus aureus* et les *Staphylococcus à coagulas négatif* présentent une résistance importante à de nombreuses antibiotiques, notamment les B-lactames qui se repose sur deux mécanismes : un mécanisme de résistance extrinsèque par la production de B-lactamase, cette enzyme codé par le gène *bla_Z* porté soit par un transposon soit par un chromosome hydrolyse le cycle B-lactame des pénicillines et les rendant inactives. L'existence de la pénicillinase entraîne une résistance à la Pénicilline G et à la pénicilline A (Ampicilline) et aux Carboxypénicillines (Ticracilline) (Quincapoux et Mainardi, 2001).

Une résistance intrinsèque des *Staphylococcus* par modification de la protéine de la liaison PLP2a ; cette protéine possède une activité enzymatique impliquée dans la synthèse de paroi bactérienne, et possède une affinité pour les B-lactamines.

La résistance des *Staphylococcus* aux macrolides est surtout liée à la production de méthylase responsable de la modification du site ribosomique de ces antibiotiques (Daurel, Leclercq, 2008).

Les fluoroquinolones ont un effet des inhibiteurs des *staphylococcus* en inhibent spécifiquement la synthèse d'ADN bactérienne en agissant sur les topoisomérases de type II (Tiouiri Bensaïssa, 2008)

➤ *Streptococcus pneumoniae*

Les résultats illustrés dans la Figure 10 montrent un taux considérablement moyen de résistance à la Rifampicine (**40%**) ; la résistance à la Clindamycine un peu diminuée (**33,15%**) ; et Vancomycine (**40,5%**) ; un taux de résistance est intéressant marqué à l'Oxacilline (**66,66%**). La moitié des isolats sont résistants à la Pénicilline est (**50%**). Aucune souche des *Streptococcus pneumoniae* isolées n'a été résistante à Lévofoxacine.

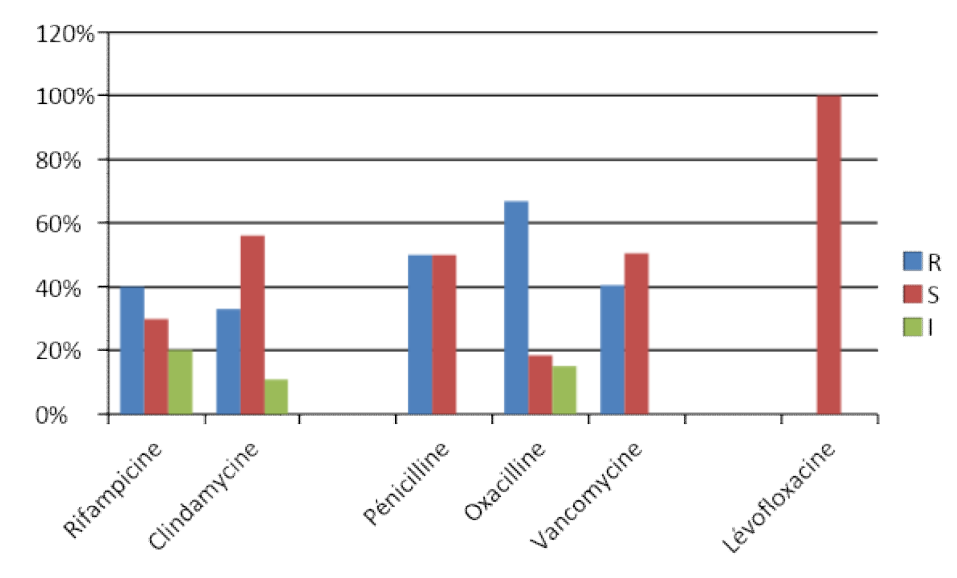


Figure 10 :profil de taux de résistance des *S- pneumoniae*.

