REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de **Master**

En Science de la nature et de la vie

Spécialité : Microbiologie Appliqué

Par :

Bentegri Marwa

Boumaza Romaissa

Thème :

Etude rétrospective des hémocultures et leurs profils de résistances aux antibiotiques à l'hôpital Mohamed Boudiaf de Médéa.

Soutenue publiquement le : 02 / 07 /2025, Devant le jury composé de :

Mr. Kaaboub Elaid	**Grade**	U. Médéa	Président
Mr. Foudil Mohamed	**Grade**	U. Médéa	Examinateur
Dr. Kechidi Aicha	**Grade**	EPH. Médéa	Encadreur
Mme. Zergoug Amina	**Grade**	U. Médéa	Co-Encadreur

Année universitaire 2024/2025

Remerciement

Nous tenons avant tout à exprimer notre profonde gratitude envers Dieu Tout-Puissant pour nous avoir donné la force, la volonté et la persévérance nécessaires à l'accomplissement de ce travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice, ***Dr.Kechidi Aicha***, pour son encadrement rigoureux, sa disponibilité constante, ses conseils avisés et sa confiance indéfectible tout au long de la réalisation de ce mémoire. Son expertise et son soutien ont été déterminants pour l'aboutissement de notre projet.

Nous remercions également Madame ***Zergoug .A*** pour ses remarques constructives seront sans aucun doute une aide inestimable pour l'amélioration de nos compétences.

Notre gratitude s'étend à toute l'équipe du laboratoire central de bactériologie de l'hôpital Mohammed Boudiaf de Médéa, pour son accueil bienveillant, sa collaboration et son partage de connaissance.

Un hommage particulier au ***Docteur Bourahla***, votre guidance experte durant notre période de stage fut déterminante. Merci pour votre disponibilité, vos démonstrations pratiques et votre soutien constant sur le terrain.

Nous sommes également très reconnaissantes envers les membres du jury d'avoir accepté de juger notre travail et de l'enrichir par leurs suggestions.

Enfin, nous tenons à exprimer notre sincère gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Tout d'abord je remercie mon Dieu de m'avoir accordé l'inspiration et la capacité d'écrire ce projet, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Tous les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, le respect, la reconnaissance

Je dédie ce modeste travail:

❖ ***À moi-même***

Pour toutes ces nuits passées à étudier, ces moments de doute surmontés, et ces petites victoires qui ont construit ma fierté. Tuas tenu bon, même quand le chemin semblait trop long. Cette réussite est la tienne.

❖ ***À mon très cher père Abdesselem***

L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et mon respect, ma fierté, aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, chaque mot d'encouragement a tracé la route jusqu'à ce jour. Que Dieu te préserve te procure la santé et la longue vie et que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

❖ ***À ma très chère mère chahrazed***

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne pourrais exprimer juste avec des mots à quel point je suis reconnaissant pour ton affection, ta bienveillance et ton soutien à travers la prière les conseils et une oreille attentive qui m'ont permis, votre présence a été pour moi comme une source de force pour affronter les différents obstacles.

❖ ***À mon frère Mohamed Amine et ma sœur Safa***

Mes complices, mes soutiens inconditionnels. Merci pour votre patience, vos rires qui ont allégé les moments difficiles, et votre amour qui m'a rappelé que je ne suis jamais seule.

❖ ***À mes chères amies***

Chacune par son nom : **Batoul, Romaissa, Aya, Imene** en souvenir de nos beaux rires et de nos bons moments, et en souvenir de tout ce que nous avons vécu ensemble, je souhaite de tout mon cœur que notre amitié dure pour toujours.

❖ ***À mon grand-père Abderrahmane et ma grand-mère Rabiaa***

Vos bénédictions, vos histoires et votre tendresse ont été une lumière sur mon chemin. Là où vous êtes, sachez que votre amour continue de me guider, Que Dieu vous protège.

MARWA

❖ ***À mes amies d'enfance Aya et Rahil***

Vous connaissez chaque chapitre de ma vie, et pourtant, vous êtes toujours là. Merci pour votre fidélité, vos mots d'encouragement et ces années d'amitié qui m'ont portée bien au-delà de ces études.

❖ ***À mes tantes, oncles, cousins, cousines, et à toute ma famille,***

Votre soutien, vos messages et votre affection ont été une force silencieuse mais précieuse. Merci d'avoir été cette grande chaîne d'amour qui m'a enveloppée tout au long de ce parcours.

Enfin, à tous ceux qui, de près ou de loin,

Ont contribué à cette réussite, Cette page est la vôtre autant que la mienne. Parce qu'aucune victoire ne se construit seule, je vous dis du fond du cœur.

MARWA

Dédicaces

Louange à Dieu pour les bénédictions qu'il nous a accordées.

Et le nombre de choses qui ont semé l'espoir dans nos cœurs, et le nombre de choses qui nous ont ouvert la voie pour y parvenir

Certains moments m'ont laissé tomber, mais Dieu ne m'a jamais laissé tomber

Mes rêves ont parfois été retardés, mais ils n'ont pas été perdus. Je suis arrivé grâce à Dieu, le premier et le dernier.

Car s'Il éclaire le chemin, c'est à nous d'y avancer,

« La meilleure façon de prédire l'avenir est de le créer. »… Peter Drucker.

Ce mémoire est le fruit de cette conviction.

Je dédie ce travail

❖ ***À mon cher père, Moussa رحمه الله,***

Tu étais un homme au vrai sens du mot. Un homme fort, juste, et profondément tendre.

Un père aimant, un pilier de douceur dans notre vie. Un cœur généreux qui nous a aimés d'un amour infini,

Tu as été le meilleur père que je n'aurais pu espérer.

Et chaque jour, je rends grâce à Allah de t'avoir eu comme père.

Bien que la vie nous ait séparés tôt, mais en vérité… tu ne m'as jamais vraiment quitté.

Car chaque battement de mon cœur te prononce.

Je vis chaque jour avec ton nom dans mon cœur et ta mémoire dans mes prières.

Tu m'as donné la force sans le savoir, et ton amour ne cesse de me porter,

J'aurais tant voulu que tu sois là pour voir ce que je deviens.

Si aujourd'hui, je suis debout, digne, croyant, C'est grâce à Allah âpres à toi.

Je prie pour que Allah me permette de t'honorer jusqu'au jour où l'on se retrouvera.

Que Dieu te couvre de sa miséricorde, Qu'Il fasse de ta tombe un jardin du Paradis,

Et qu'Il nous accorde de nous retrouver un jour dans sa lumière éternelle.

Chaque réussite que je réalise, je la dédie à ta mémoire bénie.

Et si tu me regardes d'en haut, papa… J'espère que tu souris.

❖ ***À le plus cher grand-père, Allaoua رحمه الله***

Un homme de dignité, de sagesse, de cœur.

ROMAISSA

Après le départ de papa, C'est toi qui nous as portés.

Tu nous as aimés comme un père,

Quand j'étais perdu, tu étais là. Quand je doutais, tu m'as transmis la foi.

Je me souviens de ton sourire chaleureux, de ta voix douce qui racontait mille histoires, de ta patience sans limite. Tu as semé en moi des valeurs précieuses, un amour profond pour la vie, et la force de toujours avancer.

Puis toi aussi, tu es parti. Et j'ai perdu deux pères…

Deux piliers… deux morceaux de moi.

Mais je vous entends encore tous les deux dans le silence.

Merci. Pour tout ce que tu as été.

Et je vis pour que vous soyez fiers. Là-haut.

Je t'aime...

Ô Allah, récompense-le du meilleur des récompenses, élève son rang, et réunis-nous avec lui au Paradis.

❖ ***À ma mère,***

La femme la plus forte et le cœur le plus vaste que j'aie jamais connu.

Il n'y a pas assez de mots pour parler de toi.

Tu es mon pilier après Allah. Tu as porté plus que ton rôle,

Chaque chose belle que je fais… Portera toujours ton empreinte.

Qu'Allah te garde, te récompense, et t'ouvre les portes du Paradis.

Et même si je ne le dis pas souvent… Je t'aime d'un amour profond, abîmé, mais éternel.

❖ ***À mon frère Zakaria,***

Toi que j'aime infiniment.

Tu es plus qu'un frère. Tu es mon meilleur ami, ma moitié, mon épaule, une partie de moi.

Tu as été une présence quand j'avais besoin d'un repère, Un soutien discret mais constant, Qu'Allah te préserve, et te récompense pour tout ce que tu représentes dans ma vie.

À ceux qui marchent à mes côtés, dans le silence comme dans les rires.

À ma sœur Malek, ma petite lumière au cœur pur,

À mon frère Abdelhamid, ce petit être au regard curieux et à l'énergie qui remplit nos journées.

Je vous aime. De tout mon cœur. De toute mon âme. Pour toujours.

ROMAISSA

❖ ***Et à ma famille,***

À mes chères cousines ***ASMA, IMENE, AMIRA***, à ceux et celles dont le cœur bat au même rythme que le mien,

Je suis fière de venir de vous. Fière de porter votre nom, vos valeurs, vos sourires.

Que Dieu vous protège, vous comble, Et qu'Il nous garde unis,

Dans cette vie… et dans l'autre.

❖ ***À mes précieuses amies Aya, Imene et Marwa,***

Parce que grâce à vous, l'université n'était pas juste des cours,

C'était des fous rires, des confidences, des petits instants volés à la routine.

On a parfois raté des cours, c'est vrai. Mais jamais on n'a raté une occasion de rire,

De se soutenir, de créer des souvenirs qu'aucun diplôme ne pourra égaler.

Merci d'avoir été là, vraies, drôles, présentes.

L'université a été légère… parce que j'avais des amies comme vous.

❖ ***À une âme qui a parlé à la mienne, sans bruit***

Il y a des connexions que ni le temps ni la distance ne peuvent altérer.

Des vérités muettes que seul le cœur sait reconnaître.

Ce lien, discret mais immense, silencieux mais vivant, tu le portes comme moi sans bruit...

Tu es dans chaque force que je trouve, dans chaque moment où je me dépasse,

Dans chaque victoire que je garde pour moi, en pensant à toi.

Il y a des présences qui ne s'expliquent pas, et des personnes qu'on ne peut oublier,

Même quand tout pousse à le faire.

Tu es ce rappel doux, constant, que certaines âmes se reconnaissent bien avant de se croiser.

❖ ***Oh Allah,***

Bénis tous ceux que j'ai cités, vivants et morts.

Accorde-nous Ton pardon, Ta lumière, et Ton amour éternel.

Fais que cette vie soit un pont vers Toi, Entouré de ceux que j'aime.

Un hommage à ceux qu'Allah a placés sur mon chemin comme des cadeaux célestes.

ROMAISSA

Remerciements
Dédicaces
Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations
Résumé

Titre	Page
Introduction	2
Première partie : étude bibliographique	
I. Généralités sur les bactériémies :	5
I.1 Définition :	5
I.2 Historique :	5
I.3 Différentes variétés de bactériémie :	6
I.3.1 A point de départ lymphatique :	6
I.3.2 A point de départ thromboembolique.	6
I.3.3 A point de départ endocarditique.	7
I.4 Classification des bactériémies :	7
I.4.1 Classification selon le mode de décharge :	7
I.4.2 Selon le lieu de son acquisition.	8
I.4.3 Classification selon l'origine.	9
I.5 Epidémiologie.	9
I.5.1 Facteur de risque.	9
I.5.2 Incidence-prévalence.	10
I.5.3 Portes d'entrées.	12
I.6 Physiopathologie.	13
I.7 Manifestation clinique.	13
I.8 Diagnostic bactériologique.	14
II. Hémoculture :	16
II.1 Définition :	16
II.2 Indication :	16
II.3 Réalisation :	17
II.3.1 Mode de prélèvement :	17
II.3.2 Conditions préalables et techniques du prélèvement :	18
II.3.3 Les flacons d'hémoculture :	18
II.3.3.1 Typologie des flacons :	18
II.3.3.2 Vitalité des corps bactériens dans les flacons d'hémocultures :	19
II.3.4 Acheminement :	20
II.3.5 Incubation des flacons :	20
II.3.6 Examen bactériologique :	21
II.3.6.1 Méthode de détection.	21
a) Système manuel.	21
b) Système automatisé**.**	22

• Antibiogramme d'urgence.	23
II.3.6.2 Mise en culture.	24
• Gélose au sang frais.	24
• Gélose au sang cuit « chocolat ».	24
• Gélose Hektoen.	25
• Gélose Chapman.	25
II.3.7 Identification des souches.	25
• Étude microscopique :	25
a) état frais :	25
b) Colorations simple :	26
c) Colorations différentielles :	26
- La coloration de Gram.	27
• Réalisation des tests enzymatique d'orientation rapides :	28
a) Test de catalase :	28
b) Test de l'oxydase :	29
c) Test de nitrate-réductase :	30
• Choix d'une galerie d'identification adaptée (selon l'orientation) et ensemencement de la galerie.	31
II.3.8 Etude de la sensibilité :	32
II.3.9 Interprétation d'une hémoculture :	36
II.4 Résultats :	37
II.4.1 Cocci à Gram Positif :	37
II.4.2 Bacilles à Gram Négatif :	39
III. Antibio-résistance :	43
III.1 Les Antibiotiques	43
III.1.1 Historique :	43
III.1.2 Définition :	44
III.1.3 Types des Antibiotiques :	44
III.1.4 Mode d'action des antibiotiques :	45
III.1.5 Principales classes et familles des antibiotiques.	47
III.1.6 L'Usage des antibiotiques.	50
III.1.7 Critères de choix d'antibiotique :	51
III.2 L'Antibiorésistance :	52
III.2.1 Définition :	52
A. Selon la définition Microbiologique.	52
B. Selon la définition Clinique :	53
III.2.2 Types de résistance :	53
III.2.3 Les Causes d'Antibiorésistance :	54
III.2.4 Les mécanismes de Résistance :	54
III.2.5 Étude de la résistance bactérienne in vitro :	58
III.2.6 L'impact de l'antibiorésistance dans les écosystèmes :	61

A) Impact sur la santé humaine :	62
III.2.7 Conséquences de l'Antibiorésistance :	62
III.2.8 L'antibiorésistance chez le Staphylocoque :	63
A. Résistance aux β–lactamines :	63
B. Résistance aux aminosides :	63
C. Résistance aux macrolides :	63
D. Résistance aux glycopeptides :	63
Deuxième partie : partie expérimentale	
1. Les objectifs de l'étude	65
2. Type de l'étude	65
3. Le lieu d'étude	65
I. Matériels :	65
I.1 Matériels biologiques :	65
I.2 Matériel non biologique :	65
II. Méthodes :	65
II.1 Prélèvement :	65
II.2 Réception – Enregistrement :	68
II.3 Incubation :	68
III. Etude bactériologique :	68
III.1 Examen macroscopique :	68
• Suivi des flacons :	70
III.2 Examen microscopique :	70
III.3 Culture et isolement :	71
IV. Identification :	72
IV.1 Identification macroscopique :	72
IV.2 Identification microscopique :	73
IV.2.1 Examen à l'état frais :	73
IV.2.2 Examen de la coloration de Gram :	74
V. Identification biochimiques ;	74
• Test d'oxydase :	74
• Test de catalase :	75
• Test de la coagulation :	75
• Galeries API :	76
VI. L'antibiogramme :	77
I. Résultats et Discussion :	80
I.1 Caractéristiques de la population étudiée :	80
I.2 Répartition globale des hémocultures :	82
I.3 Hémocultures positives :	84
I.3.1 Répartition des hémocultures positives selon le sexe. :	84
I.3.2 Répartition des demandes et des résultats positifs selon les services :	85
I.3.3 Répartition des demandes d'hémoculture et le taux de positivité selon les mois d'étude :	86

I.3.4	Profil bactériologique des bactériémies :	87
a)	Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram. :	87
b)	Répartition des bactéries isolées selon les genres bactériens :	88
c)	Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne :	89
I.4	Résultats de l'antibiogramme :	92
I.4.1	Profil de résistance des entérobactéries :	92
I.4.2	Profil de résistance des BGNNF :	95
I.4.3	Profil de résistance des Streptococcus :	98
I.4.4	Profil de résistance des Staphylococcus :	100
Conclusion.		103

FIGURE	Page
Figure 1 : Mécanisme simplifié des bactériémies d'origine thromboembolique.	7
Figure 2 : Procédure de prélèvement direct des flacons d'hémocultures**.**	17
Figure 3 : Flacon aérobie et anaérobie d'hémoculture.	19
Figure 4 : % D'isolats significatifs par jour de culture.	21
Figure 5 : Principe de détection des hémocultures.	23
Figure 6 : Lactobacille coloré au bleu de méthylène.	26
Figure 7 : Coloration de Gram montrant des cocci Gram positif et des bacilles Gram négatif.	27
Figure 8 : Bacille de Koch coloré par la coloration de Ziehl-Neelsen**.**	27
Figure 9 : Test de catalase positif (à gauche) et négatif (à droite).	29
Figure 10 : Test de l'oxydase positif (à gauche) et négatif (à droite).	29
Figure 11 : Recherche d'un nitrate réductase.	30
Figure 12 : Galeries API en Microbiologie.	31
Figure 13 : Diamètre d'inhibition autour d'une pastille contenant une quantité définie d'antibiotique (flèche bleue).	33
Figure 14 : Antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé de *Staphylococcus aureus*.	33
Figure 15 : Antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé de *Klebsiella pneumoniae* (SIRSCAN 2000 Automatic I2A).	34
Figure 16 : Professeur Alexander Fleming.	44
Figure 17 : Où et comment agissent les antibiotiques.	45
Figure 18 : Structure de la paroi bactérienne.	46
Figure 19 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative.	55
Figure 20 : Comparaison des mécanismes de résistance des bactéries Gram + et Gram-.	55
Figure 21 : Résistance acquise par modification de la cible.	58

Figure 22 : Flacons d'hémoculture Aérobie et Anaérobie chez l'adulte.	66
Figure 23 : Flacon d'hémoculture pédiatrique.	67
Figure 24 : Diagramme de traitement des flacons d'hémoculture à surveillance manuelle.	69
Figure 25 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental après culture.	70
Figure 26 : Les milieux d'isolement utilisés.	72
Figure 27 : Incubateur pour les flacons et les milieux aérobies (à gauche) et incubateur pour les milieux anaérobies (à droite).	72
Figure 28 : Entérobactéries sous microscope après coloration de Gram.	74
Figure 30 : Répartition de demandes d'hémoculture selon le service.	81
Figure 31 : Les résultats totaux des hémocultures.	82
Figure 32 : Répartition des résultats positifs selon le sexe.	83
Figure 33 : Répartition des demandes et des résultats positifs selon les services.	84
Figure 34 : Répartition des demandes d'hémoculture et le taux de positivité selon les mois d'étude.	86
Figure 35 : Répartition des isolats bactériens selon la coloration de Gram.	86
Figure 36 : Répartitions des hémocultures positives selon les genres.	88
Figure 37 : Répartitions des hémocultures positives selon l'espèce.	89
Figure 38 : Profil de résistance des Entérobactéries.	91
Figure 39 : Profil des résistances des *Klebsiella pneumoniae*.	92
Figure 40 : Résultats d'antibiogramme de *Klebsiella pneumoniae*.	92
Figure 41: Profil de résistance des *E. Coli.*	93
Figure 42 : Résultats d'antibiogramme d'*E.coli.*	94
Figure 43 : Profil de résistance des BGNNF.	96
Figure 44 : Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*.	97

Tableaux	Page
Tableau I : Portes d'entrées de certaines bactéries et leurs localisations secondaires	12
Tableau II : Facteurs de prédiction de la bactériémie.	17
Tableau III : Avantages et inconvénients des systèmes de détection microbiologique	22
Tableau IV : Tests biochimiques utiles en pratique courante**.**	31
Tableau V : Mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques.	47
Tableau VI : Recommandation sur les volumes de sang à prélever en pédiatrie.	66
Tableau VII : Aspect du bouillon d'hémoculture en cas positive.	68
Tableau VIII : L'aspect des colonies bactériennes sur les milieux de culture.	73
Tableau IX : Caractéristiques de la population étudiée.	79
Tableau X : Répartition des nombres des demandes d'hémoculture selon le service	80
Tableau XI : Répartition des souches bactériennes isolées selon l'espèce.	88
Tableau XII : Profil de résistance d'*Enterobacter Cloacae*.	95
Tableau XIII : Profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii.*	98
Tableau XIV : Profil de résistance de *Streptococcus pneumoniae***.**	99
Tableau XV : Profile de résistance des Staphylococcus aureus	100

Liste des Abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique.