Ces résultats sont différents de ceux de **Zidouh (2019)** ; le taux de résistance des isolats des *Streptocoques* était de **20%** pour l'Erythromycine ; **40%** pour la Contrimoxazole, la clindamycine et les Fluoroquinolones (Moxifloxacine et Lévofoxacine). Aucune souche n'a été résistante à la Pénicilline G, à l'Amoxicilline, à la Gentamycine, ni aux glycopeptides (Vancomycine Teicoplanine)

Les Streptococcus pneumoniae possèdent une résistance naturelle aux aminosides mais cette résistance est de bas niveau, elle est liée à un défaut de pénétration car les Aminosides pénètrent par la chaîne respiratoire ou en lien avec elle. Ce niveau de résistance peut être élevé quand ces antibiotiques sont utilisés avec des fortes charges, ce conduit à la modification de la cible ou l'inactivation par une enzyme.

Les Streptococcus pneumoniae peuvent développer une résistance au déférent B-lactamines par la production des B-lactamas ou par la production de PLP à moindre d'affinité pour les B-lactamines.

Les glycopeptides constituent des inhibiteurs pour les *Streptococcus pneumoniae*, ils agissent sur la paroi bactérienne et inhibent la synthèse de cette dernière empêchent la transglycosation en se liant au dipeptide terminal du peptidoglycane, en se chélatant à l'aminoacyl-d-alanine (**Richard, 2017**).

La Lévofloxacine est un antibiotique à large spectre actif contre les *Streptococcus* comme toute les molécules de la famille des Fluoroquinolones, elle inhibe l'ADN gyrase et la topoisomérase IV bactérienne (Drlica et Zhao, 1997).

La topoisomérase IV est une enzyme nécessaire à la séparation de l'ADN répliqué avant la division cellulaire bactérienne. L'ADN n'étant pas séparé, le processus est arrêté et la bactérie ne peut plus diviser l'ADN gyrase, est responsable du enrôlement de l'ADN, de sorte qu'il s'adapte aux cellules nouvelles formées. L'inhibition de ces deux enzymes entraîne la mort des bactéries.

➤ *Enterococcus faecium*

La figure 11 montre le taux de résistance des *Enterococcus faecium* isolées dans notre étude est de 75% à la Rifampicine ; une résistance totale détecté à la Pénicilline G ; la résistance moyenne à l'Ampicilline (60%) ; à la Clindamycine (45,12%).

Une faible résistance vis-à-vis la Vancomycine (12,65%) ; aucune souche isolée n'a été résistante aux Linezolid.

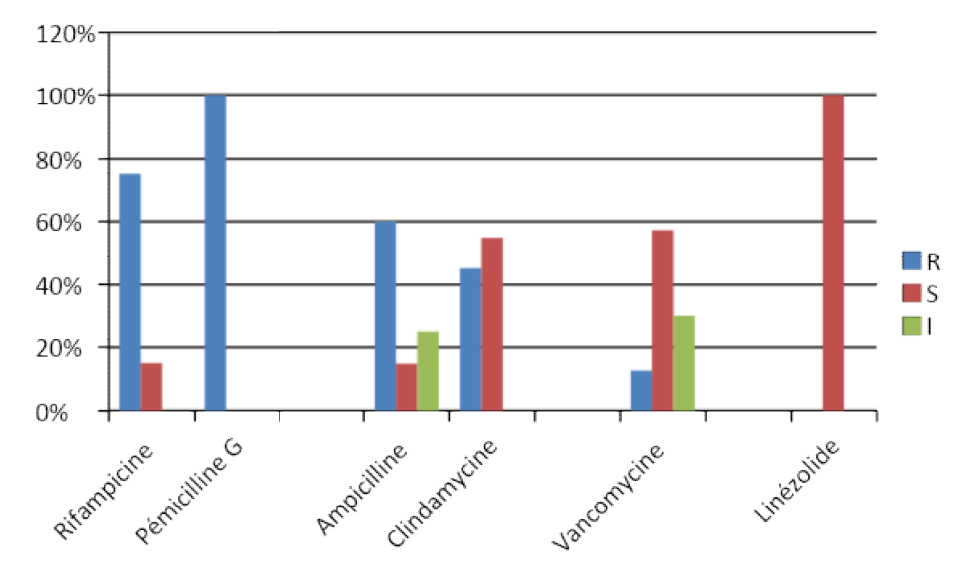


Figure 11: profil du taux de résistance des *E.faecium*

On a remarqué que il ya une similarité des résultats avec ceux de Zidouh (2019). Toutes les souches isolées d'*Enterococcus faecium* étaient résistante à la Pénicilline G et à la

Gentamycine, à l'Erythromycine et à la Clindamycine. Par contre aucune résistance n'a été détectée pour l'ampicilline, les Glycopeptides, la Lévoﬂoxacine et la Linezolide.