API : Analytical Profile Index.

ATB : antibiotique.

BGN : Bacilles Gram négatif.

BGNNF : Bacille à Gram Négatif Non Fermentaire.

BLSE : Béta-Lactamase à Spectre Elargi.

C3G : céphalosporines de 3ème génération.

CLSI: Clinical and Laboratory Standars Institute.

E. coli : *Escherichia coli.*

EDTA : Éthylène diamine tétra-acétique.

EPH : établissement public hospitalier.

GSC : Gélose au sang cuit.

HACEK: *Haemophilus aphrophilus, Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Cardiobacterium hominis, Eikenella corrodens* et *Kingella kingae*.

***K.pneumoniae* :** *Klebsiella pneumoniae.*

MH: Mueller Hinton.

MLS : macrolides, lincosamides, streptogramines (groupe d'antibiotiques).

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PBP : Penicillin Binding Protein.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

Résumé :
L'hémoculture est un examen microbiologique essentiel permettant l'isolement et l'identification des bactéries responsables de bactériémies, des infections potentiellement graves nécessitant une prise en charge rapide et adaptée. Cette étude rétrospective a pour objectif de déterminer le profil bactériologique ainsi que le degré d'antibiorésistance des bactéries isolées à partir des hémocultures reçues au laboratoire central de bactériologie de l'EPH "Mohammed Boudiaf" de Médéa, durant l'année 2024.

Sur un total de 147 hémocultures enregistrées, 17 ont été jugées positives, soit un taux de positivité de 11,56 %. 22 prélèvements ont été considérés comme contaminés, représentant un taux de 14,96 %. La sex-ratio globale est de 1,42 (10 hommes / 7 femmes). Les hémocultures positives provenaient de divers services, les plus demandeurs étant les urgences médico-chirurgicales et la médecine interne, avec un taux de positivité de 29,41 % pour respectivement 24 et 26 demandes, suivis par les services de réanimation, de pédiatrie et des maladies infectieuses.

Parmi les 17 germes isolés, 70,58 % étaient des bactéries à Gram négatif et 23,52 % à Gram positif. Le groupe prédominant était celui des entérobactéries (58,81 %), suivi des bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGNNF) et des staphylocoques à parts égales (17,64 % chacun). Les espèces les plus fréquemment isolées étaient *Klebsiella pneumoniae* (35,29 %), suivies de *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (17,64 % chacun), puis *Pseudomonas aeruginosa* (11,76 %), et enfin *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii* et *Streptococcus pneumoniae* (5,88 % chacun).

La fiabilité des résultats bactériologiques dépend fortement de la qualité du prélèvement, du respect des normes d'hygiène, et de la prescription appropriée des antibiotiques. Un taux élevé de résistance a été observé chez les entérobactéries vis-à-vis des bêta-lactamines, en particulier l'ampicilline (90 %) et l'amoxicilline/acide clavulanique (80 %). Les BGNNF ont montré une résistance de 33 % à la ticarcilline, à la pipéracilline et à la lévofloxacine. Les souches de *Staphylococcus aureus* étaient totalement résistantes à la pénicilline G. La souche isolée de *Streptococcus pneumoniae* est restée globalement sensible, bien qu'une résistance à la clindamycine et à la tétracycline ait été notée.

L'analyse épidémiologique régulière des germes isolés à partir des hémocultures et l'évaluation de leur sensibilité aux antibiotiques sont essentielles pour optimiser la prise en charge probabiliste des bactériémies.

Mots clés :

Étude Rétrospective, Bactériémie, Hémoculture, Antibiotiques, Résistance.

الملخص:
تُعد الزراعة الدموية فحصًا ميكروبيولوجيًا أساسيًا يُستخدم لعزل وتحديد البكتيريا المسؤولة عن تجرثم الدم، وهي عدوى خطيرة تستدعي تدخلاً سريعًا ومناسبًا. تهدف هذه الدراسة الاسترجاعية إلى تحديد النمط البكتيري ومدى مقاومة المضادات الحيوية للبكتيريا المعزولة من عينات الزراعة الدموية التي تم استقبالها في المخبر المركزي لعلم الجراثيم بمستشفى "محمد بوضياف" بولاية المدية، خلال عام 2024.

من أصل 147 عينة زراعة دموية تم تسجيلها، اعتُبرت 17 عينة إيجابية بنسبة 11.56٪. كما تم تصنيف 22 عينة على أنها ملوثة، بنسبة 14.96٪. بلغت نسبة الذكور إلى الإناث 1.42 (10 ذكور / 7 إناث). جاءت العينات الإيجابية من عدة مصالح استشفائية، كان أكثرها طلبًا للفحوصات مصلحتي الاستعجالات الطبية الجراحية والطب الداخلي، بنسبة إيجابية بلغت 29.41٪ لكل منهما (24 و26 طلبًا على التوالي)، تليها مصالح الإنعاش، طب الأطفال، والأمراض المعدية.

من بين 17 جرثومة معزولة، كانت 70.58٪ سالبة الجرام، و23.52٪ موجبة الجرام. وكانت المعويات المجموعة السائدة بنسبة 58.81٪، تليها العصيات سالبة الجرام غير المخمرة والمكورات العنقودية بنسبة 17.64٪ لكل منهما. أكثر الأنواع المعزولة شيوعًا كانت *كليبسييلا الرئوية* بنسبة 35.29٪، تليها *إشريشيا القولونية والعنقودية الذهبية* بنسبة 17.64٪ لكل منهما، ثم *الزائفة الزنجارية* بنسبة 11.76٪، وأخيرًا *إنتروبكتر كلوآكي ، أسينيتوبكتر بومانيي، والعقدية الرئوية* بنسبة 5.88٪ لكل نوع.

تعتمد موثوقية نتائج التحاليل البكتريولوجية على جودة أخذ العينات، والالتزام بمعايير النظافة، والوصف المناسب للمضادات الحيوية. لوحظت نسب مقاومة مرتفعة لدى المعويات تجاه المضادات الحيوية من نوع بيتا-لاكتام، خصوصًا الأمبيسيلين (90٪) والأموكسيسيلين مع حمض الكلافولانيك (80٪). وأظهرت العصيات سالبة الجرام غير المخمرة مقاومة بنسبة 33٪ تجاه تيكارسيلين، بيبيراسيلين، والليفوفلوكساسين. أما عزلات *العنقودية الذهبية* فقد أظهرت مقاومة تامة للبنسيلينG ، بينما ظلت عزلة *العقدية الرئوية* حساسة لمعظم المضادات الحيوية، مع تسجيل مقاومة للكليندامايسين والتتراسيكلين.

يُعد التحليل الوبائي المنتظم للعزلات البكتيرية من الزرعات الدموية وتقييم حساسيتها للمضادات الحيوية أمرًا ضروريًا لتحسين العلاج التجريبي لحالات تجرثم الدم.

الكلمات المفتاحية :

دراسة استرجاعية، تجرثم الدم، الزراعة الدموية، المضادات الحيوية، المقاومة.

Abstract:
Blood culture is an essential microbiological test used to isolate and identify bacteria responsible for bloodstream infections (bacteremia), which are potentially severe and require rapid and appropriate management. This retrospective study aims to determine the bacteriological profile and the degree of antibiotic resistance of bacteria isolated from blood cultures received at the central bacteriology laboratory of the EPH "Mohammed Boudiaf" in Médéa, over the year 2024.

Out of 147 blood cultures recorded, 17 were considered positive, representing a positivity rate of 11.56%. Twenty-two samples were identified as contaminated, accounting for a rate of 14.96%. The overall sex ratio was 1.42 (10 males / 7 females). Positive blood cultures originated from various hospital departments, mainly from the most demanding ones: emergency medical-surgical and internal medicine units, both with a positivity rate of 29.41% for 24 and 26 samples respectively. These were followed by the intensive care, pediatrics, and infectious diseases departments.

Among the 17 isolated bacteria, 70.58% were Gram-negative and 23.52% were Gram-positive. The predominant group was Enterobacteriaceae (58.81%), followed equally by non-fermenting Gram-negative bacilli (NFGNB) and staphylococci (17.64% each). The most frequently isolated species were *Klebsiella pneumoniae* (35.29%), *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* (17.64% each), *Pseudomonas aeruginosa* (11.76%), and lastly, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Streptococcus pneumoniae* (5.88% each).

The reliability of bacteriological results is closely linked to the quality of sample collection, adherence to hygiene standards, and appropriate antibiotic prescription. High resistance rates were observed among Enterobacteriaceae to beta-lactams, particularly ampicillin (90%) and amoxicillin-clavulanic acid (80%). NFGNB showed 33% resistance to ticarcillin, piperacillin, and levofloxacin. *Staphylococcus aureus* strains showed total resistance to penicillin G. The *Streptococcus pneumoniae* strain remained largely sensitive, although resistance to clindamycin and tetracycline was noted.

Systematic epidemiological analysis of isolates from blood cultures and assessment of their antibiotic susceptibility is essential to optimize empirical treatment of bacteremia.

Keywords:

Retrospective study, Bacteremia, Blood culture, Antibiotics, Resistance.

Introduction

Introduction

Les bactéries sont en contact permanant avec l'être humain, étant présentes dans son environnement ou sur son propre corps.

Une variété d'espèces bactériennes comptant environ bactéries constitue la flore microbienne de l'homme, colonisant divers compartiments de l'organisme (peau, appareil digestive et muqueuse vaginale) et lui procurant dans l'état normal un bénéfice. Certains organes sont caractérisés par l'absence de flore microbienne et leur bon fonctionnement est lié à leur stérilité. L'accès de microorganismes à ces organes et leur multiplication détermine une infection. **(Baron, 1996 ; Willey, 2008).**

Les bactériémies sont des affections graves, responsables d'une morbidité et d'une mortalité significatives à travers le monde, et font partie des infections associées aux soins (IAS) les plus fréquentes . Ces affections constituent une urgence diagnostique et thérapeutique. Elles surviennent lorsque des microorganismes pathogènes pénètrent directement dans la circulation sanguine et se propagent dans tout le corps qui peuvent entraîner des complications graves telles que la septicémie. Le taux de mortalité qui leur est attribué est élevé, notamment en cas de bactériémie poly microbienne. **(C.Okalla Ebongue et al, 2014).**

La pratique des hémocultures est une technique de plus en plus répandue en raison du grand intérêt rapporté dans le diagnostic de la bactériémie d'une part et de la facilité du prélèvement d'autre part cependant, cette voie de prélèvement reste accompagnée d'un risque important de contamination rendant parfois difficile leur interprétation et pouvant conduire à une surestimation de la réalité de l'infection. une hémoculture faussement positive augmente non seulement le travail au laboratoire, mais aussi prolonge le séjour du patient et conduit à une utilisation accrue et irrationnelle d'antibiotiques ce qui favorise une pression de sélection des souches résistantes et par conséquent, augmente la résistance bactérienne aux antibiotiques **(El houssaini, 2019).**

L'importance de prendre en compte la résistance bactérienne à l'échelle mondiale réside dans la nécessité de contrôler l'émergence et la propagation des souches résistantes aux antibiotiques. L'identification précise des espèces bactériennes permet de mieux comprendre leur diversité et leurs mécanismes de résistance, favorisant ainsi la recherche de nouveaux antibiotiques et de nouvelles alternatives **(Jarlier, 2019; Bassoum et al, 2023).**

Dans cette optique, l'objectif de cette étude est de déterminer le profil bactériologique et l'Antibiorésistance des bactéries isolées à partir des hémocultures reçues au laboratoire centrale de bactériologie de l'EPH "Mohammed Boudiaf " de Médéa. Durant une période d'une année (2024).

Synthèse bibliographique

Chapitre I:
Généralités
sur
les Bactériémies

I. Généralités sur les bactériémies :

I.2 Définition :

Le sang est un liquide biologique normalement stérile. La mise en évidence de germes dans le sang est donc à priori anormale. On appelle bactériémie**,** la présence de bactéries dans le sang. Elle est diagnostiquée par une hémoculture, c'est à dire la mise en culture du sang circulant.

En premier lieu, il est important de retenir que toutes les bactériémies ne sont pas pathologiques. **(Fraperie, 2020).**

I.3 Historique :

Le terme « septicémie » a été créé en 1837 par le médecin Français « Piere Piarry » à partir du mot grec « SepTikos ».

Le sepsis a été connu, sous différentes appellations, auparavant on parlait par exemple de « gangrène des hôpitaux », les plus affectés étaient les soldats dont le plus célèbre des cas était « Richard » croustilles décédé en 1199.

Le terme « fièvre puerpérale » aussi été utilisé pour une infection de post partum (après l'accouchement).

Les deux médecins alsaciens **Victor Pelez** et **Léon Coze** étaient les premiers qui ont démontré la présence des bactéries dans le sang En 2002. Le sepsis a été définit comme une réponse inflammatoire généralisée d'origine infectieuse.

En 2016, la définition a été revisitée, et il est considéré commun un dysfonctionnement d'organe .

L'histoire des antibiotiques est liée à la découverte des microorganismes bactériens le début remonte en 1887 avec les travaux de **PASTEUR** et **JOUBERT** qui constatèrent que les cultures des bactéries de charbon poussaient difficilement lorsqu' 'elles étaient en contact des bactéries aérobies saprophytes. Ils conclurent qu'il était possible d'obtenir des médicaments à partir de cette expérience.

Notons que dés 1940, **ABRAHAM** et **CHAIN** montraient l'inactivation enzymatique de la benzylpenicilline en présence d'extrait bruts de plusieurs espèces bactériennes dont

Escherichia coli. L'enzyme est dénommé à fortiori « Pénicillinase », d'autres enzymes étaient par la suite identifiées dont celles de *Staphylococcus aureus* en 1944. POLLOCK proposa en 1960 la dénomination « bétalactamases ».

Dans l'optique de freiner l'émergence de résistance de germes, un effort considérable est consacré à la recherche de nouvelles molécules stables vis-à-vis des bétalactamases . Ainsi la méticilline et l'oxacilline etaient obtenues en 1960, la Fluocloxacilline en 1970. La pénicilline G ayant un spectre d'activité étroit, des pénicillines à spectre large seront synthétisées : ampicilline en 1967, amoxicilline en 1971. Pendant ce temps la recherche de produits naturels se poursuivait .l'acide clavulanique est obtenu à partir d'une souche de *streptomyces clavuligerus* en 1976 , et le sulbactame par hemisynthèse en 1978.

Des modifications des éléments de structure permettent l'obtention d'autres molécules intéressantes : nouveaux macrolides, nouvelles cyclines et en 1985 les fluoroquinolones.

I.4 Différentes variétés de bactériémie :

I.4.1 A point de départ lymphatique :

Elles sont rares. La porte d'entrée est souvent digestive. Les bactéries traversent la peau ou la muqueuse puis gagnent les ganglions lymphatiques par les vaisseaux lymphatiques afférents. Certains germes y résistent à la destruction par les macrophages bien au contraire s'y multiplient. Ils quittent ensuite le ganglion par le vaisseau lymphatique efférent et rejoignent la circulation générale par le canal thoracique.

La décharge bactérienne est continue, la fièvre plutôt régulière. Les bactéries restées au niveau des ganglions mésentériques, sont souvent lysées ce qui libère leur endotoxine dans le sang. Le risque de choc endotoxinique est fréquent. **(Fraperie, 2020).**

I.4.2 A point de départ thromboembolique.