Les *Enterococcus faecium* se caractérisent par une résistance naturelle aux B-lactamines notamment à la Pénicilline G. ces bactéries possèdent une PLP particulière (PLP5) de faible affinité pour les B-lactamines responsables de l'augmentation des CMI de Pénicilline ; de même, les Céphalosporines sont naturellement inactives sur les entérocoques.

Les souches d'*Enterococcus faecium* acquièrent une résistance au B-lactamines ; le support de cette résistance est un gène proche du gène *blaZ* codant pour la Pénicillinase exprime de manier constitutive conduit à l'augmentation de la résistance des *Enterococcus* aux plusieurs B-lactamines.

Un autre mécanisme concerne l'hyperproduction des PLP5 ou bien la mutation des PLP5 cette dernier conduit à des CMI de la Pénicilline supérieure à 32 µg/ml chez les *Enterococcus faecium*.

Comme les streptocoques, les *Enterococcus faecium* possèdent une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides due à une anomalie de transport membranaire de ces antibiotiques.

La production d'enzyme 6-N-acétyl-transférase conféré au entérocoque une résistance à la Kanamycine et au Tobramycine.

Enterococcus faecium sont naturellement sensible aux glycopeptides, c'est une résistance plasmidique et transférable. Le mécanisme correspond à une modification de la cible (substitution du dipeptide D-alanine-D-alanine par le dipeptide D-alanine-D-lactate) (Clave, 2017). Les Flouoroquinolones sont peu actives sur les *Enterococcus faecium*. Le Linezolide est un inhibiteur efficace pour les *Enterococcus faecium*, il agit en se fixant sur la sous-unité 50 du ribosome bactérien, près de son centre catalytique (kanyo, Wang et al, 2008).

II.5.2. Entérobactéries

➤ *Escherichia coli*

Les souches d'*Escherichia coli* isolées ont développées une résistance à la Cefazoline, un taux moyen de résistance observé vis-à-vis Lévoﬂoxacine (48,15%), et aux

Piperacilline(54%), ces souches sont faiblement résistantes au Nofloxacine (15 ,80%).Aucune souche d'*Escherichia coli* isolée n'a été résistante à l'Amoxicilline-Acide Clavulanique et à l'Erythromycine. Ces résultats sont illustrées dans la figure 12

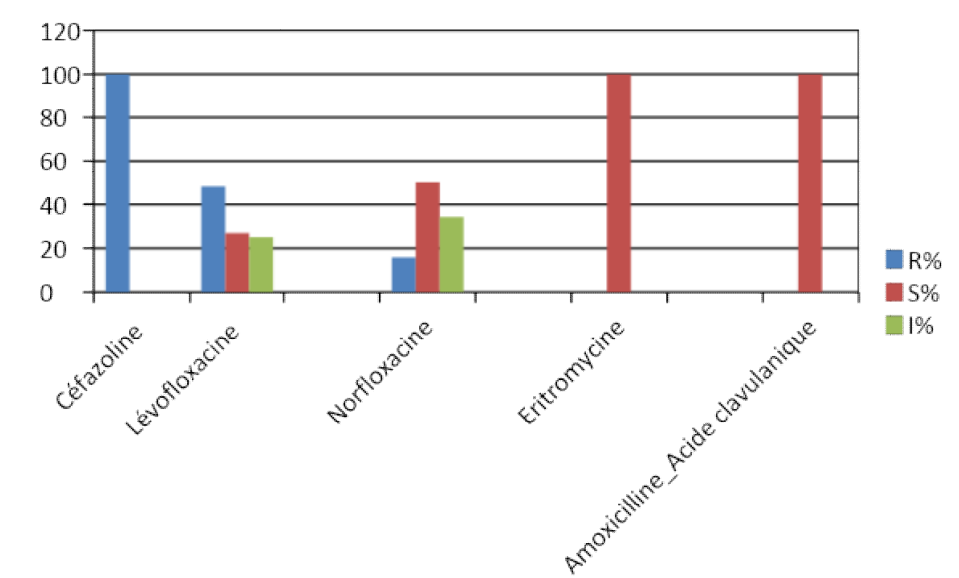


Figure 12 :profil du taux de résistance d'*E.coli*

Ces résultats sont différentes de ceux de **Zidouh (2019)** qui a trouvé un taux de résistance à l'Amoxicilline **76,19%** ; de **71 ,41%** à l'Amoxicilline-Acide Clavulanique, de **80,95%** à la Ticracilline. Des taux de résistance moindre ont été marqués pour les Fluoroquinolones (Ciprofloxacine**47 ,16 %** et la Nofloxacine(**47 ,61%**)). par contre, le taux de résistance était plus faible pour la Piperacilline,Tazobactam (**23,80%**) et très faible pour les Céphalosporines (Céfoxine(**14,28%**), Céfépim(**9,14%**)).

Escherichia coli est un germe plus fréquemment isolés, son profil de sensibilité aux B-lactamines est en un changement perpétuel sous l'effet de facteur évolutif.

Certaine souche d'*Escherichia coli* acquirent une résistance par mutation de gène soit par acquisition du matériel génétique mobile (**Bouabdellahet al., 2008**).

Ainsi, des phénomènes d'imperméabilité, d'excrétion par système d'efflux, ou de modification de protéine de liaison aux Pénicillines peuvent s'observe ; mais la production de B-lactamase constitue actuellement le mécanisme de résistance le plus rencontré chez *E.coli* (**Bouabdellah, 2008**).

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

D’après les résultats de la figure 13 on remarque Une résistance totale des *Pseudomonas aeruginosa* isolées était observé à la Piperacilline, une résistance moyenne de 33% à Nétilmicine et à la Céftazidime (35,65%), à l’Aztréoname(40%). les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans notre étude sont 100% sensible à la Tobramycine et à l’Ofloxacine.

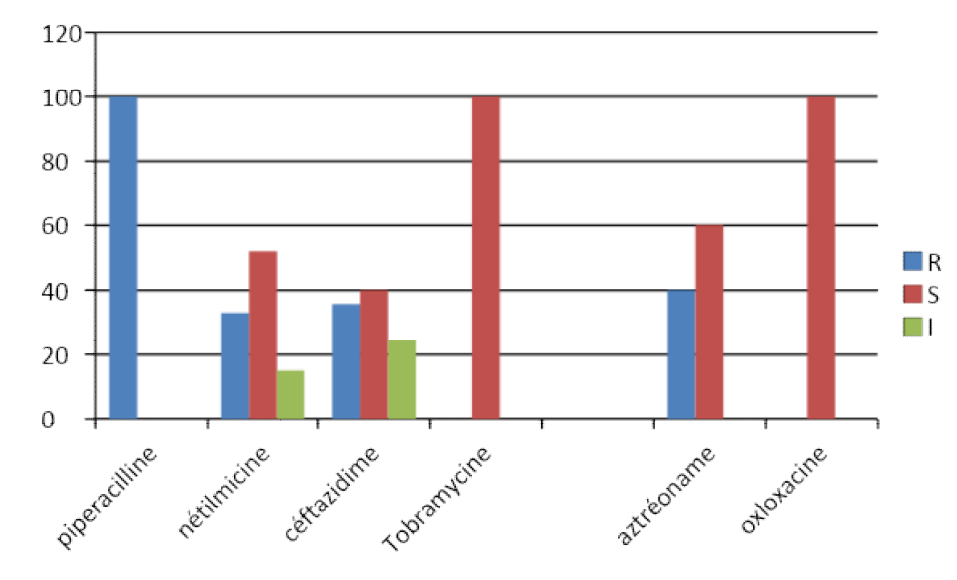


Figure 13: profil du taux de résistance des *P.aeruginosa*.