C'est une atteinte de l'endothélium veineux à partir d'une porte d'entrée cutanée (plaie, infection de brulure, pose de cathéter) ou muqueuse (rhinopharynx, appareil génital). Une réaction inflammatoire **(Figure 1)** se développe localement et sera à l'origine d'une thrombophlébite (inflammation d'une veine accompagnée d'un caillot sanguin au siège de l'inflammation). Sous l'action d'enzymes microbiennes protéolytiques comme les fibrinolysines, le caillot est ensuite dissocié en petits fragments (emboles septiques) qui suivent le courant sanguin. Le germe présent au niveau du caillot passe périodiquement dans

le sang. Ces emboles sont suffisamment petits pour être rapidement phagocytés mais quelquefois certains y échappent et développent des foyers infectieux secondaires (pulmonaires, ostéo-articulaires, endocardiques). Dans ce type de bactériémie la fièvre est irrégulière et se sont les bactériémies les plus fréquentes. **(Fraperie, 2020).**

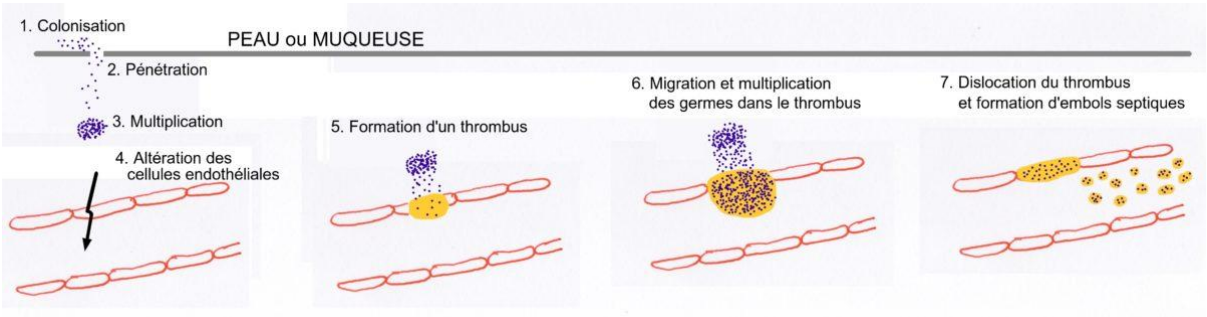


Figure 1 : Mécanisme simplifié des bactériémies d'origine thromboembolique. **(Pascal Fraperie, 2020)**

I.4.3 A point de départ endocarditique.

L'infection commence au niveau du cœur avec la formation de végétations, puis se propage localement, augmentant la taille et le nombre de végétation, désintégrant et détruisant le tissu valvulaire et s'étendant dans l'espace péri-valvulaire. Ces lésions anatomiques provoquent des troubles hémodynamiques, le plus souvent sous forme d'insuffisance valvulaire, conduisant souvent à une insuffisance cardiaque. Les complications emboliques sont très fréquentes **(Suty et al, 2019).**

Les germes responsables de cette infection sont ensuite libérés avec leurs toxines dans le sang. L'infection se propage dans tous l'organisme. Certains symptômes caractéristiques sont la fièvre et l'insuffisance cardiaque **(Vaubourdolle, 2007).**

I.5 Classification des bactériémies :

I.5.1 Classification selon le mode de décharge :

I.5.1.1 Bactériémie transitoire :

La bactériémie transitoire se caractérise par une brève introduction de bactéries dans le sang, durant quelques minutes à quelques heures, sans provoquer de manifestations cliniques. Elle survient généralement après une irritation d'une muqueuse colonisée par une flore microbienne. Cette bactériémie peut être spontanée, comme lors du brossage des dents, ou

provoquée par des gestes invasifs tels que des soins dentaires, la pose d'une sonde urinaire, une intervention chirurgicale ou l'insertion d'un dispositif intravasculaire (cathéter, perfusion intraveineuse) **(Weinstein et al, 1997).**

I.5.1.2 Bactériémie intermittente

La bactériémie intermittente correspond à des décharges bactériennes répétées dans la circulation sanguine. Elle est souvent associée à une infection focale, telle qu'une pneumonie, une ostéomyélite, une spondylodiscite ou un abcès, quelle que soit sa localisation **(Mermel et al, 2009).**

I.5.1.3 Bactériémie persistante

La bactériémie persistante se définit par une décharge continue et prolongée de bactéries dans le sang. Elle est fréquemment observée dans des infections graves comme les endocardites infectieuses, les infections intravasculaires, la brucellose ou la fièvre typhoïde **(Laupland et al, 2013).**

I.5.2 Selon le lieu de son acquisition.

I.5.2.1 Bactériémie communautaire.

La bactériémie communautaire se développe de manière spontanée, sans aucun lien avec une hospitalisation, un soin médical ou une intervention chirurgicale. Elle survient généralement dans un environnement microbien moins résistant aux antibiotiques **(Vallés, 2008).**

Une bactériémie est classée comme communautaire dans les situations suivantes:

- Les hémocultures sont prélevées dans les 48 heures suivant l'admission chez un patient n'ayant subi aucune intervention chirurgicale dans le mois précédent ni été hospitalisé dans la semaine précédente.
- Les hémocultures sont prélevées après 48 heures d'admission chez un patient présentant des signes d'infection dès son admission
- Les hémocultures sont prélevées lors d'une séance de dialyse ambulatoire **(Pertignat, 2019).**

I.5.2.2 Bactériémie nosocomiale

La bactériémie nosocomiale survient au moins 48 heures après l'admission à l'hôpital. Elle est généralement acquise dans un contexte de résistance bactérienne accrue et est souvent

associée à des procédures invasives, telles que la pose de cathéters ou des interventions chirurgicales **(Pertignat, 2019).**

Une bactériémie est définie comme nosocomiale dans les cas suivants :

- Les hémocultures sont prélevées après 48 heures d'admission chez un patient ne présentant aucun signe infectieux à l'admission.
- Les hémocultures sont prélevées après 48 heures d'admission chez un patient ayant été hospitalisé dans les 7 jours précédents ou ayant subi une intervention chirurgicale dans le mois précédent, avec un germe typiquement nosocomial ou des signes d'infection du site opératoire **(Pertignat, 2019).**

I.5.3 Classification selon l'origine

I.5.3.1 Bactériémie primaire.

Une bactériémie est qualifiée de primaire lorsqu'aucun foyer infectieux initial n'est identifié comme source de la dissémination bactérienne dans le sang.**Réseau BN Raisin (2004)**

CDC Guidelines on Bloodstream Infections (2021) : mentionne que **15** à **30 %** des bactériémies sont classées " sans foyer identifié .

I.5.3.1 Bactériémie secondaire.

Elle est dite secondaire lorsqu'elle résulte d'un foyer infectieux préexistant (pneumonie, infection urinaire, abcès, etc.), avec isolement du même agent pathogène dans le sang et le site infectieux primaire **(Mandell et al, 2020).**

I.6 Epidémiologie.

I.6.1 Facteur de risque.

La survenue et la fréquence des bactériémies dépendent des interactions complexes entre de nombreux facteurs liés à l'hôte lui-même, à l'agent pathogène et à la qualité du système de soins **(Benmesbah, 2019).**

Les facteurs de risque liés au patient sont classiques :

- l'âge : dont le risque est plus élevé chez les nourrissons et les prématurés aussi bien chez les personnes âgées (65ans) **(Bernard, 1997)** ;

- le sexe : les hommes présentant un risque de sepsis supérieur de 30% par rapport aux femmes **(Berkowitz, 2007);**
- le nombre de pathologies associées et leurs degrés de gravité;
- le terrain : alcoolisme , splénite, agranulocytose, cirrhose, maladies néoplasique ou malnutrition.

Les facteurs liés à l'infection et aux micro-organismes sont :le site de l'infection primaire, l'importance de l'inoculum, la virulence, la résistance et la capacité de colonisation du micro-organisme.

Les facteurs liés aux soins sont :

- la durée de séjour,
- les procédures invasives (type, nombre, durée),
- le nombre et la qualification du personnel de soin **(Benmesbah, 2019).**

I.6.2 Incidence-prévalence.

Les enquêtes de prévalence constituent l'outil de base pour la surveillance des infections nosocomiales. Elles ont même été recommandées par l'Organisation mondiale de la Santé pour des études nationales ou internationales **(Avril JL, Donnio PY)**. Elles permettent de faire, de manière simple et à moindre coût, un état des lieux du risque infectieux nosocomial. Cet avantage est encore plus considérable dans les pays de faible niveau socio- économique où les ressources disponibles pour la lutte contre les infections nosocomiales font défaut **(Jepsen OB)**. De plus, ces enquêtes constituent un outil de sensibilisation et d'information du personnel **(Comité technique national des infections nosocomiales), (RAISIN 2003)**.

Les infections bactériennes étaient au second rang après la cardiopathie ischémique en termes de cause principale de décès en 2019 (The Lancet).

Leur réduction est une priorité de santé publique sur le plan mondial. Le renforcement des systèmes de santé, le développement de la capacité des laboratoires de diagnostic, la mise en place de mesures de contrôle et la généralisation de l'utilisation des antibiotiques sont essentiels pour réduire la charge de morbidité des infections bactériennes courantes.

La nouvelle étude fournit les premières estimations mondiales de la mortalité associée aux 33 bactéries pathogènes courantes et aux 11 grands types d'infections ,entraînant la mort par septicémie. Les estimations couvraient tous les âges et tous les sexes et portaient sur 204

pays. À partir des données et méthodes des études Global Burden of Disease (charge mondiale des maladies) de 2019 et Global Research on Antimicrobial Resistance **(GRAM)** (recherche mondiale sur la résistance antimicrobienne) (**GBD 2019**).

Les auteurs ont utilisé 343 millions dossiers individuels et de pathogènes isolés pour estimer les décès associés à chaque pathogène et le type d'infection responsable.

Sur les 13,7 millions de décès d'origine infectieuse estimés qui se sont produits en 2019, 7,7 millions étaient associés aux 33 bactéries pathogènes étudiées.

Les décès associés à ces bactéries représentaient 13,6 % de tous les décès à l'échelle mondiale, et plus de la moitié de tous les décès d'origine septique en 2019.

Plus de 75% des 7,7 millions de décès dus aux bactéries se sont produits en raison de trois symptômes : infections des voies respiratoires inférieures, infections sanguines et infections péritonéales et intra-abdominales.

Cinq pathogènes - *S. aureus*, *E. coli*, *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae et P. aeruginosa* - se sont révélés responsables de 54,2 % des décès parmi les bactéries étudiées.

Le pathogène associé à la plupart des décès dans le monde était le *S.aureus*, responsable de 1,1 million de décès. Quatre autres pathogènes étaient chacun associé à plus de 500 000 décès : *E. coli* (950 000 décès), *S. pneumoniae* (829 000 décès*), K. pneumoniae* (790 000 décès) et *Pseudomonas aeruginosa* (559 000 décès). Un nombre similaire de décès de femmes et d'hommes étaient associés aux bactéries pathogènes principales.

Les taux comparatifs de mortalité par âge variaient en fonction de la région, tout comme les pathogènes les plus mortels. L'Afrique sub-saharienne enregistrait le taux de mortalité le plus élevé, avec 230 décès pour 100 000 habitants. Par comparaison, la super-région à revenu élevé - qui inclut les pays d'Europe occidentale d'Amérique du Nord ,l'Autralasie a enregistré le taux de mortalité le plus faible, avec 52 décès pour 100 000 habitants.

Le S. aureus était la cause principale de décès liés à des bactéries dans 135 pays, suivi de l'E. Coli (37 pays), du S. pneumoniae (24 pays) et du *K.* pneumoniae et de l'Acinetobacter baumannii (4 pays chacun).

« Jusqu'à présent, nous ne disposions d'aucune estimation nationale pour certaines parties du monde où les habitants sont les plus affectés par les infections bactériennes », indiquait **Authia Gray**, co-auteur de l'étude et boursière post-licence à l'IHME à la faculté de

médecine de l'Université of Washington .« Ces nouvelles données pourraient nous aider à remédier à la charge disproportionnellement élevée des infections bactériennes dans les pays à revenus faible et moyen et pourraient, à terme, permettre de sauver des vies et d'épargner aux gens des années de vie perdues en raison de maladies ».

Les auteurs reconnaissent les limites de leur étude, dont un grand nombre est lié au manque de données. Des données limitées sont disponibles pour certaines parties du monde, notamment de nombreux pays à revenus faibles et moyens, dans lesquels la charge de morbidité estimée est la plus élevée. Ceci souligne la nécessité d'améliorer la capacité de collecte des données et les systèmes de surveillance dans ces pays. **(THE LANCET 2019).**

I.6.3 Portes d'entrées.

La recherche d'une porte d'entrée est un élément clé lors de suspicion des bactériémies, car elle permet d'orienter la recherche de l'étiologie bactérienne et de traiter l'infection selon le site identifié **(Aiche., 2022).**

Les germes responsables de bactériémie et de septicémie peuvent avoir différentes portes d'entrées par les quelles peuvent pénétrer dans l'organisme pour gagner leur foyers secondaires dont l'infection. Ces portes d'entrées sont différentes selon l'origine de la bactériémie ; soit communautaire ou bien associé au soin (nosocomiale).

La porte d'entrée et le foyer secondaire se diffèrent aussi en fonction de bactérie responsable de la bactériémie**. (Tableau I).**

Tableau I : Portes d'entrées de certaines bactéries et leurs localisations secondaires.

Bactéries	**Porte d'entrée**	**Locallisation secondaire**
Escherichia coli	Digestive, urinaire	Endocarde, extra-digestive
Pseudomonas aeruginosa	Associé à des matériaux étrangers (sonde urinaire)	Endocarde, abcès, poumons, arthrite
Sthaphylocoques	Cutanée (gestes invasifs, cathéter périphérique ou central)	Endocarde, rate, foie, arthrite (os, articulaire), méninge
Streptococcus béta hémolytique	Digestive Pulmonaire Meninges buccodentaire	Endocarde, arthrite, meninges

La porte d'entrée des bactériémies communautaires est majoritairement urinaire, digestive ou pulmonaire et plus rarement cutanée, respiratoire ou dentaire, une part importante des portes d'entrée reste inconnue. A l'inverse, la principale porte d'entrée des bactériémies nosocomiales : urinaire avec la présence d'une sonde dans la moitié des cas. Les microorganismes pénètrent aussi par le biais de dispositifs intravasculaires (cathéters, chambre implantée).

I.7 Physiopathologie.

Elle est divisée en plusieurs étapes:

- 1 ère Etape : les bactéries pénètrent dans l'organisme par une porte d'entrée;
- 2 ème Etape : les cellules microbiennes se multiplient à proximité de celle-ci et forment un foyer infectieux primaire localisé, qui peut être thromboembolique, ganglionnaire ou endocarditique;
- 3 ème Etape : à partir du foyer infectieux, les germes passent dans la circulation sanguine et constituent la bactériémie. Cette inoculation peut être continuelle ou intermittente .
- 4 ème Etape : le système phagocytes-mononucléaires est activé pour assurer l'élimination des microorganismes, cependant, si la décharge microbienne est massive ou si l'agent microbien a la capacité de se multiplier rapidement dans la circulation sanguine, le système phagocytes-mononucléaires peut être dépassé et des foyers infectieux secondaires (ou métastases septiques) éloignés de la porte d'entrée peuvent alors apparaître **(Fraperie, 2020).**

I.8 Manifestation clinique.

La bactériémie se manifeste de manière asymptomatique ou symptomatique, avec une gravité clinique qui se décline en trois niveaux. Lorsqu'elle est associée à un sepsis, la symptomatologie clinique est principalement caractérisée par une fièvre, souvent accompagnée de frissons et de sueur causée par les toxines bactériennes et peut entraîner la mort. Le choc septique représente l'aboutissement d'une infection où la réponse inflammatoire de l'organisme dépasse la simple réaction immunitaire. Cette réponse

exacerbée à l'infection engendre divers effets délétères (vasoplégie et une diminution de l'apport en oxygène aux tissus etc.). **(Fauchère, 1997).**

I.9 Diagnostic bactériologique.

Selon les recommandations de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Français **(SPILF, 2019),** l'isolement d'un microorganisme dans le sang, confirmé par hémoculture, constitue un critère essentiel pour établir le diagnostic de bactériémie. Une hémoculture positive doit systématiquement être interprétée comme un signe d'infection systémique, sauf en cas de preuve formelle De contamination (par exemple, en cas d'isolement de germes cutanés commensaux comme *Staphylococcus epidermidis* dans un seul échantillon sans contexte clinique évocateur).

Chapitre II : Hémoculture

II. Hémoculture

II.1 Définition.

La détection des bactériémies et des fongémies reste l'une des activités les plus importantes des laboratoires de microbiologie clinique. Le terme « Hémoculture » peut se définir de deux manières selon le contexte d'utilisation.

En règle générale, l'hémoculture est la technique microbiologique qui consiste en un ensemencement d'un milieu de culture avec une petite quantité de sang prélevé sur un sujet afin de déterminer les microorganismes qui l'affectent. (**A.Contrepois, 1995).**

En langage usuel, correspond à une série de plusieurs (minimum 3) flacons issus d'une même ponction veineuse. **(M.Goulon, 1985).**

Une hémoculture positive établit ou confirme la présence d'une étiologie infectieuse. Elle précise en outre l'agent étiologique et permet de réaliser des antibiogrammes afin de cibler la thérapie**. (Wayne, P.A. 2007).**

II.2 Indication.

Les principales indications sont :

- Fièvres d'origines indéterminées, notamment en cas de signes évocateurs d'infections.
- Pics fébriles : température > 38,5 °C Cas particuliers des services d'hématologie ou patients neutropéniques : température ≥ 38,3 °C en 1 seule prise ou ≥ 38 °C pendant 1 durée d'1 heure.
- Hypothermie : température < 36,5 °C.
- Instabilité hémodynamique (tachycardie, tachypnée, frissons…).
- Choc.
- Suspicion d'infections sur cathéters.
- Surveillance du risque infectieux chez les patients immunodéprimés (greffe, leucémie, neutropénie, …).
- Suspicion d'endocardite infectieuse**. (Centreleonberard.fr 2023).**

Tableau II : Facteurs de prédiction de la bactériémie. **(Bates et al., 1990).**

Facteur de prédication	**Points**
Température maximale > 38,3°C	**3**
Maladie rapidement fatale	**4**
Maladie terminale	**2**
Présence de frissons	**3**
Toxicomanie par voie veineuse	**4**
Abdomen chirurgical	**3**
Facteur de comorbidité majeur *	**3**
Score ≥ 6 : forte risque de bactériémie. Score ≤ 2 : faible risque.	
*Coma ou mort cérébrale, performance digestive, multi-traumatisé ou brûlé, arrêt cardiorespiratoire dans les 24 heures, pancréatite aiguë, détresse respiratoire, insuffisance hépatique aiguë ou chronique.	