Ces résultats sont déferents de ceux de **Zidouh, 2019** qui ont trouvés un taux élevé de résistance à la Ticarcilline, et un taux de résistance au Fosfomycine était de 33,34%. La Piperacilline et son association au Tazobactam. Une sensibilité des isolats à la Céfepime et à l’Impénèmeà l’Aztreonam, aux aminosides (laTobramycine, l’Amikacine et la Gentamicine).

Les *Pseudomonas aeruginosa* sont naturellement résistante à des très nombreuse B-lactamines soit par mauvaise perméabilité membranaire, l’extension de mécanisme d’efflux actif et par une production de Céphalosporinas chromosomique inductible.

Parmi les B-lactamines restant active sur les *Pseudomonas aeruginosa* la Piperacilline et les Céphalosporines (Céftazidime)

La Résistance des *Pseudomonas aeruginosa* peut acquérir des résistance par mécanisme enzymatique et non enzymatique. Le mécanisme enzymatique le plus fréquent c'est l'hyperproduction de la Céphalosporinase par mutation chromosomique de gène régulatrice et la Pénicillinase d'origine plasmatique qui épargnent la Céftazidime et l'Aztréoname. Certaines de ces enzymes ont évolué par mutation et élargissent leur spectre.

➤ *Klebsiella pneumoniae*

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées ont un taux de résistance très faible au Carbapénème et à l'Amikacine. Une résistance moyenne à la Piperacilline est observé pour ces souches (54,80%); une résistance plus faible pour la Gentamycine (22,78%)et aux Céfixime(40%). Ces résultats ont été présentés dans la figure 14.

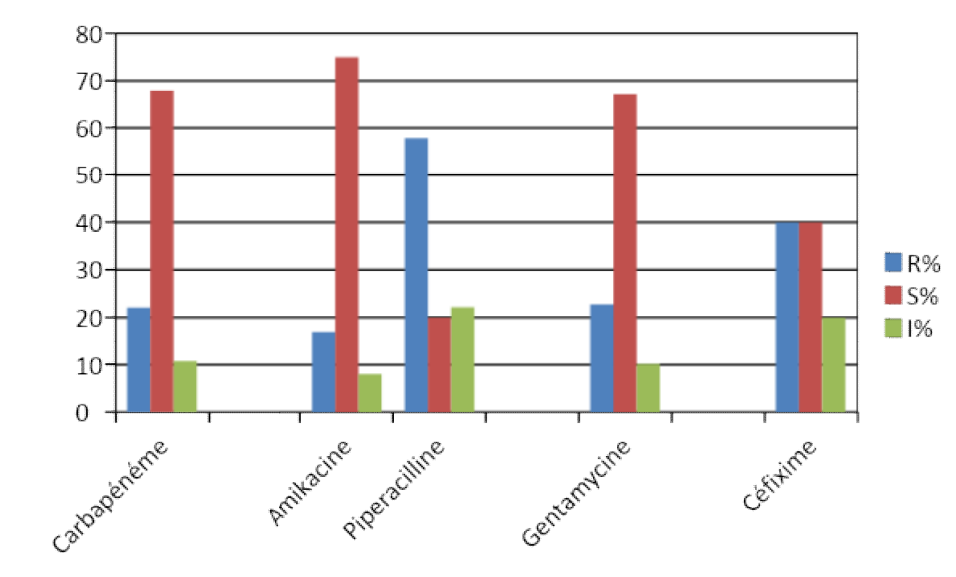


Figure 14: profil du taux de résistance des *k.pneumoniae*.

Les résultats trouvés par **Zidouh (2019)** sont proches de nos résultats pour l'Amikacine et la Piperacilline et les Céfixitime.

Les *K. pneumoniae* isolés par **Zidouh(2019)** ont une résistance plus évolué pour la Gentamycine (62,5%). Aucune souche des isolats n'a résistance à l'Amikacine et au Carbapénème.

Des espèces de *Klebsiella pneumoniae* productrice de Carbapénémases ont été isolées à l'échelle internationale rendant le traitement de certaines infections très problématique.

Les Ceftazidime/ Avibactam ; l'Impénème/Vabobaactame qui comprennent de nouveaux inhibiteurs de la B- lactamase qui inhibe également les Carbapénémases produites par les *Klebsiella pneumoniae* (Bush et Vazquez, 2022).