II.3 Réalisation :

II.3.1 Mode de prélèvement :

La ponction veineuse est la seule méthode valable pour prélever le sang en vue d'hémoculture, les autres sites de prélèvement, notamment les recueils de sang à travers undispositif intravasculaire (cathéter...) Augmentent de façon significative la fréquence des contaminants **(Avril et al,1999).**

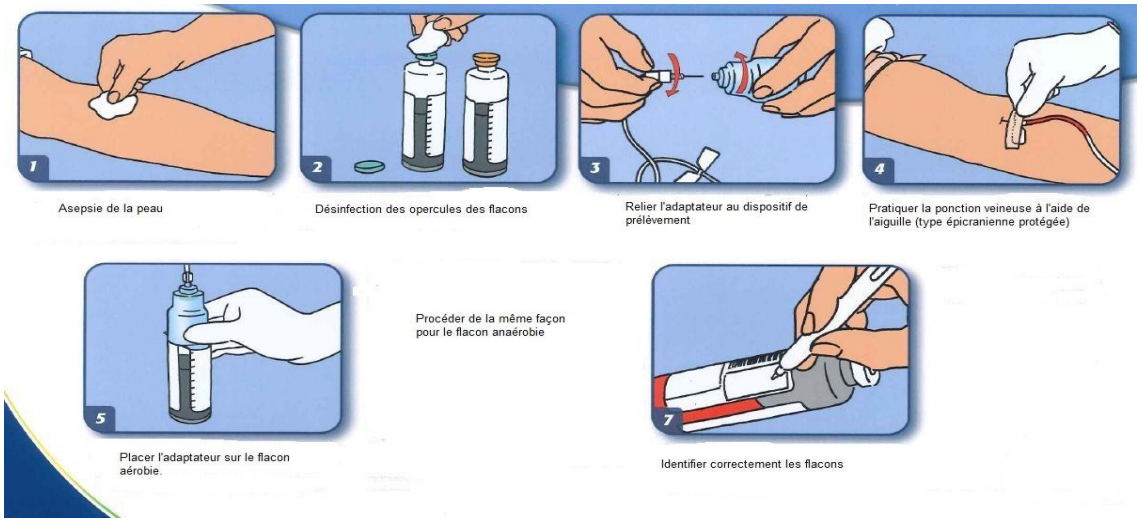


Figure 2 : Procédure de prélèvement direct des flacons d'hémocultures **(bio Mérieux).**

II.3.2 Conditions préalables et techniques du prélèvement :

Les hémocultures doivent être réalisées au lit du malade**.** Il faut se souvenir que 15% environ des hémocultures positives ont été contaminées lors du prélèvement **(Ki-zerbo et al, 1996; Vaubourdolle, 2013).**

Il est impératif de respecter les recommandations suivantes :

- Maintenir la porte de la chambre fermée.
- Porter un masque de type chirurgical (préleveur).
- Réaliser une friction hydroalcoolique des mains.
- Port de gants non stériles.
- Faire un repère sur les flacons correspondants au volume de prélèvement recommandé : ex 8–10 ml.
- Désinfecter les bouchons des flacons d'hémocultures (après avoir ôté l'opercule métallique) avec des compresses imprégnées d'alcool à 70° (temps de contact 1 min)
- Attention : ne pas mettre les flacons d'hémoculture en position antéversée. **(C1/MO-LAB-017, 2023).**

La quantité du sang prélevé diffère d'un patient à un autre selon l'âge du patient. Elle doit être de :

- 10 ml pour l'adulte ;
- 2 à 5 ml pour les enfants;
- 1 ml pour les nouveau-nés et les nourrissons **(Vaubourdolle, 2013)**.

Chez les patients adultes, il convient de ne jamais prélever un seul flacon d'hémoculture, cette pratique ne permettant pas de mettre en culture un volume adéquat de sang et augmentant les chances de manquer un nombre considérable de bactériémies**. (Wayne, P.A. 2007 ; Lee et al., 2007).**

De plus, il est recommandé de faire deux à trois hémocultures espacées dans le temps (d'environ une heure) ; afin de majorer les chances d'isolement de l'agent pathogène **(Sékoukoné, 2009).**

II.3.3 Les flacons d'hémoculture :

II.3.3.1 Typologie des flacons :

En pratique courante et malgré la diversité des flacons mis sur le marché, les contrôles sanguins microbiologiques sont classiquement effectués grâce à l'ensemencement sur des

milieux bactériologiques standards respectant le mode respiratoire des micro-organismes. En conséquence, l'ensemencement des hémocultures doit se faire dans des flacons favorisant soit un environnement aérobique soit anaérobique. Les milieux que contiennent ces flacons sont de compositions différentes. On considère donc qu'une hémoculture est composée d'une paire de flacons d'un flacon dit aérobie et d'un flacon dit anaérobie **(York et al, 2007).**

- **Flacons aérobies**

Ces flacons comportent une atmosphère enrichie en oxygène, favorisent la croissance et la multiplication des bactéries aérobies strictes et aéro-anaérobies facultative rencontrées en clinique. Le milieu de culture est mono ou bi-phasique **(York et al, 2007).**

- **Flacons anaérobies**

Ces flacons grâce au bouillon spécifique qu'ils renferment, favorisent la culture des bactéries anaérobies strictes. Le flacon anaérobie doit être ensemencé en même temps lorsqu'un foyer infectieux anaérobie est suspecté (localisation bucco-pharyngée, digestive, gynécologique ou pulmonaire par exemple) **(York et al, 2007).**

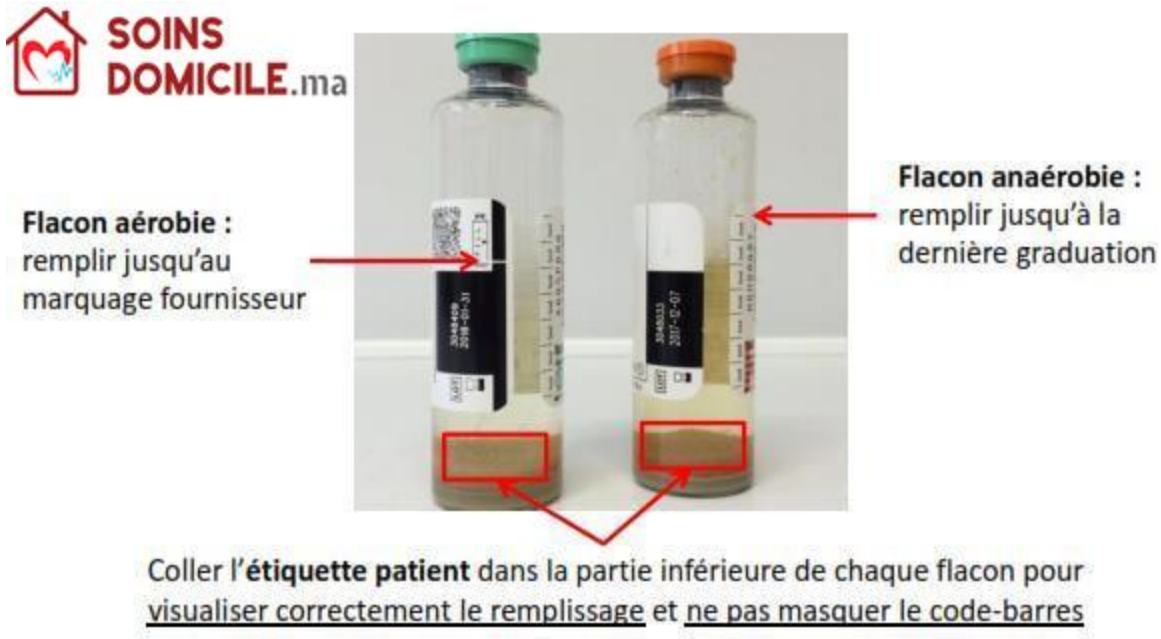


Figure 3 : flacon aérobie et anaérobie d'hémoculture **(soins domicile, 2022).**

II.3.3.2 Vitalité des corps bactériens dans les flacons d'hémocultures :

Dans les flacons d'hémocultures, les bactéries peuvent se retrouver sous plusieurs formes :

a) **Intactes** : c'est-à-dire sous forme libre, dans le plasma, en phase de multiplication active et les bactéries vont alors continuer à se multiplier, soit sous forme libre mais en phase de repos et ne commenceront alors à se développer qu'à la fin de cette phase de latence correspondant à leur adaptation au milieu nutritif du flacon .
b) **Lésées ou masquées** : dans la circulation sanguine, divers systèmes permettent l'élimination des bactéries : système anticorps-complément, système de phagocytes mononuclées, les polynucléaires, la présence d'antibiotique ou la présence d'antibiotique provoquent la lyse ou la neutralisation des cellules- donc ces cas, les corps bactériens restent cultivables mais la mise en évidence de la positivité d'une hémoculture est très souvent retardée dans le temps .
c) **Cadavres** : les bactéries ne sont plus cultivables, mais certaines de leurs constituants restent détectables : ADN, antigènes, toxines, etc. **(Denis et al., 2016).**

II.3.4 Acheminement

Acheminer les flacons inoculés et la demande d'hémoculture complétée vers le laboratoire de microbiologie clinique aussi rapidement que possible, de préférence sous 2 à 4 heures. **(WSD fact sheet 2013).**

Tout retard dans l'exécution des tests des flacons inoculés peut se traduire par un risque accru d'obtenir des résultats faux négatifs**. (Cornaglia et al., 2012).**

L'utilisation de systèmes de transpo rt par tube sous vide peut faciliter la transmission rapide des flacons vers le laboratoire de microbiologie. **(Kirm et al., 2013).**

II.3.5 Incubation des flacons

Les flacons peuvent être stockés dans une étuve à une température spécifique de 37°C jusqu'à 7 jours pour les systèmes manuels, que ce soit en clinique ou en laboratoire. Pour les systèmes automatisés, une période d'incubation de 5 jours est généralement suffisante **(Denis et al, 2016).**

Les bactéries détectées sont généralement des contaminants présents en faible quantité dans le prélèvement **(Weinstein MP 1996).** Un temps d'incubation plus long peut être nécessaire pour des microorganismes particuliers : champignons, bactéries du groupe HACEK

(*Haemophilus aphrophilus, Actinobacillus actinomycetemcomitans. Cardiobacterium hominis, Eikenella corrodens* et *Kingella kingae*), *Brucella spp* ou *Legionella spp*, ou encore pour des patients suspects d'endo-cardite et dont les prélèvements ont été réalisés alors que le malade recevait des antibiotiques **(Marchandinet el, 1995).**

Une étude réalisée par **(Bourbeau et al, 2005)** a montré le nombre de micro-organismes importants isolés par jour.

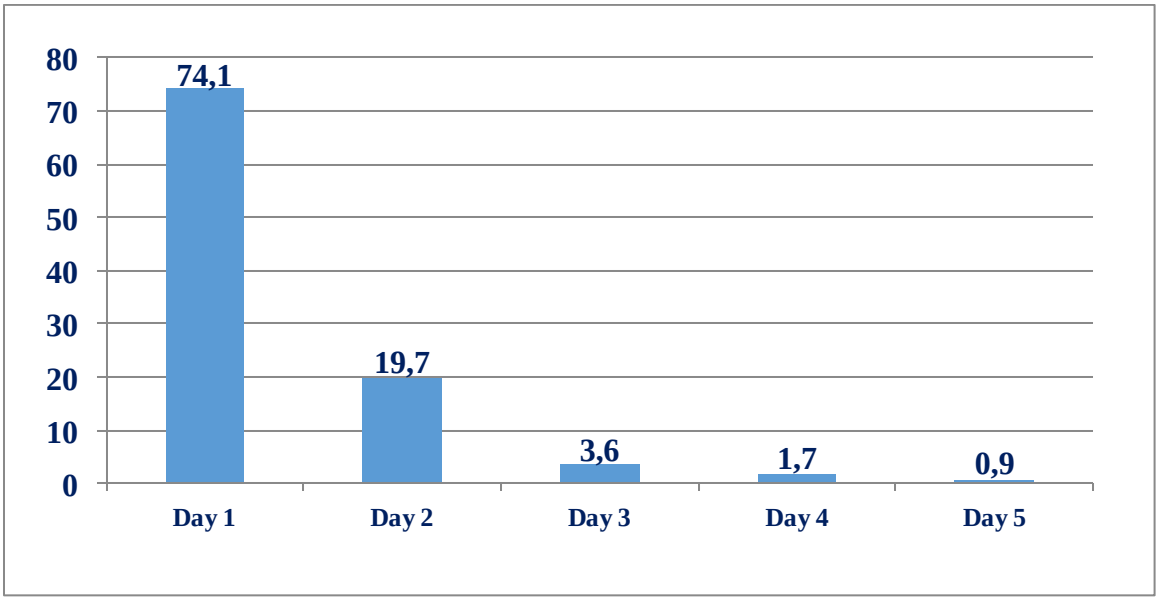


Figure 4 : % d'isolats significatifs par jour de culture **(Bourbeau et al, 2005).**

II.3.6 Examen bactériologique :

II.3.6.1 Méthode de détection :

c) Système manuel :

La manipulation se fait en présence du bec bunsen et avec le port des gants et masque médical pour éviter toute contamination, le prélèvement de l'échantillon à partir des flacons classiques se fait par ponction aseptique à l'aide d'une seringue stérile. Deux types de repiquage :

- Repiquage suite à l'apparition de signes de positivité (coagulum, dépôt,…) ,effectué à la moindre suspicion de culture positive.
- Repiquage systématique : en l'absence de signe de culture : le J1, J5 et J10 voire au J15 s'il y a la susception d'une endocardite infectieuse.

d) Système automatisé :

Les systèmes automatisés comportent des étuves assurant de manière autonome une incubation à 35°C et une agitation continue des flacons. Ils comprennent un système de détection de la croissance microbienne. Quel que soit le système, chaque flacon est placé dans une cellule pourvue d'un système de lecture qui effectue des mesures toutes les 10 minutes.

La mesure est ensuite interprétée par le système en fonction de paramètres de positivité préprogrammés. Un signal lumineux et/ou sonore indique la présence de flacons détectés positifs, pour que ceux-ci soient pris en charge. **(Cédric Paquin 2016).**

- **Avantages et Inconvénients des systèmes de détection :**

Tableau III: Avantages et inconvénients des systèmes de détection microbiologique **(INRS, 2007).**

Critère	Système automatisé	Système manuel
Détection	Surveillance continue (mesures toutes les 10 min) et algorithmes préprogrammés	Surveillance visuelle intermittente dépendante de l'opérateur
Rapidité	Résultats plus rapides grâce à une détection précoce des signes de croissance	Retards possibles si les signes visuels (coagulum, dépôt) sont subtils ou tardifs
Risque de contamination	Réduit (manipulation minimale des flacons)	Élevé (exposition lors des repiquages manuels et utilisation du bec Bunsen)
Charge de travail	Faible (alerte automatisée pour les flacons positifs)	Intensive (surveillance régulière et repiquages systématiques)
Flexibilité	Paramètres fixes (peu adaptés aux microorganismes à croissance lente)	Possibilité de repiquage précoce en cas de suspicion visuelle.
Coût	Investissement initial élevé et maintenance technique.	Coût matériel réduit, mais dépendant du personnel qualifié.

- **Avantages clés de l'automatisation :**

- Standardisation des processus et réduction des erreurs humaines.
- Meilleure traçabilité des résultats grâce aux enregistrements numériques.
- Adapté aux laboratoires à haut volume d'échantillons.

- **Limitations des systèmes manuels :**

- Risque accru de faux négatifs en l'absence de repiquage systématique.
- K2Exposition prolongée du personnel aux aérosols infectieux lors des manipulations.
- Pour les endocardites à culture négative ou causées par des pathogènes fastidieux, les techniques moléculaires (PCR sur valve ou matériel embolique) complètent parfois ces méthodes. **(INRS, 2007).**

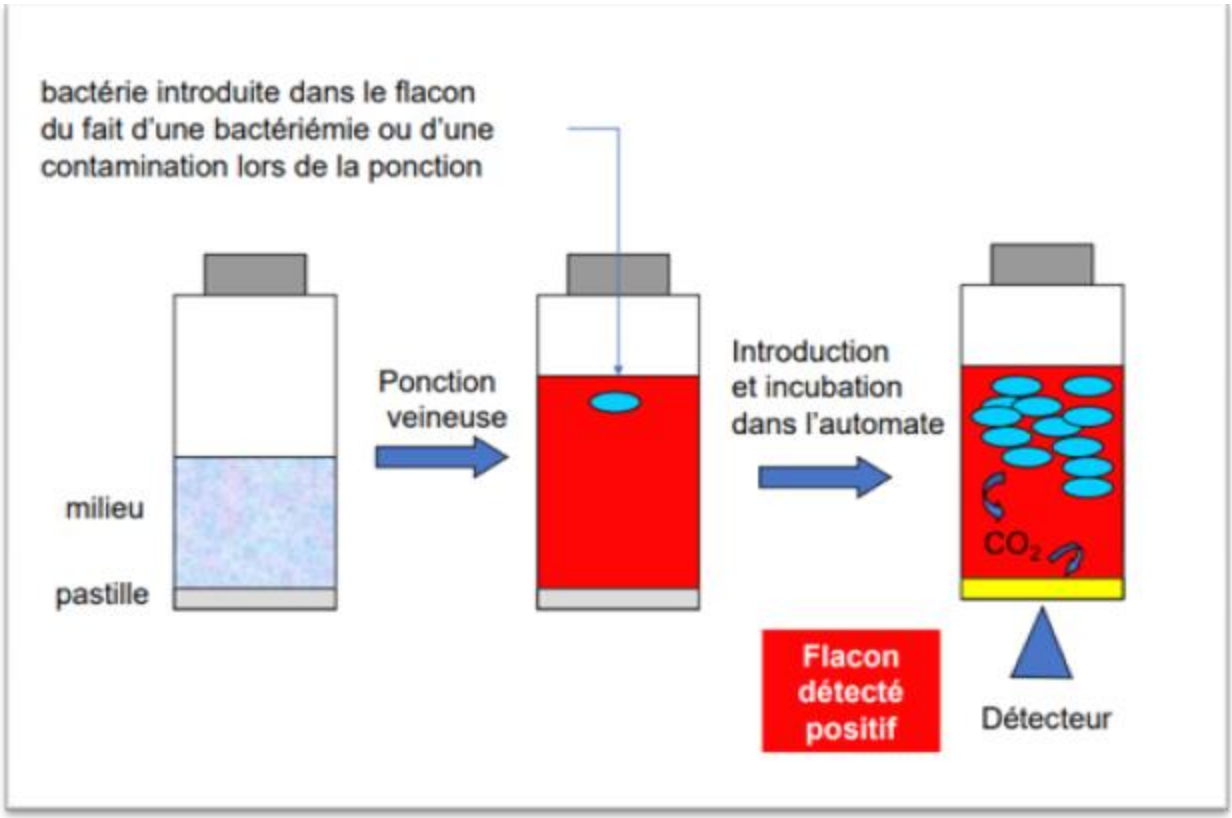


Figure 5 : Principe de détection des hémocultures
(Pr Alban 2023).