Les *K.pneumonia* comme les autres entérobactéries présentent une résistance naturelle à l'Ampicilline et à la Ticarcilline par production de Pinecillinase inhibé par l'Acide Clavulanique et le Tazabactam. B- lactamase chromosomique synthétise de faible quantité chez les souches sauvages et la résistance est détectée pour l'ampicilline et la Ticarcilline.

Certaine souche peuvent produit cette B-lactamase en quantité anormalement élevé et sont dites hyperproductrices. Certaine Céphalosporine de troisième génération (Céftriaxone, Aztéoname) sont alors hydrolysées.

Conclusion

Conclusion :

Les bactériémies sont des infections fréquentes en milieu hospitalier, altérant l'état de tous les organes et mettant en danger leur bon fonctionnement. Le diagnostic par hémoculture est l'examen clé devant toute suspicion de bactériémie, permettant ainsi une prise en charge optimale et une antibiothérapie ciblée rapidement prescrites.

En raison de la variété des microorganismes pouvant être trouvée dans le sang, l'examen de l'hémoculture repose sur l'isolement des bactéries et leurs identifications, ce qui oriente vers la porte d'entrée et de l'infection et permet la prévention précoce. Un antibiogramme doit les compléter ensuite afin de déterminer la sensibilité de la bactérie cause et son profil d'antibiorésistance.

Au terme de cette étude, les résultats montrent :

- Le diagnostic étiologique de cette infection nous a permis d'identifier les principaux germes causes : les cocci à Gram positif dont le *Staphylococcus aureus* est majoritaire, suivis par les staphylocoques à coagulase négative, d'entérocoques et dans certains cas de bacilles à Gram négatif.
- sur le plan de sensibilité des germes aux antibiotiques : les cocci à Gram positif isolés présente une résistance assez élevée vis-à-vis la pénicilline G, la Lévofoxacine et la l'Oxacilline. Pour les bacilles à Gram négatif, la Gentamicine, l'Amikacine, Ceftazidime reste le premier de traitement.

Comme pour la plus part des examens microbiologiques, l'interprétation de l'hémoculture est parfois difficile. Pour appréhender correctement la signification, le clinicien doit procéder aux différents techniques d'identifications manuelles est automatisées pour la meilleure prise en charge des hémocultures positifs, ceci sera également utile pour faire un choix d'antibiothérapie empirique lorsque un diagnostic d'infection bactérienne est soupçonné, et permet d'éviter l'antibiothérapie probabiliste source d'échec thérapeutique.

Références bibliographiques

Accoceberry I, Cornet M, Lamy B : Hémoculture. Remic 2015 : Référentiel en Microbiologie Médicale, 5ème édition. Bourlet T., Courcol R., Laudat P., Hermann JL., Lachaud L., Lamy B., Peigue-Lafeuille H., Pangon B., Paris: Société française de Microbiologie; 125-137 p.

Accoceberry I, Cornet M, Lamy B : Bactériémies et fongémies – hémocultures. Rémic (Référentiel en microbiologie médicale) de la Société Française de Microbiologie. 5ème éd., 2015. 28,31p.

Ali Zidouh. Le profil bactériologique des bactériémies et l'état de résistance aux antibiotiques). Thèse de doctorat en médecine. Université cadi ayyad, Maroc. 2019.5, 6p, 76-85.

Allag H. cours des bacilles à gram négatif, 2013.

Bakhoum I : contrôle de qualité et validation de différentes micro méthodes d'identification bactérienne. Thèse pharmacie, 2004.

Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB, et al: A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM) (a). Clin Infect Dis. 2013;57(4):e22-121.

Ben haj Khalifa-A, khedher-M, 2009: Épidémiologie des souches de klebsiella spp. Uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien.

BioMérieux SA. (2004). Api 20NE réf. 20 050. Système d'identification des bacilles à gram négatif. 1, 4p.

BioMérieux: HÉMOCULTURE Un prélèvement d'urgence dans le diagnostic des infections du sang. 2022.

Bouabdellah-M, Tagajdid -MR, zerrouk-A, Benouda-A : Nouveau mécanisme de Résistance d'Escherichia coli aux bêta-lactamines.

Boukerouaz-A, Benmehidi- R, 2017 : profil bactériologique des bactériémies à bacilles gram négatif. Mémoire d'obtention du diplôme de Master. Université des frères Mentouri Constantine p 25.

Boureghdada-k, Benmehenni-H, 2019 : les hémocultures : profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques. Mémoire d'obtention du diplôme de master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A. p 25

Bousekraoui Mohamed, Zouhair Said, Soraa Nabila, Benaouda Amina, Zerouali Khalid, Mahmoud Mustapha: Guide pratique des bactéries pathogènes. Ed 2017. 22, 29, 35, 37, 44, 52, 54, 57p

Buret Jennifer ,2015: Prise en charge des bactériémies.

Caldeira D, David C, Sampaio C: Skin antiseptics in venous puncture-site disinfection for prevention of blood culture contamination: systematic review with meta-analysis. J Hosp Infect. 2011; 77(3):223-32.

Calfee DP, Farr BM: Comparison of Four Antiseptic Preparations for Skin in the Prevention of Contamination of Percutaneously Drawn Blood Cultures: a Randomized Trial. J Clin Microbiol. 2002;40(5):1660-5.

Chang-S, sievertDM , 2003 : infection with vancomycin-Resistance *staphylococcus aureus* containing the van A Resistance gene.

Denis F, Cécile M, 2007 : Ploy bactériologie médicale : techniques usuelles : 111, 112, 113,115p.

Di paolo –A, Malacarne-P, Guidotti-E, Del Tacca-M: Pharmacological issues oflinezolid: an updated critical review.

Dr. Daniel Clave ,2017: Fiche Technique: *Enterococcus faecium*. Fiche technique bactériologie, centre Toulousaon pour le contrôle de qualité biologie Clinique.

Drlica-k, Zhao-X, 1997: DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. Fraperie-P, Lasserre-M-M, 2016 : Bienvenue sur microbiologie médicale.<https://microbiologiemedicale.fr>.

Gélose au sang et gélose au sang + ANC.

Garnier F, Denis F : Hémocultures. Bactériologie médicale. Techniques usuelles, 2ème édition. Elsevier Masson; 2011.

Howden BP, Davies JK , 2020 : Reduced vancomycine susceptibility instaphylococcus aureus, including vancomycine –intermediate and heterogeneous vancomycine-intermediate strains : Resistance mechanisms , laboratory detectionand clinical implications .

Ippolito – JA, kanyo-ZF, Wang-D, et al, 2008: crystal structure of the oxazolidinoneantibiotic linezolid bound to the 50S ribosomal subunit.

J.C.Quincampoix, J.L.Mainardi, 2001: Mécanismes de résistances des cocci à gram positif. Service de microbiologie Clinique, hôpital européen Georges-Pompidou.

Julien MONIER. Évaluation du système Accelerate Pheno TM pour l'identification et l'antibiogramme rapides d'un panel de bacilles à Gram négatif directement à partir des flacons d'hémocultures. 2017. 28p.

Kévine –D,2018 : Gestion des bactériémies et candidémies par des spécialistes des Infection : une enquête multicentrique internationale.

Lachhab-z ,2014 : les bactériémies aux services de réanimation de l'HMIMV de Rabat, 1-68

Ladjal -S, Baghdadi-A : mécanismes de résistance aux bêta-lactamines chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux algériens.

Larabi-K, Masmoudi-A, Fendi-C : étude bactériologique et phénotypes de résistances des germes responsables d'infection urinaires dans un CHU de Tunis : à propos de 1930 cas.

Mahassin Berrezzouk : Hémoculture : profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques (à propos de 539 prélèvements collectés au laboratoire de l'hôpital cheikh zaid à rabat). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Mohamed v, Maroc. 2008.14, 15p.

Mariam sékou-k(2009) : Bilan sept(7) ans d'hémoculture en milieu hospitalier Pédiatrique de Bamako.p 49

Moudjongue Omock S : Mise en place d'un système de surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques: Cas des hémocultures au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako. Thèse de doctorat en pharmacie. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali.

Philippon- A, Arlet-G, 2011 : Entérobactéries et bêta-lactamines : phénotype de résistance naturelle.