Antibiogramme d'urgence :

L'état bactériémique est une urgence absolue. La mortalité augmente ainsi de 7,6% pour chaque heure passée avant l'instauration d'un traitement adéquat. Les hémocultures sont le gold-standard dans le diagnostic des bactériémies. Cependant, leurs délais d'obtention variables, entre 72h à 10 jours ou plus, sont incompatibles avec les situations d'urgence. Il parait alors nécessaire de les raccourcir. Ceci est rendu possible grâce à l'instauration de techniques d'identification rapide et de tests de sensibilité aux antibiotiques, réalisables directement à partir des flacons d'hémoculture. Expérimenté depuis les années 1980,

l'antibiogramme d'urgence n'est pas une technique nouvelle. Néanmoins, il bénéficie depuis quelques années d'un regain d'intérêt et d'une attention particulière de la part des sociétés savantes notamment la SFM (Société Française de Microbiologie), l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) **(AKBI Samar et al 2021).**

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

Après le dépôt des disques d'antibiotiques, une incubation de 24H est nécessaire pour effectuer une lecture pareille à celle de l'antibiogramme standard (mesure de diamètre d'inhibition : méthode décrite par la suite). Pour les Entérobactéries, les antibiotiques utilisés sont: Béta lactamines (Céfotaxime et Ertapénème), Aminosides (Amikacine et Gentamycine), Fluoroquinolones (Ciprofloxacine). Donc l'antibiogramme d'urgence représente une simple réalisation qui a l'avantage de gagner du temps aux patients pour restaurer le plutôt possible et dans les meilleurs délais (dans les 48H suivant le prélèvement) leur antibiothérapie convenable surtout pour les cas vulnérable. **(L. Noussair 2007).**

II.3.6.2 Mise en culture

Tout flacon positif est soumis à l'examen direct et à la subculture. Quelques gouttes sont prélevées et ensemencées par des stries serrées (4 cadrons) sur des milieux d'isolement solides appropriés. Les miliux de culture utilisés sont :

- **Gélose au sang frais.**

Le sang de mouton ou de cheval, est un milieu enrichi pour l'isolement sélectif de bactéries à Gram positif tels bactéries exigeantes: les streptocoques bêta-hémolytiques, avec la mise en évidence de divers types d'hémolyse. Ce type de gélose permet la croissance de bactéries exigeantes grâce à la présence de facteurs de croissance **(Martin et al, 2011).**

- **Gélose au sang cuit « chocolat ».**

Elle permet de libérer par cuisson des facteurs de croissance supplémentaires tels les vitamines et l'hémine qui est un précurseur de coenzyme, ce qui favorise la croissance des entérobactéries en particulier celles du genre *Haemophilus spp* **(Martin et al, 2011).**

- **Gélose Hektoen.**

C'est un milieu d'isolement sélectif et de différenciation pour la recherche des *Salmonella spp* et *Shigella spp* en bactériologie. Cette gélose contient, des sels biliaires, un taux élevé de peptone pour compenser l'effet inhibiteur des sels biliaires sur les Shigelles, une quantité importante de lactose, le di-thiosulfate et du citrate ferrique. Ainsi sur ce milieu les Shigelles forment des colonies vertes et les Salmonelles des colonies bleue- vertes ou sans centre noir **(Denis et al, 2007; Camille, 2010).**

- **Gélose Chapman**

La gélose Chapman ou gélose au sel de mannitol est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement, le dénombrement et la différenciation des *Staphylococcus spp,* et les bactéries halotolérantes plus particulièrement fermentant le mannitol. La forte concentration en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que les staphylocoques **(Belhadj et al, 2023).**

II.3.7 Identification des souches.

L'orientation d'un micro-organisme est la première étape vers son identification : cela consiste à déterminer la famille et/ou le genre auquel il appartient. Cette orientation se fait par la recherche de caractères culturaux et biochimiques du métabolisme respiratoire, glucidique et protéique.

Les grandes étapes de la démarche d'identification :

- Observation de la culture de départ : mise en évidence des caractères culturaux (exigeant ou non-exigeant, mésophile, thermophile...) et étude morphologique macroscopique des colonies.

- **Étude microscopique :**

a) état frais :

L'examen direct à l'état frais est une technique simple, qui permet d'observer des échantillons biologiques sans préparation préalable (ni fixation ni coloration). Le principal avantage de l'examen à l'état frais est la capacité de conserver l'intégrité des organismes vivants (des bactéries, des parasites..) ce qui permet d'observer leur comportement et leur agencement.

Elle peut être réalisée directement à partir du produit pathologique (urine, liquide céphalorachidien, etc.) ou à partir d'une suspension bactérienne. Différents supports peuvent être utilisés, tels que les lames et lamelles, les cellules de Malassez et les cellules de Nageotte.

L'observation se fait généralement à l'objectif ×40 avec un diaphragme quasiment fermé pour augmenter le contraste. Il est conseillé d'attendre quelques instants jusqu'à ce que les mouvements liquidiens cessent. **(Belouahad.L et al, 2025).**

b) Colorations simple

Les colorations simples, ou coloration directe, consistent à appliquer un seul colorant sur un frottis. Elles sont rapides et permettent d'identifier les contours, les formes, et la taille des cellules ou des bactéries présentes. Parmi les colorants fréquemment utilisés :

- Bleu de méthylène : met en évidence les noyaux cellulaires.
- Safranine : colore les structures acides.
- Violet cristal : utilisé dans certaines colorations différentielles.
- Vert malachite : utile pour visualiser les spores bactériennes. (**Belouahad.L et al, 2025).**

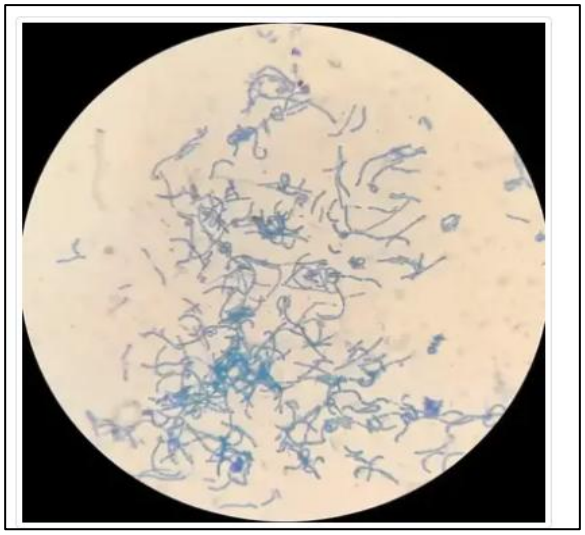


Figure 6 : Lactobacille coloré au bleu de méthylène. **(microbiologie-clinique 2025).**

c) Colorations différentielles

La coloration différentielle consiste à utiliser plusieurs colorants pour différencier divers types de cellules, de structures et de micro-organismes.

Il existe un certain nombre de méthodes de coloration différentielle, telles que la coloration de Gram, considérée comme la référence en bactériologie, qui permet de différencier les bactéries en Gram positif et Gram négatif. La coloration de Ziehl-Neelsen permet de détecter et de différencier les bacilles tuberculeux des autres bactéries. **(Belouahad.L et al, 2025).**

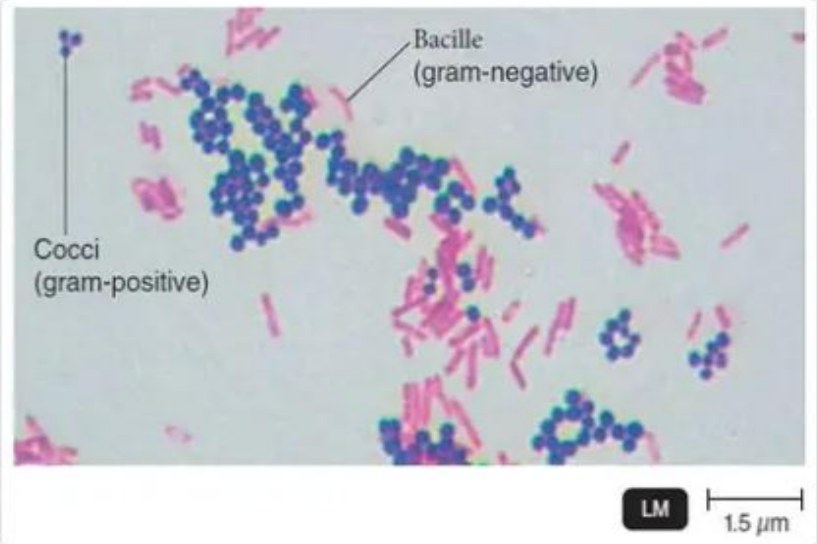


Figure 7: coloration de Gram :des cocci Gram positif et des bacilles Gram négatif. **(Microbiologie-clinique 2025).**

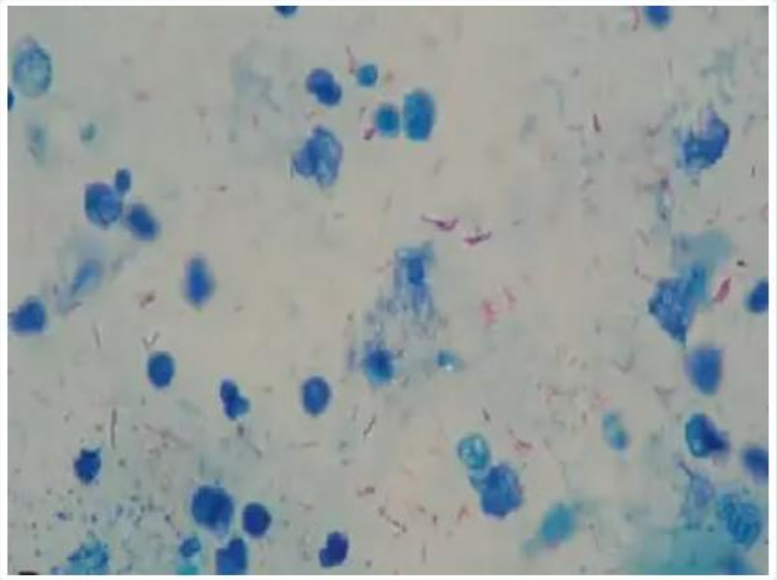


Figure 8: Bacille de Koch coloré par la coloration de Ziehl-Neelsen **(microbiologie-clinique 2025).**

- **La coloration de Gram ;**

La coloration de Gram est la coloration différentielle la plus utilisée en microbiologie. Elle permet en colorant l'intérieur des bactéries de les différencier sur échantillon selon leur forme

(paires, groupes, chaînes..) et leur affinité pour les colorants. "Grace aux colorants utilisés, on affine la caractérisation du type de bactéries à Gram positif ou à Gram négatif et leur morphologie en bacilles ou coques" **(Dr Inès Boussen 2022).**

- Si le test de coloration de Gram effectué sur l'échantillon est positif ; la morphologie de l'organisme doit être communiquée au médecin. Il convient de réaliser immédiatement des subcultures ou de mettre en œuvre des techniques rapides (par ex. diagnostic moléculaire) afin d'obtenir des informations supplémentaires pour identifier l'organisme, et de réaliser un antibiogramme le plus tôt possible.
- Si le test de coloration de Gram effectué sur l'échantillon est négatif ; la courbe de croissance du flacon peut être vérifiée, une subculture est réalisée et le médecin est informé, selon le résultat de la subculture. **(Biomerieux.fr 2019).**

Une étude réalisée par **(Barenfanger, et al, 2008)** a confirmé que les colorations de Gram des hémocultures positives constituent un facteur très important ayant une influence sur le traitement approprié et les résultats des patients. L'étude a mis en évidence une augmentation statistiquement significative du taux de mortalité chez les patients dont les hémocultures avaient été traitées tardivement (la coloration de Gram a été réalisée au moins 1 heure après que l'hémoculture a été détectée positive.

- **Réalisation des tests enzymatique d'orientation rapides :**
  - **a) Test de Catalase**

L'enzyme catalase catalyse la réaction du peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (H_2O_2 -> H_2O + O_2). Le peroxyde d'hydrogène est un sous-produit nocif de la respiration. La catalase sert à protéger la cellule des dommages oxydatifs. Elle est présente dans la plupart des bactéries aérobies. La présence de catalase peut être déterminée par la production de bulles de gaz lorsque la culture bactérienne est ajoutée au peroxyde d'hydrogène. Aucune bulle n'est produite dans les organismes à catalase négative. (**Theory.labster).**

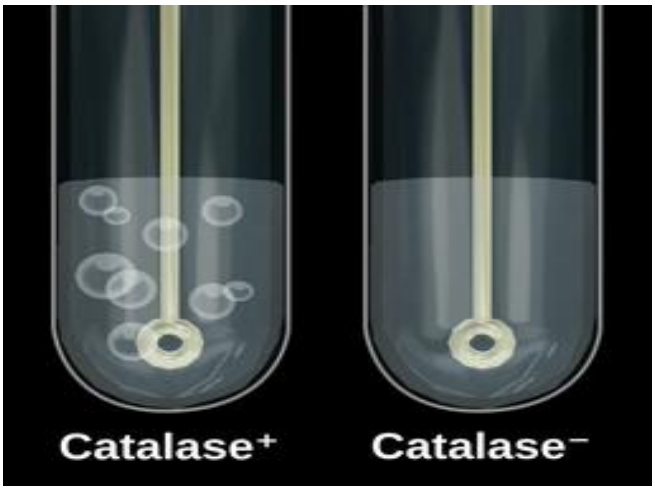


Figure 9 : Test de Catalase.

b) Test de l'Oxydase

Le cytochrome c oxydase est une enzyme présente dans de nombreuses bactéries aérobies. Elle catalyse le transport des électrons des composés donneurs d'électrons aux accepteurs d'électrons dans la chaîne de transport d'électrons produisant de l'énergie. Dans le test de l'oxydase, l'enzyme oxyde des réactifs tels que la N, N, N′, N′-tétraméthyl-p-phénylènediamine (TMPD) ou la N,N-diméthyl-p-phénylènediamine (DMPD), qui sont incolores (ou rose clair) à l'état réduit et bleus à l'état oxydé. Une couleur bleue indique donc la présence de cytochrome c oxydase. Notez que les bactéries peuvent utiliser d'autres enzymes dans la chaîne de transport des électrons. Il n'y a donc pas de corrélation directe entre les aérobies et un test d'oxydase positif. **(theory.labster).**

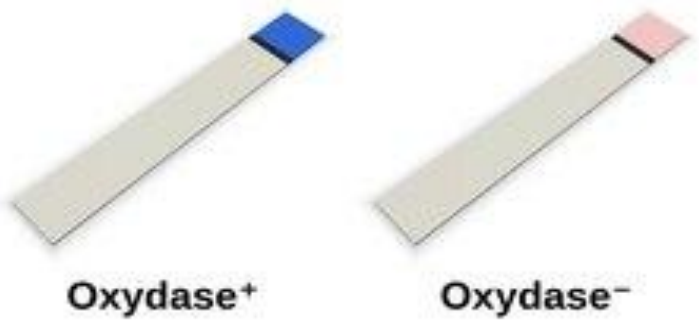


Figure 10 : Test de l'oxydase positif (à gauche) et négatif (à droite). **(theory.labster).**

c) Test de nitrate-réductase

La recherche des nitrate-réductases est réalisée sur la gélose mannitol-mobilité-nitrates ou dans une gélose au nitrate conventionnelle. Un bouillon nitraté (bouillon nutritif supplémenté de 1,5 % de nitrates de potassium) est ensemencé avec la bactérie à étudier et incubé 18 heures à 37 °C **(Figure 4A).**

Après incubation, 3 gouttes d'une solution d'acide sulfanilique (Griess A) et 3 gouttes d'une solution de naphtylamine (Griess B) sont ajoutées au bouillon. Si une coloration rose fugace apparaît **(Figure 4B)**, les nitrates ont été réduits au stade nitrites. En l'absence de coloration, soit les nitrates ont été réduits en azote, soit la bactérie ne possède pas de nitrate réductase.

L'addition de poudre de Zinc (réactif de Zobell, qui va réduire les nitrates en nitrites) permet de trancher. Si une coloration rose apparaît, alors la bactérie ne possède pas de nitrate réductase **(Figure 4C).** Si aucune modification de coloration n'est visible après l'ajout de zinc, alors les nitrates avaient été réduits en azote **(Figure 4D)**. **(Dr.Benseghir 2021).**

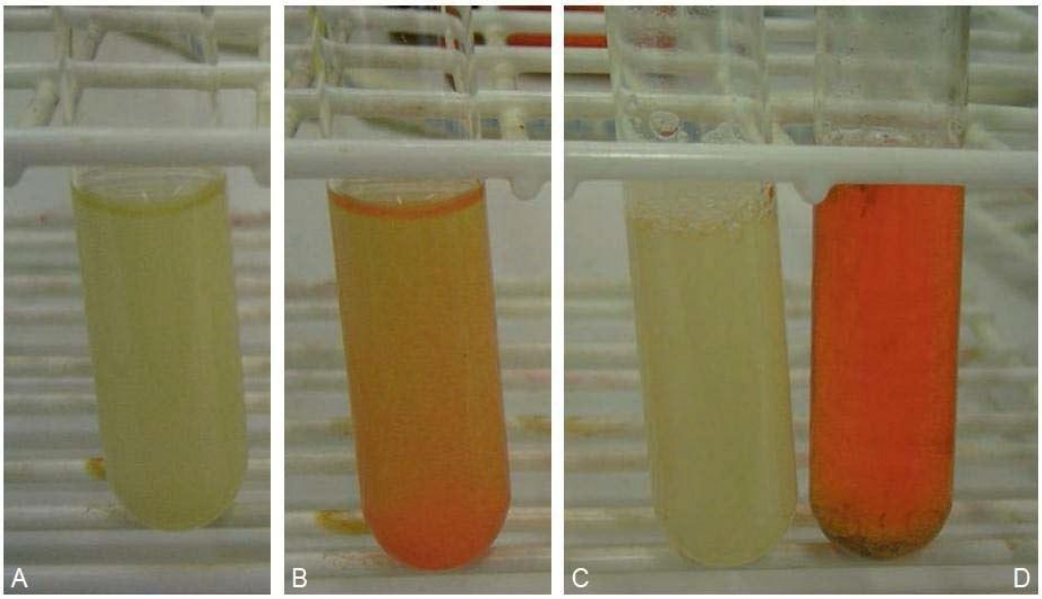


Figure 11 : Recherche d'un nitrate réductase. **(Dr.Benseghir 2021).**

Tableau IV : Tests biochimiques utiles en pratique courante **(Dr.Benseghir 2021).**

Métabolisme	Tests biochimiques
respiratoire	Test oxydase
	Test des nitrate-réductases
Glucidique	Test ONPG-hydrolase
	Test esculine
	Test IMVIC
Protéique	Test indole
	Test LDC
	Test H2S
	Test coagulase libre

- **Choix d'une galerie d'identification adaptée (selon l'orientation) et ensemencement de la galerie ;**

Les galeries API (Analytical Profile Index) sont des systèmes standardisés utilisés en microbiologie pour l'identification rapide et fiable des microorganismes, y compris les bactéries et les levures. Ces galeries se composent de bandelettes avec plusieurs tests biochimiques, chaque test permettant de détecter une réaction spécifique du microorganisme à un substrat donné.