Pierre-Yves –G, 2020 : Les milieux de culture.

Raul Romain : *Staphylococcus aureus* Características y su Resistencia a Meticilina. Universidad Autónoma Metropolitana., 2020.

Roland -L : AntibioGramme de *Staphylococcus aureus*, laboratoire de microbiologie, centre hospitalier universitaire de Caen, 14033 Caen cedex.

Schuster C. *Pseudomonas* et apparentés. Syst.microbiol :2001 :1, 6p.

Sentinel Level Clinical Laboratory Guidelines For Suspected Agents Of Bioterrorism And Emerging Infectious Diseases. *Brucella* species American Society for Microbiology (ASM).2016.

Shahin Asadi, et Mahsa Jamali :Assessment the Frequency of *Staphylococcus aureus* Golden Methicillin-Resistant (MRSA) and Vancomycin-Resistant VRSA in Determining the MIC Using E-Test. Immunological Disorders and Immunotherapy., 2017.

Tiouiri Benaissa-H, 2008 : les fluoroquinolones : collègue des maladies infectieuses Microbiologie – parasitologie-mycologie.

Tony Hart, Paul Shears : Atlas de poche de microbiologie. 99p.

vassault A. le manuelle du résident bactériologie médicale. Ed 2017.1, 2, 3, 29, 30, 616p.

Vaubaur dolle-M ,2007 : infectiologie 3ème édition, collection le moniteur.

Veysiere Anais, 2019 : la résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communautaires rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019.Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie p-48.

Vincent- L, 2010 : validation du système automatisé Bact / ALERT3D pour la détection des Contaminations microbiologiques des milieux de culture de cellules épithéliales. Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine. Université de Lorraine.p 43,44

Résumé

L'hémoculture demeure l'examen essentiel en pratique de microbiologie, permettant de détecter l'agent étiologique responsable des bactériémies.

L'objectif de cette étude est d'isoler les différentes bactéries responsables de ces infections et de les identifier.

Il s'agit d'une étude menée sur une période de un mois (01 juin au 01 juillet) portant sur l'ensemble des bactéries isolées à partir des hémocultures des patients hospitalisés au niveau du centre hospitalier universitaire Nedir Mohamed TiziOuzou.

Durant ce mois, 340 flacons ont été étudiés, dont le nombre de cas positifs est de 140 cas, ce nombre reflète de vraies bactériémies. Parmi les bactéries isolées, il a été démontré que le *staphylococcus aureus* a une résistance à l'oxacilline et à l'ampicilline, soit pour un taux de 100%, et les bacilles à gram négatifs présentent une résistance totale à la piperacilline et à la cefazoline selon les espèces. Les espèces les plus fréquemment isolées sont les : *staphylococcus aureus*, les streptocoques, les staphylocoques à coagulase négative.

La connaissance de l'écologie bactérienne et le profil de résistance des germes pathogènes est nécessaire pour guider l'antibiothérapie des bactériémies.

Les mots clés: l'antibiothérapie, bacille à gram négatifs, bactériémies, l'hémoculture

Abstract

Blood culture remains the essential examination in microbiology practice, making it possible to detect the etiological agent responsible for bacteremias, which are serious and feared infections. The objective of this study is to isolate the different bacteria responsible for these infections and to identify them. This is a retrospective study conducted over a period of one month (June 01 to July 1) on all bacteria isolated from blood cultures of patients hospitalized at the University Hospital Center Nedir Mohamed TiziOuzou.

During the three months, 340 vials were revealed, of which the number of positive cases is 140 cases, this number reflected real bacteremia. Among the bacteria isolated, *staphylococcus aureus* has been shown to have resistance to oxacillin and ampicillin, i.e. at a rate of 100%, and gram-negative bacilli have total resistance to piperacillin and cefazolin depending on the species. The most frequently isolated species are: *staphylococcus aureus*, streptococci, staphylococci with coagulase negative. Knowledge of bacterial ecology and the resistance profile of pathogenic germs is necessary to guide antibiotic therapy for bacteremia.

Keywords: Blood culture, bacteremia, antibiotic therapy, gram-negative bacilli.