Figure 12 : Galeries API en Microbiologie. **(wiki.fablab).**

❖ **Types de Galeries API en Microbiologie pour les Bactéries :**

1. **API 20E :**

- Utilisé pour l'identification des entérobactéries.
- Comporte 20 microtubes pour la détection de réactions biochimiques spécifiques.
- Temps d'incubation : 18 à 24 heures.

2. **API Staph ;**

- Conçu pour identifier les espèces du genre *Staphylococcus spp*.
- Teste des réactions enzymatiques et métaboliques.
- Temps d'incubation : 18 à 24 heures.

3. **API 20NE**

- Utilisé pour l'identification des bactéries non-fermentaires.
- Inclut des tests pour la détection de diverses activités enzymatiques.
- Temps d'incubation : 24 à 48 heures. **(wiki.fablab).**

❖ **Types de Galeries API en Microbiologie pour les Levures et Champignons :**

1. **API 20C AUX**

- Conçu pour l'identification des levures.
- Comporte des tests pour l'assimilation des glucides.
- Temps d'incubation : 48 à 72 heures.

2. **API Candida**

- Spécifique pour l'identification des différentes espèces de Candida.
- Basé sur des tests d'assimilation de sucres.
- Temps d'incubation : 24 à 48 heures.

II.3.8 Etude de la sensibilité :

- **Antibiogramme :**

L'antibiogramme est une technique phénotypique permettant de catégoriser sensible (S), intermédiaire (I) ou résistant (R) un couple bactérie-antibiotique. L'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé correspond à la croissance d'une bactérie sur un milieu solide comprenant une concentration croissante d'antibiotique (apposition d'un disque d'antibiotique sur le milieu de culture suivie de la diffusion de l'antibiotique dans la gélose). On obtient un diamètre d'inhibition après 16 h de culture à 35 °C **(Figure 13).** Il existe une

corrélation entre CMI et diamètre d'inhibition d'un couple antibiotique-bactérie. L'utilisation de l'antibiotique en thérapeutique est possible pour les souches sensibles à la posologie standard et pour les souches intermédiaires à forte posologie **(Figures 14 et 15). (SFM, 2019)**

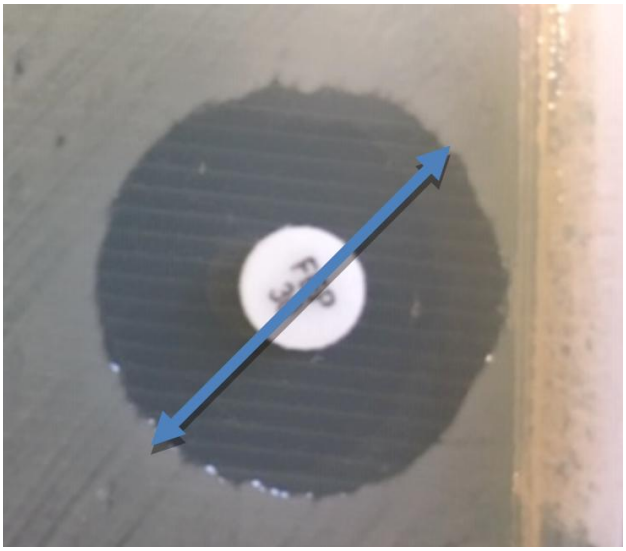


Figure 13 : Diamètre d'inhibition autour d'une pastille d'ATB **(Emilie Cardot Martin, 2019).**

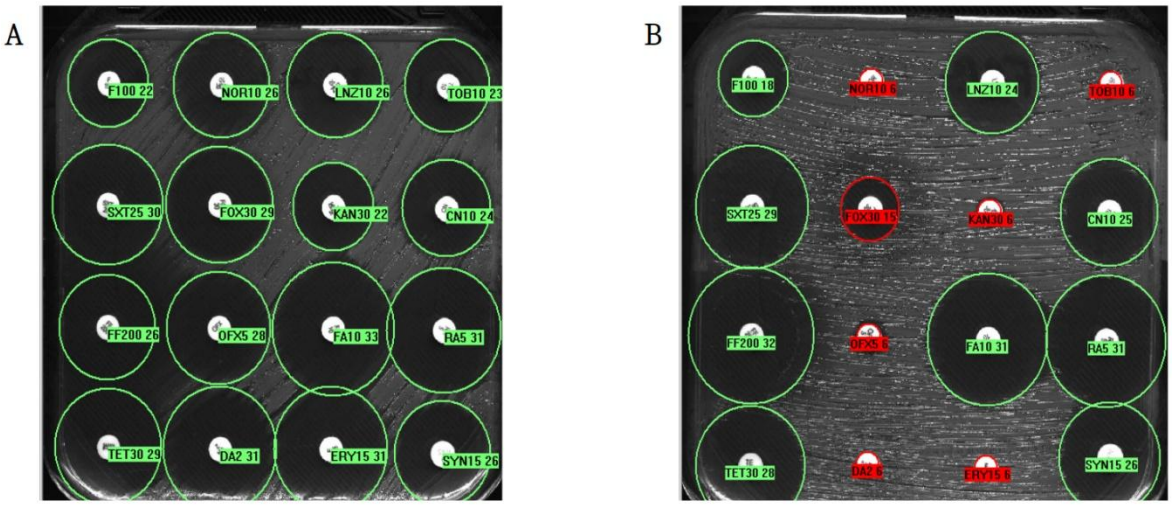


Figure 14: Antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé de *Staphylococcus aureus*. **(Emilie Cardot Martin, 2019).**

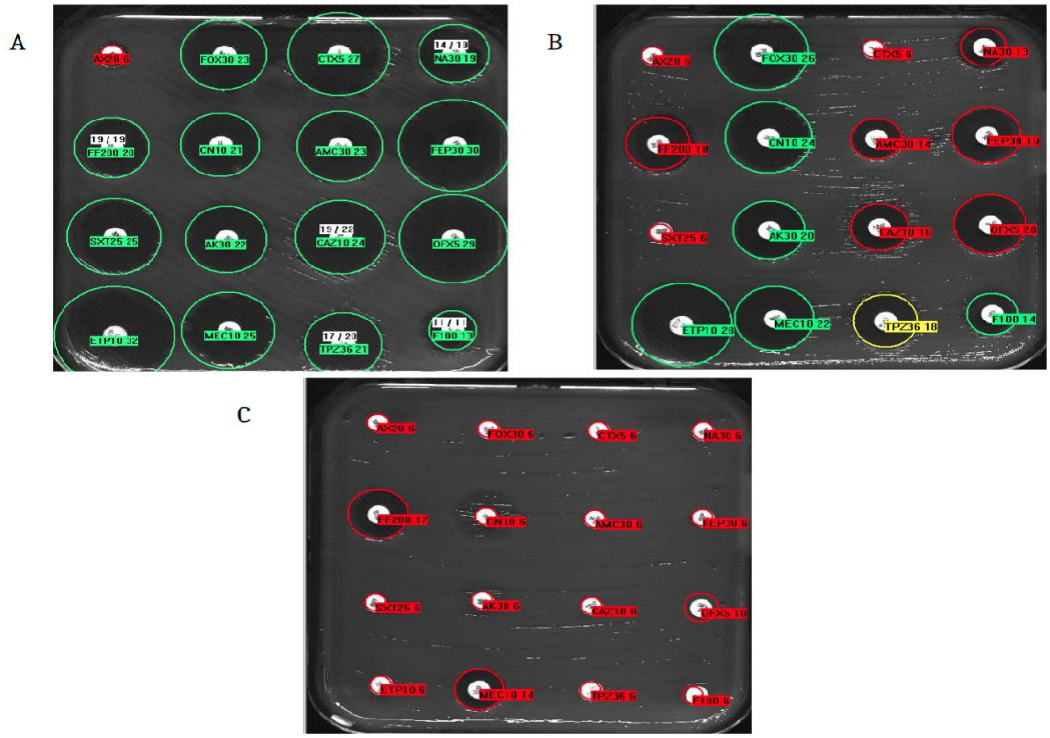


Figure 15: Antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé de *Klebsiella pneumoniae* (SIRSCAN 2000 Automatic I2A) **(Emilie Cardot Martin, 2019).**

Les techniques diagnostiques récentes, de plus en plus performantes et rapides, visent à pouvoir rapidement adapter l'antibiothérapie avant l'obtention de l'antibiogramme. Les techniques d'identification des bactéries se sont améliorées ces dernières années grâce à l'utilisation de la spectrométrie de masse, technologie basée sur l'analyse du profil protéique ribosomal des bactéries, se substituant aux techniques biochimiques dans de nombreux laboratoires. **(Lavigne J-P et Riegel P, 2015)**

- Ainsi, à partir d'une culture de bactéries sur un milieu solide, il est possible d'obtenir une identification en 15 minutes seulement. Les techniques de biologie moléculaire permettent de mettre en évidence les gènes de résistance des bactéries directement sur le prélèvement. **(Cattoir V et al, 2011).**
- À l'avenir, la mise en place des techniques de séquençage du génome entier permettra d'avoir facilement la cartographie des gènes de résistance des bactéries d'un patient et pourra peut-être permettre un choix d'antibiotique plus pertinent et adapté aux potentielles émergences de souches résistantes chez le patient. Ce type de technique pourra également permettre de documenter facilement les transmissions croisées de bactéries résistantes. **(Köser CU et al.2012).**

- **Tests complémentaires :**

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

a) Recherche de la Béta-Lactamase à Spectre Elargi (BLSE):

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

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

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

La BLSE est recherchée devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes: Céfotaxime (CTX f 27mm), Ceftazidime (CAZ f 22mm), Ceftriaxone (CRO f 25mm), Aztréonam (ATM f 27mm). **(Standardisation de l'antibiogramme, 2011).**

b) Céphalosporinase :

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

Les Cases de type AmpC sont inhibées par divers inhibiteurs tels que la Cloxacilline, Le test à la Cloxacilline est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH

additionné de Cloxacilline à celui réalisé sur MH sans Cloxacilline. **(Comité de l'Antibiogramme SFM, 2007).**

c) Recherche de la Carbapénémase :

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

A suspecter quand : Diamètre d'inhibition pour Méropénème et Imipénème < 22 mm Diamètre d'inhibition pour Ertapénème < 21 mm, présence de colonies discrètes dans la zone d'inhibition des carbapénèmes (surtout Ertapénème), CMI (E-test) pour les carbapénèmes g2 µg/ml, CMI (E-test) pour Ertapénème > 0.5 µg/ml, et habituellement; résistance aux C3G (Ceftazidime, Céfotaxime, Ceftriaxone). **(Standardisation de l'antibiogramme, 2011).**

II.3.9 Interprétation d'une hémoculture :

Les résultats des hémocultures servent à diagnostiquer une bactériémie et à orienter sa prise en charge. **(Alves & Jouffroy, 2019).** Il faut tenir compte de deux facteurs : l'espèce en question et le nombre d'hémocultures positives avec le même microorganisme**. (Pulcini, 2007).**

II.3.9.1 Hémoculture positive :

Le diagnostic est aisé lorsque plusieurs hémocultures sont positives au même microorganisme pathogène ou quand la bactérie isolée est un pathogène connu. Cela est plus difficile lorsque seule une hémoculture est positive, en particulier lorsque le micro-organisme isolé est connu comme pouvant être un germe de contamination.

Une hémoculture positive polymicrobienne oriente plutôt vers une contamination du prélèvement, le plus souvent par des bactéries de la flore cutanéomuqueuse (staphylocoque à coagulase négative, *Bacillus spp*, *Corynebactrium spp*, *Propionibacterium spp*, *Micrococcus spp*.).Cependant, dans certains cas, une véritable septicémie peut survenir **(Philippon ; Reimer 1979, 1997).**

II.3.9.2 Hémoculture négative :

Une hémoculture négative indique soit l'absence de bactériémie soit une bactériémie non décelable. Une bactériémie est non décelable en cas d'hémocultures réalisées sous antibiothérapie, de bactéries intracellulaires et de bactéries à croissance lente.

Toutefois, l'hémoculture peut être faussement négative par la suite au non-respect des conditions de sa réalisation c'est pour ça il est recommandé de répéter les hémocultures chez les malades et surtout en rendant compte de la clinique (immunodéprimé, pathologie digestive) **(Tattevin, 2015).**

II.4 Résultats :

- **Principaux germes des 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 (associée à certaines espèces) oriente plutôt vers une contamination du prélèvement. *Bacillus, Corynebacterium* et *Propionibacterium*, bactéries de la flore cutanéo-muqueuse, sont des contaminants dans plus de 95% des cas. Les staphylocoques coagulase négative (85% de contaminants), les entérocoques (20% de contaminants), et les streptocoques du groupe viridans (60% de contaminants) peuvent cependant, dans un certain nombre de cas, être 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. **(S. Mariam 2009).**

II.4.1 Cocci à Gram Positif :

II.4.1.1*Genre Streptococcus* :

Les Streptocoques appartenant au genre *Streptococcus spp* sont des Cocci à Gram positif ; les cellules sont ovoïdes, sphériques ou rarement allongées en bâtonnets, formant des chaînettes ou des paires. Ils sont dépourvus de cytochromes et de catalase. La fermentation des glucides est homo fermentative, l'acide lactique dextrogyre étant le principal produit final, sans formation de gaz. Ils sont exigeants en vitamines, acides aminés, purines et pyrimidines. Ils poussent sur milieux usuels enrichis de sang, sérum et/ou ascite. **(S. Mariam 2009).**

A) *Streptococcus pneumoniae* :

Streptococcus pneumoniae communément appelé le pneumocoque, est une bactérie commensale des voies aériennes supérieures qui colonise le rhinopharynx dès les premiers jours de la vie, de sorte que près de 50% des enfants sont atteints à l'âge de deux ans. (**Loda.fa et al, 1975).**

B) Streptocoques Béta hémolytiques :

- ***Streptococcus pyogènes*** (ou Streptocoques du groupe A) **:**

Streptocoque β-hémolytique du groupe A ". Il est responsable d'angines, de suppurations, d'infections localisées ou invasives (cellulites gangreneuses ou fascistes nécrosantes et septicémies) qui peuvent être accompagnées d'un choc toxique. Des complications inflammatoires sévères, comme la cardite rhumatismale, peuvent se manifester quelques semaines après une infection bénigne, voire inapparente. Le streptocoque du groupe A est très sensible à la pénicilline G. **(S. Mariam 2009).**

- ***Streptococcus agalactiae*** (ou Streptocoque du groupe B) **:**

C'est un Streptocoque responsable d'infections néonatales. Il est présent au niveau rectal et vaginal chez la femme enceinte avec une forte fréquence. Il est sensible aux pénicillines. **(S. Mariam 2009).**

II.4.1.2 *Genre Enterococcus* ::

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**. (Avril Jl et al,…).**

II.4.1.3 *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. **(avril JL et al,…).**

- ***Staphylococcus aureus* :**

Staphylococcus aureus se présente sous forme de Cocci arrondis, immobiles, soit isolés, soit regroupés en courtes chaînettes ou en amas dans le pus où les éléments sont tantôt libres tantôts phagocytés. (**Singleton P, Sainsbury D, 1984).**

Staphylococcus aureus vit fréquemment à l'état commensal sur la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux **(Gastinel P, 1954).**

- **autres Staphylocoques :**

Les Staphylocoques autres que *Staphylococcus aureus* sont souvent identifiés aux espèces non productrices de coagulase et sont connus comme "staphylocoques à coagulase négative" (SCN). Leur identification se faisant par opposition à *Staphylococcus aureus*. Ce sont les principaux commensaux de la peau mais ils sont également isolés des muqueuses. (**Flandrois JP, 1997).**

II.4.2 Bacilles à Gram Négatif :

II.4.2.1Les entérobactéries*:*

Les entérobactéries ou *Enterobacteriaceae* 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. Ils sont mobiles, péritriches (cils disposes tout autour du corps bactérien)

- Poussent sur milieux ordinaires ;
- Poussent en aérobiose et en anaérobiose ;
- Réduisent les nitrates en nitrites ;
- Ont une réaction d'oxydase négative ;
- Utilisent le glucose par voie fermentative.

La famille comprend 130 espèces actuellement répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* **(Khayar, 2011).**

- ***Escherichia coli***

Ce sont des bacilles à gram négative, non sporulés, anaérobies facultatifs et qui ne

possèdent pas d'oxydase se présente sous forme de bacille de 2 à 3 µm de long sur 0,5 µm de

large, généralement polymorphes. Ce sont des bactéries mésophiles car la température optimale de croissance est de 37 °C et le pH optimal est compris entre 7,2-7,4**.** *E.coli* ou « colibacille » est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux ; c'est un coliforme fécal **(Diallo, 2013 ; Delarras, 2010 ; Victoire, 2019)**

- ***Klebsiella***

Les *Klebsiella* sont des bactéries immobiles, en diplobacilles, généralement capsulées, très fréquentes dans la nature, commensales de l'homme, responsables d'infections opportunistes hospitalières chez des malades fragilisés **(Delarras, 2010).**

L'espèce la plus isolé cliniquement lors d'analyse d'hémoculture est : *Klebsiella pneumoniae* qui est un pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans des infections sévères notamment des infections urinaires, de pneumonies et de bactériémies. Elles expriment des antigènes K, capsulaires utilisables comme marqueurs épidémiologiques **(Belbel, 2018 ; Khayar, 2011).**

- **E*nterobacter***

Les *Enterobacter* sont des bactéries naturellement présentes dan l'environnement. Elles sont commensales du tube digestif de l'homme et des animaux ; des espèces pathogènes opportunistes sont responsables, en milieu hospitalier surtout, d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses **(Delarras, 2010 ; Khayar, 2011)**

Ces bactéries mobiles grâces à des flagelles polaires avec une température optimale de 30°C, les *Enterobacter* ont un caractère biochimique : VP positive et indole négative se qui facilite leur distinction par rapport aux autres entérobactéries **(Dos Santos et al. 2015).** L'espèce type est *Enterobacter cloacae*

- ***Shigella***

Les *Shigella* sont des entérobactéries, immobiles très proche des *E. coli* entéro-invasifs par leur caractères bactériologique. Ce sont des pathogène spécifique du tube digestif, qui se rencontrent que chez l'homme. Les *Shigella* sont les agents d'infection intestinale, dont la forme la plus grave est représentée par la dysenterie bacillaire. **(Flandrois, 1997).**

II.4.2.2Les bacilles à Gram négatif non fermentaires *:*

Ces bactéries sont aérobies strictes, caractérisées par un mode de production énergétique ne faisant pas intervenir la fermentation. Parmi les bacilles à Gram négatif 10 à 15% sont des BNF dont les 3/4 appartiennent à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*. Les autres

espèces appartiennent aux genres: *Stenotrophomonas, Burkholderia, Acinetobacter* et *Achromobacter* **(Martin, 2011).**

a) Pseudomonas aeruginosa :

Pseudomonas aeruginosa ou Bacille pyocyanique est un commensal du tube digestif, mais peu abondant chez le sujet sain, occasionne de nombreuses infections chez le sujet fragilisé. *Pseudomonas aeruginosa* est un bacille à Gram négatif, il est très mobile grâce à une ciliature polaire en général monotriche. **(S. Mariam 2009).**

b) Haemophilus influenzae:

C'est un bacille à Gram négatif immobile de petite taille (0,5 3 2,5), agent de la grippe (influenza). Cette bactérie exige pour sa croissanc des milieux enrichi au sang e une atmosphère enrichie en CO2 (*Haemophilus influenzae* type b) est un hôte exclusif des muqueuses de l'homme principalement au niveau des voies aériennes supérieures.

C) *Acinetobacter baumannii* :

Acinetobacter baumannii est une bactérie saprophyte, bacille à Gram négatif, non fermentaire, non-exigeant, immobile, de cocciforme à coccobacilles, aérobies stricts, catalase positive,oxydase négative, parmi lesquels *A. Baumannii* est l'espèce très majoritairement responsable des infections chez l'homme. C'est une bactérie pathogène opportuniste, présente une résistance exceptionnelle aux agents antimicrobiens, elle élabore des β-lactamases , **(Bouvet, 1986 ; Grosjean, 2017).**

Chapitre III:

Antibiotiques
&
Antibio-résistance

III. Antibio-résistance :

III.1 Les Antibiotiques

Les antibiotiques exercent une pression de sélection naturelle sur les populations bactériennes à l'origine de l'émergence de plus en plus fréquente de bactéries résistantes. Ce problème majeur de santé publique est fortement lié au mésusage et à la surconsommation des antibiotiques, accentués par la diffusion des antibiotiques et bactéries résistantes dans l'environnement. **(planet-vie.ens.fr).**

III.1.1 Historique :

En 1889, PAUL VUEILLEMIN introduit le terme « antibiose » pour décrire le principe actif d'un organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie.

En 1897, ERNEST DUCHESNE envisagea de faire une activité des moisissures à des fins thérapeutiques, mais son idée ne se mettra en place qu'au XXème siècle à la suite de la découverte du docteur ALEXANDER FLEMING : en 1929, il remarqua qu'une de ses cultures de staphylocoques est en partie décimée : les bactéries ont été contaminées par les moisissures penicillium notatum, il constata aussi qu'elle ne se développe plus là où la moisissure prolifère (**Bakalar N. Penicillin, 1940)**. Il essaye alors d'extraire le principe actif des moisissures, mais toutes ces tentatives se soldent par des échecs. Dix ans plus tard, le biochimiste américain RENE DUBOS isole le premier antibiotique (ATB) : Gramicidine, celle-ci produite par des bactéries du sol, tue les pneumocoques.Ce premier ATB reste extrêmement difficile à purifier et hautement toxique.

Le premier ATB synthétisé a été créé par un biochimiste allemand GERHARD DOMAGK.En 1932, il a découvert qu'un colorant le sulfamidochrysoidine avait un effet sur les streptocoques. Il a breveté sous le nom prontosil et il a reçu le Prix Nobel pour sa découverte en 1939. En découvrant l'hémisynthèse, il a ouvert la voie à l'antibiothérapie moderne **(Ghouli A, Senoussi A, 2015).**

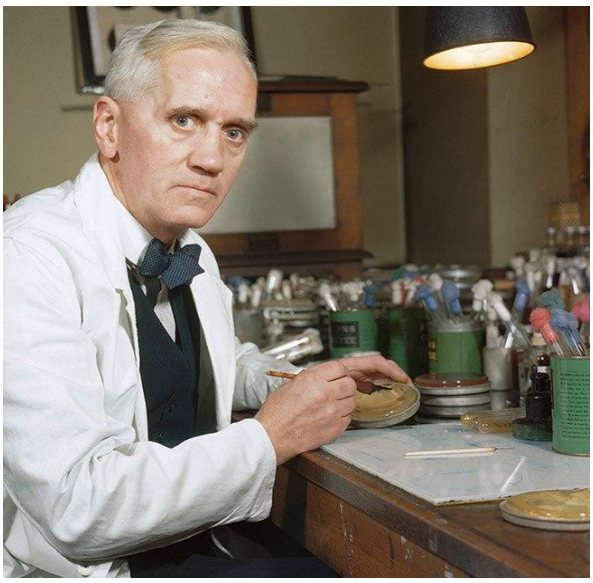


Figure 16 : Professeur Alexander Fleming

III.1.2 Définition

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne.
- Activité en milieu organique.
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme.

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte**. (D.Mohammedi).**

III.1.3 Types des Antibiotiques :

Il existe deux types d'antibiotiques d'origine naturelle ou synthétique :

III.1.3.1 Origine naturelle :

Environ 10 000 antibiotiques d'origine naturelle recensés dans le monde,70% correspond d'actinomycètes microfilaments dont le genre Streptomyce est un producteur majeur d'antibiotiques :tétracyclines, aminoglycosides,20% correspond des champignons :Pénicillium, Céphalosporium ,Aspergillus et 10 % correspond des bactéries(non Actinomycètes),en particulier des genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. La bacitracine utilisée pour certains traitements locaux en est un exemple **(Mehdi,2008).**

III.1.3.2 Origine synthétique.

Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organisme. On distingue des antibiotiques d'origine synthétiques par exemples : Sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique et les fluoroquinolones, et On distingue aussi des antibiotiques d'origine semi - synthétique, ils sont obtenus en modifiant en laboratoire une substance produite par un micro-organisme **(G. soufyane, 2021).**

III.1.4 Mode d'action des antibiotiques :

Il existe deux types, une action bactériostatique et une action bactéricide.

III.1.4.1 Action bactériostatique :

Ils empechent le devellopement des bactéries ou germes microbiens.

III.1.4.2 Action bactéricide :

Ils détruisent les bactéries en agissant sur la paroi, la membrane cytoplasmique, l'ADN et la synthese des proteines.

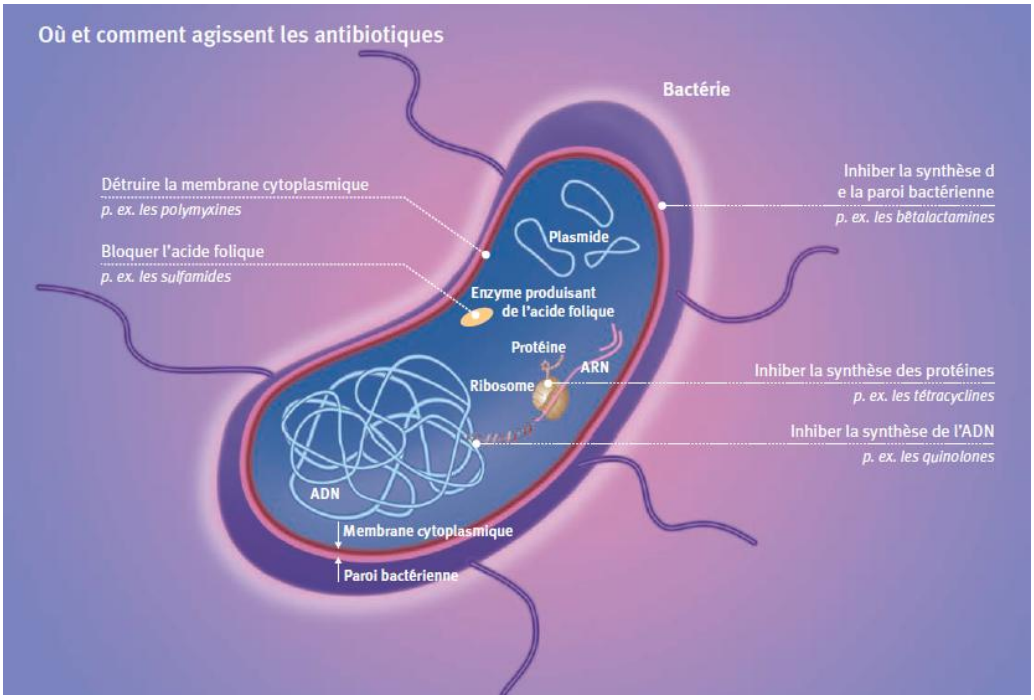


Figure 17 : Où et comment agissent les antibiotiques **(biotechlerncenter.interpharma).**

III.1.4.2.1 Action sur la paroi bactérienne. :

Inhibition de la synthèse de la paroi. Ces antibiotiques agissent sur des cibles extérieures de la cellule (paroi) et ne sont actifs que sur les germes qui sont en croissance.

Les antibiotiques bloquent la synthese de Peptidoglycane, la cellule s'allonge sans faire de paroi et ainsi explose sous l'effet de la pression osmotique interne (**Mehdi, 2008**).

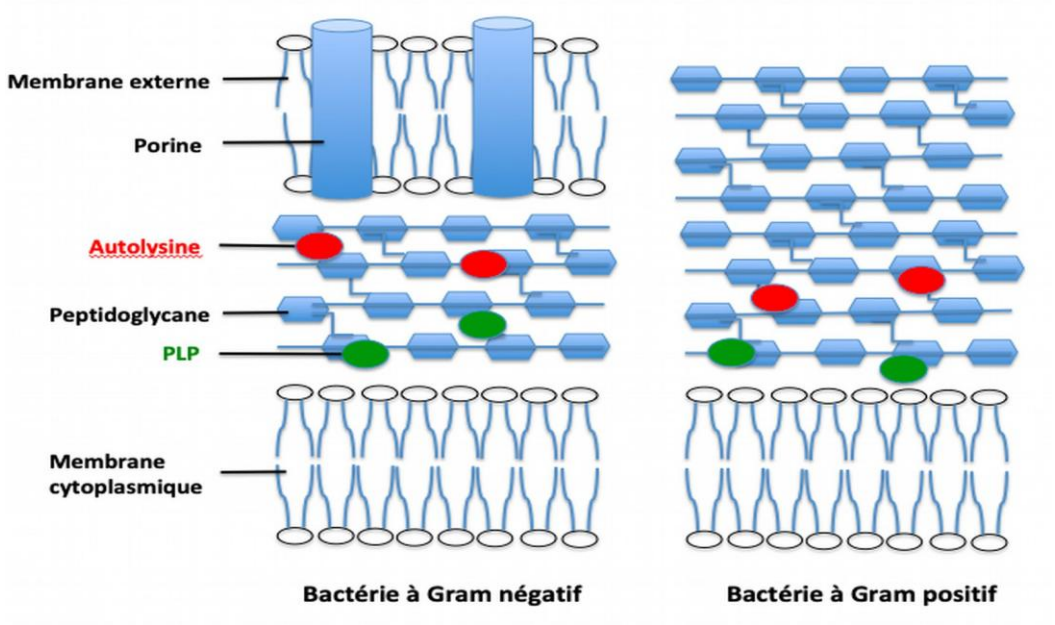


Figure 18 : Structure de la paroi bactérienne. **(Emilie Cardot Martin 2019).**

III.1.4.2.2 Action sur la membrane cytoplasmique. :

Ils agissent sur les membranes lipidiques ,la membrane externe d'abord puis la membrane cytoplasmique . la fixation de l'antibiotique va desorganiser la structure et le fonctionnement de ces dernieres et les rendre perméable , ce qui aboutit à la mort rapide de la bacterie .

III.1.4.2.3 Action sur l'ARN des ribosomes :

En inhibant la synthèse des protéines, pour constituer de bonne cible. Ils Agissent en se fixant sur la sous unité 30S, à concentration sub-thérapeutique, ils entraînent des erreurs de lecture, à dose thérapeutique, ils inhibent l'élongation de la chaîne peptidique en bloquant le complexe d'inhibition. En plus en diminuant l'AMP (Adénosine Mono Phosphate) cyclique intracellulaire, ils perturbent la barrière de perméabilité de la membrane cytoplasmique, ce qui conduit à la fuite vers l'extérieur des constituants intracellulaires, les aminosides et les Phenicoles agissent selon ce mode d'action **(G. soufyane, 2021).**

III.1.4.2.4 Action sur l'ADN bactérienne :

En inhibant la synthese ou meme le fonctionnement des acides nucleiques de differents facons selon les familles d'antibiotiques soit par : inhibition de la réplication de l'ADN soit

par inhibition de la transcription /ARN polymerase, ou par diminution de la synthese des précurseurs nucléotidiques **(Emilie et al, 2019)**.

Tableau V : Mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques **(Savard, 12-2008)**

Mode d'action	Familles d'antibiotique
Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	Bétalactamines Fosfomycine Glycopeptides
Inhibition de la synthèse protéique	Tetracyclines Macrolides Aminosides Phénicolés
Inhibition des acides nucléiques	Produits nitrés Quinolones Rifamycines
Inhibition compétitive de la synthèse de l'acide folique (folates)	Sulfamides
Augmentation de la perméabilité de la membrane bactérienne	Polymexines

III.1.5 Principales classes et familles des antibiotiques.

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action.

On distingue des principales classes des antibiotiques pour certaines divisées en sous classes :

III.1.5.1 Les Bêta-lactamines :

Toutes les molécules de cette famille possèdent un noyau **bêta-lactame**, les antibiotiques de Cette famille sont bactéricides. Leurs élimination est rénale ,par sécrétion tubulaire .

Agissent sur les bactéries Gram positif ainsi que les Gram négatif , par leur cible PLP (proteine liant les penicilline). Les sous classes des beta-lactamines sont :

1) **Les *Penicillines*** :

- Pénicilline G : Benzyl -penicilline . } Naturelles

- Péniciline V: Phénoxyméthylpenicilline.
- Pénicilline M : Méticilline ,Oxacilline ,Cloxacilline .
- Pénicilline A : Amoxicilline ,Ampicilline.

Semi-synthétiques

- Carboxypénicilline : Ticarcilline .
- Uéidopenicilline : Mezlocilline .

2) Les Céphalosporines :

- de 1ere génération : Cefazoline , Céfalotine.
- de 2eme génération : Cefoxitine .
- de 3 eme génération : Céfotaxime ,Céftriaxone .
- de 4eme generation : Céfepim.

3) **Les Carbapenemes** : Imipenème.

4) Les Monobactames : Aztréonam (à usage hospitalier).

5) Les Inhibiteurs des bétalactamases : Acide clavulanique, Tazobactam.

- Les mécanismes de resistance aux betalactames sont divers **:**

- Les betalactamases .
- Modification des PLP.
- Imperméabilité de la paroi .
- Efflux actif .

III.1.5.2 Les Aminosides ou Aminoglycosides. :

On distingue des sous-groupes selon la substitution sur l'aminocyclitol. Ces antibiotiques possèdent une action bactéricide rapide ,et agissent en inhibant la synthese proteique ,par voie parentérale exclusive . On recense plusieurs molécules.qu'elles soient naturelles ou hémi-synthétiques :

- Naturelle : streptomycine .
- Semisynthétique :gentamine , tobramycine ,amikacine ,néomycine

III.1.5.3 Les phenicolés :.

On distingue le chloramphénicol c'est un antibiotique à large spectre. En Algérie, il est réservé au traitement de la fièvre typhoïde.

Le thiamphénicol est très voisin chimiquement du chloramphénicol, son spectre d'action est similaire**. (D.Yala et al ,2001).**

III.1.5.4 Les Tétracyclines :

Les tétracyclines sont bactériostatiques, à spectre large Elles pénètrent bien dans les cellules, ces molécules présentent une grande homogénéité.

On distingue les cyclines naturelles (Chlorotétracyclines) et les cyclines semi synthétiques (Oxytétracycline, doxycycline, Minocycline) **(D.Yala et al ,2001).**

La resistance aux cyclines est soit naturelle : *pseudomonas aeruginosa* ,ou aquise par le phenomene d'efflux actif.

III.1.5.5 Les Macrolides :

Sont des antibiotiques fréquemment utilisés en pratique de ville à cause de leur facilité d'emploi. Ils ont un spectre étroit,bactériostatique, et sont parfaitement actifs sur les germes intracellulaires. Ils ont une excellente pénétration tissulaire, les macrolides possèdent un noyau lactone central qui est à la base de leur classification, selon le nombre d'atomes de carbone. Ce sont des molécules lipophiles : Azithromycine, Erythromycine , Josamycine , Clarythromycine Roxithromycine, Spiramycine **.**

III.1.5.6 *Les Quinolones :*

Cette classe d'antibiotiques doit être employée avec prudence en raison de la présence significative de résistances, ce qui justifie leur évitement en première ligne. On peut distinguer plusieurs sous-catégories, notamment les quinolones urinaires, qui se divisent en quinolones de première génération (telles que l'acide pipémidique et la fluméquine) et en fluoroquinolones (comme l'énoxacine, l'ofloxacine et la lévofloxacine) .

Elles sont bactéricide, agit en inhibant le topoisoméraseII « gyrase » chez les Gram negatif et la topoisomérase IV chez le Gram positif.(inhibition de la synthese de l'adn) **(D.Yala et al ,2001).**

III.1.5.7 Les glycopeptides :

Sont uniquement injectable ,vanco teicoplanine , agissent sue les Gram positif seu , connus d'être utilisés pour les staphylocoques methicillino- resistants. Ils sont néphro et oto – toxiques.

- Vancomycine.
- Teicoplanine.

III.1.5.8 Les Rifamycines :

Les rifamycines sont constituées d'un macrocycle et d'un cycle aromatique. On distingue trois antibiotiques : La Rifamycine SV (Rifocine ®), la Rifamide et, la Rifampicine. **(D.YALA et al ,2001).**

III.1.5.9 Les Sulfamides :

Sont bactériostatiques , ont un spectre large, perturbants la synthese de l'ADN , Sulfaméthoxasole, sulfadoxine ,sulfadiazine .

Ils sont generalement associés :

- triméthoprine +sulfamethoxasole =cotrimoxasole « BACTRIM ». -
-Pyriméthamine +sulfadoxine (tritement de la toxoplasmose).

III.1.6 L'Usage des antibiotiques.

Les antibiotiques peuvent être utilisés de 4 façons différentes, avec des objectifs variables **(Schwarz et al .2001 al, 2001 b)**.

- **Effet thérapeutique curatif des animaux**

Les antibiotiques sont tout d'abord utilisés à titre thérapeutique curatif. L'objectif majeur est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité. Le traitement aussi pour l'effet de réduire la souffrance et de restaurer la production (lait, viande). **(Mckellar, 2001).**

- **Effet d'une infection collective**

Lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, avec suffisamment d'éléments concordants pour incriminer des bactéries, l'ensemble du groupe d'animaux est traité. Les sujets qui sont exposés mais ne présentent pas encore de signes cliniques (sains ou en incubation) font donc l'objet d'un traitement en même temps que ceux qui sont déjà malades. **(Maillard, 2002).**

- **L'antibioprévention et antibioprophylaxie**

Les antibiotiques peuvent, parfois, être administrés à des périodes critiques de leur vie, sur des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue, après contrôle de la nature de l'infection par des examens de laboratoire. Dans ces conditions, on parle d'antibioprévention car le traitement permet d'éviter totalement l'expression clinique. Cette modalité d'utilisation des antibiotiques est adaptée à une situation sanitaire donnée et doit être

provisoire. L'antibioprophylaxie est également utilisée lors d'opérations chirurgicales pour prévenir les infections bactériennes.

- **Effet Alimentaire**

L'usage des antibiotiques dans l'aliment à titre d'additifs en vue d'améliorer la croissance à fait l'objet de nombreuses critiques. Il est très limité actuellement . Ces « antibiotiques régulateurs de flore », ou «antibiotiques promoteurs de croissance » AGP "Antibiotic growth promotors", sont utilisés à des doses très faibles, non curatives et sont tous des agents chimiothérapeutiques non utilisés en médecine humaine pour limiter les risques de sélection de résistance vis-à-vis de molécules d'intérêt médical majeur. **(Bezoen et al, 1999).**

III.1.7 Critères de choix d'antibiotique :

Quatre critères majeurs doivent intervenir dans le choix d'une antibiothérapie.

1) Critères bactériologiques : Identification du germe après prélèvement microbiologique plus étude de sa sensibilité In vitro aux antibiotiques sont du plus grand intérêt dans le traitement des infection sévères (septicémie , méningites ..) , ou dans le cas d'infections susceptibles d'êtres dues à un germe Multi résistant (infection nosocomiale) . En l'absence du germe en cause, le choix de l'antibiotique repose sur le diagnostic clinique en fonction des germes, habituellement responsables de la pathologie préjugée et de leur sensibilité usuelle aux antibiotiques **(V. CAVERIVIERE).**

2) Critères pharmacocinétiques : L'antibiotique choisi doit diffuser et être présent sous forme active au site infecté à une concentration supérieure à sa CMI vis-à-vis du germe considéré .Il doit être choisi en fonction de ses caractéristiques de diffusion (méninges, poumons..) ou d'élimination sous forme active (bile, urine).

3) Critères individuels : Le choix d'un antibiotique doit prendre en compte le terrain : femme enceinte, enfant, nourrisson, nouveau né, personne âgée, insuffisant rénal ou hépatique, allergique, immunodéprimé …, ces situations peuvent entraîner des adaptations de posologies ou des contre indications **(V. CAVERIVIERE).**

4) Critères de risque :

- Effets indésirables : à efficacité égale , l'antibiotique le moins toxique doit être Privilégie ,
- le risque écologique : l'utilisation des antibiotiques à spectre étroit adapté sera Préférée à celle des antibiotiques à spectre large plus fortement inducteurs de résistances .

- Retombées médico-économique : à efficacité et tolérance égales , la préférence sera donnée à l'antibiotique le moins cher .

III.2 L'Antibiorésistance :

Apparus en 1928, les antibiotiques ont permis de soigner les infections bactériennes et de sauver la vie de millions de personnes, en réduisant considérablement la mortalité par maladies infectieuses. Depuis la découverte de la pénicilline, considérée comme le premier antibiotique, les bactéries ont développé des mécanismes de résistance aux antibiotiques, appelés Antibiorésistance.
Ce phénomène touche aussi bien les bactéries à l'origine des infections (bactéries pathogènes) que les bactéries généralement inoffensives qui sont naturellement présentes sur notre corps (bactéries dites commensales), chez les animaux (de compagnie ou de production de denrées) et dans l'environnement.

Lorsque la résistance s'est développée chez l'une ou l'autre de ces espèces bactériennes, elle peut être transmise à d'autres espèces, et ainsi contribuer à l'expansion du phénomène et à sa diffusion. Les antibiotiques deviennent ainsi inefficaces et ne peuvent plus nous soigner contre des infections à bactéries résistantes**. (Sante.gouv.fr 2024).**

Depuis quelques décennies, l'Antibiorésistance ne cesse de prendre de l'ampleur et de se développer, aboutissant à des situations où il n'existe plus aucun traitement possible. Depuis 20 ans, aucun antibiotique avec un nouveau mécanisme d'action n'a été développé. **(B. Christian 2018).**

III.2.1 Définition

A. Selon la définition Microbiologique.

Une souche est dite résistante lorsqu' elle peut, Pousser en présence de concentration plus élevée d'antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont Phylogénétiquement liées . Par conséquent, la résistance est une propriété, qui ne peut être

étudiée que par comparaison de deux souches. dont l'une est de référence avec une souche développée au laboratoire à partir d'un prélèvement d'une même espèce ou d'un même genre, cultivé dans les mêmes conditions **(A.muylaert et al, 2012).**

B. Selon la définition Clinique

Une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. en outre , il est important de signaler qu'en conditions in vivo la capacité de résistance ou de sensibilité de la souche à la thérapie , antimicrobienne mise en place sera dépendante de différents paramètres, tels que la localisation de la bactérie le dosage et le mode d'administration de l'antibiotique , et l'état du système immunitaire de l'individu traité , et nombreuses sont les situations où le composée ne pourra pénétrer ou agir au niveau du site infectieux , créant de la sorte un état de résistance clinique : citons par exemple les abcès fibrotiques ou les conditions de pH ou de pression partielle en oxygène trop faibles **(A.muylaert et al, 2012).**

III.2.2 Types de résistance :

l' Antibiorésistance se caractériser par son caractère naturel ou acquis , son mécanisme et son support génétique .Il existe deux types de résistances :

III.2.2.1 La résistance naturelle :

Elle concerne toutes les souches d'un genre ou d'une espèce et détermine le phénotype sauvage de résistance. Elle est alors portée par le chromosome et se transmet verticalement lors de la division cellulaire**. (Pasteur.fr 2024).**

III.2.2.2 La résistance Acquise :

c'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques . Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d' ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) **(YALA et al ,2001).**

- **Les plasmides** L'information génétique est portée par des plasmides, transférables à d'autres bactéries Par conjugaison , transduction ou transformation**(Yala et al ,2001).**
- **Les Transposons** Ce sont des fragments d'ADN" sauteurs" qui peuvent s'intégrer soit dans le chromosome soit dans des plasmides , en allant de l'un à l'autre **(Yala et al 2001).** .

III.2.3 Les Causes d'Antibiorésistance :

La principale cause est la surconsommation des antibiotique par :

* Leur utilisation massive et répété.

* La prise d'antibiotiques pour lutter contre des infections virale (rhume, grippe, Bronchite, gastro-entérite) alors que les antibiotiques n'ont aucun effet sur les virus mais favorisent à chaque prise , l'apparition de bactéries résistantes dans notre corps .

* L'utilisation inutile d'antibiotique dans l'agriculture

* La mal-observance : le non respect de la dose et de la durée du traitement.

Lorsqu'une bactérie devient résistante, cela s'inscrit dans ces gènes, En se multipliant les bactéries transmettant leurs matériel génétique à leur descendance et donc leur résistance aux antibiotiques **(Christian, 12 - 18 novembre 2018).**

III.2.4 Les mécanismes de Résistance :

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés. **(Figure 19)** présente une illustration de ces différents mécanismes de résistance au sein des bactéries Gram négatives. **(A.Muylaert et Mainil J.G, 2012).**

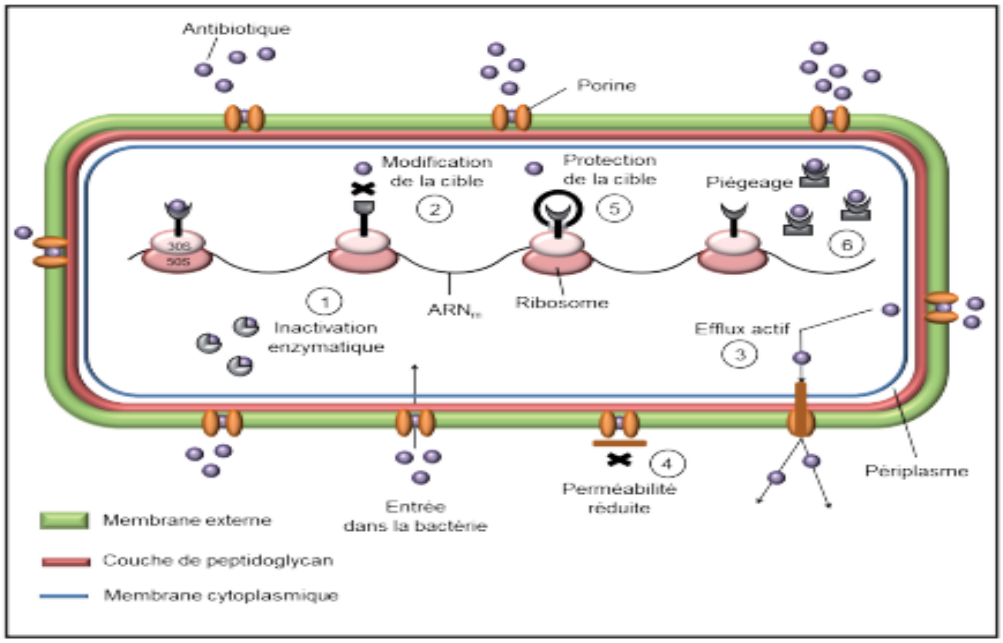


Figure 19 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative **(Guardabassi, 2006).**

1: inactivation enzymatique de l'antibiotique,

2 : modification de la cible de l'antibiotique,

3 : efflux actif de l'antibiotique,

4 : perméabilité réduite,

5 : protection de la cible de l'antibiotique,

6 : piégeage de l'antibiotique.

ARNm : acide ribonucléique messager

/	Perméabilité	Modification Cible	Efflux	Inactivation Antibiotique
Gram +	/	++	+	+
Gram -	++	+	+	+++

Figure 20 :Comparaison des mécanismes de résistance des bactéries Gram + et Gram- **(Aubert , 2009).**

III.2.4.1 Inactivation enzymatique des antibiotiques :

C'est un des mécanismes les plus répandus et les plus efficaces pour les bactéries qui consiste à sécréter une enzyme capable d'inactiver l'antibiotique avant même qu'il ait pénétré dans la bactérie. Les antibiotiques concernés sont : les bétalactamines , les MLS , les aminosides et les Phénicoles.

Les **bétalactamases** sont en parallèle les enzymes capables de détruire les bétalactamines et furent décrites un an avant la mise sur le marché de la Pénicilline Ce sont des enzymes vraisemblablement Anciennes et dont l'existence précède largement l'utilisation de masse des antibiotiques **(D'Costa et al, 2001),** on retrouve :

* les pénicillinases à spectre étroit : inactivent les amino-, carboxy- et uréidopénicillines.

* Les bétalactamases à spectre large ou etendu BLSE: les pénicillines, les céphalosporines, 'aztréonam

* Les Céphalosporinase déréprimées,

* Les Carbapénémase

Les estérases ou les phospho-transférases sont les enzymes qui augmentent la résistance aux : macrolides.

III.2.4.2 Modification de la cible :

Il existe différents mécanismes de modification de la cible de l'antibiotique. Tout d'abord, la modification structurelle de la cible entrainant une perte d'affinité dans le couple cible-antibiotique l'antibiotique ne pouvant pas se fixer correctement à sa cible, son action sera limitée **(Geslin, 1992)**. L'exemple le plus important concerne la résistance à la pénicilline G de *Streptococcus pneumoniae*.

La bactérie peut synthétiser une cible modifiée additionnelle via l'apport d'un plasmide par exemple, c'est le cas de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ou SARM qui peut exprimer une protéine liant les pénicillines (PLP) supplémentaire, la PLP2A identifiée dans les souches résistantes. **(Courvalin et al. 2006)**.

La bactérie peut également induire une hyperproduction de la cible : il s'agit d'un phénomène très fréquent qui touche tétracyclines, macrolides, quinolones, β-lactamines, aminosides, rifampicine. L'antibiotique se retrouve dilué dans ses concentrations normales d'utilisation puisque les cibles sont augmentées quantitativement **(Courvalin et al. 2006)**.

III.2.4.3 Diminution de la perméabilité :

Les bactéries Gram négatif bénéficient d'une membrane externe dont le rôle est justement de limiter l'entrée dans la bactérie de molécules toxiques (resistance naturelle). La diminution de la perméabilité membranaire peut également se faire en réduisant le nombre de pores membranaires conduisant ainsi à la reduction de la quantité d'antibiotique entrant dans la cellule (resistance acquise) **(Hancock et al, 2002**).

III.2.4.4 Mécanisme d'efflux :

Les bactéries sont pourvues de systèmes leur permettant d'expulser dans le milieu extérieur des métabolites ou composés toxiques étrangers comme les antibiotiques. Cet efflux actif nécessite de l'énergie sous forme d'ATP (Adénosine tri phosphate) , ou d'un gradient électrochimique transmembranaire , utilisé par des pompes à efflux ou transporteurs actifs qui réduisent la concentration intracellulaire de l'antibiotique limitant l'accès à sa cible .

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de ce dernier vers l'extérieur de la bactérie (efflux). Les transporteurs d'efflux de plusieurs ATBs sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens.

• **Les pompes SDR (** Specific drug resistance **)** , qui confèrent un haut niveau de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles . Elles expliquent un grande nombre de résistance et notamment celles aux tétracyclines (système Tet), observées chez les Gram négatifs, aux MLS(systèmes MsrA), et aux Phénicoles .

• **Les pompes MDR** (Multiple drug resistance) ; qui confèrent un bas niveau de résistance et dont les gènes sont généralement chromosomique avec pour principaux exemples le système MexAB-OprM chez *P. aeruginosa* , AcrAB-TolC chez *E .coli* , ou QacA chez *S. aureus* **(Jehl et al , 2012) . (Muylaert et al, 2015).**

III.2.4.5 Protection de la cible des antibiotiques :

Ce mode de résistance est bien connu pour la famille des tétracyclines et a été plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. il s'opère grâce à un encombrement stérique du ribosome par production de protéines Tet (M) et Tet (O) , qui délogent les tétracyclines de leur cible ou par synthèse de protéines Qnr (Quinolone Resistance) , qui se fixent sur la Topoisomérase, cible des fluoroquinolones , réduisant leur affinité pour celle-ci **(Demoré et al ,2012). (Muylaert et al , 2015).**

III.2.4.6 Piégeage d'antibiotique :

Lorsque l'inactivation de l'antibiotique ou la diminution de l'affinité pour la cible n'est pas possible, la bactérie peut être contrainte de séquestrer l'agent antibactérien. Une surproduction de la cible ou la synthèse d'une autre cible avec une affinité pour l'antibiotique permet de diminuer sa concentration libre sur la cible. Ce mécanisme s'observe chez des souches de S. *aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides qui présentent par ailleurs une modification de leur pepetidoglycane augmentant l'épaisseur de la paroi bactérienne où l'antibiotique se retrouve piégé **(Luicie, 2016).**

Germes	Antibiotique	Mécanismes
Staphylococcus aureus Meti R	Méticilline- bétalactamines	Nouvelle cible PLP*
Neisseria meningiditis	Pénicilline	Modification de la PLP
Staphylocoques	Macrolides , Lincosamides	Modification du ribosome
Streptocoque	Streptogramines B (ML . SB)	/
Pneumocoque	Pénicilline	Modification de la PLP

Figure 21 : Résistance acquise par modification de la cible **(D.YALA et al ,2001).**

III.2.5 Étude de la résistance bactérienne *in vitro :*

La surveillance de la situation des résistances livre des informations essentielles pour évaluer la situation épidémiologique et prévenir ou ralentir la diffusion de la résistance bactérienne.

III.2.5.1 Méthodes phénotypiques :

Les tests de sensibilité conventionnels aux antibiotiques dits tests phénotypiques mesurent le phénotype de résistance et sont utilisés pour caractériser la réaction des bactéries en présence d'un antimicrobien. **(Billy, 2003).**

Dans ce test, les bactéries sont exposées à différentes concentrations d'antimicrobiens, et leur capacité à se développer est testée en estimant la concentration minimale inhibitrice (CMI).Il en résulte trois catégories pour l'interprétation de l'efficacité d'un antibiotique :

- **Sensible** : probabilité élevée de succès thérapeutique avec un dosage standard.

- **Intermédiaire** : résultat thérapeutique incertain avec un dosage standard ou possibilité d'un succès clinique avec des concentrations antibiotiques plus élevées.
- **Résistant** : probabilité élevée d'échec thérapeutique **(Egli et al.2018).**

L'antibiogramme est une technique phénotypique dont le principe consiste à déterminer la résistance ou la sensibilité d'un ou de plusieurs antibiotiques. La bactérie isolée à partir d'un prélèvement biologique est cultivée sur un milieu solide comprenant une concentration croissante d'antibiotique. **(Jehl et al.2015).**

A. Méthodes directes

Les méthodes directes mesurent la CMI de chaque antibiotique. Il existe :
(Hanbaz, 2021).

- **Méthode de dilution en milieu liquide**

Cette méthode consiste à préparer de doubles dilutions d'antibiotiques dans un milieu liquide distribué dans des tubes à essai, qui sont ensemencés avec une suspension bactérienne. Après incubation, les tubes sont examinés pour la croissance bactérienne visible comme en témoigne la turbidité **(Reller et al. 2009)**. La CMI correspond à la concentration de l'antibiotique contenu dans le premier tube, qui reste clair après incubation. Cette méthode de référence ne permet de tester qu'un seul antibiotique dans chaque gamme **(Jehl et al.2015).** Une variante de cette méthode utilise des microplaques au lieu des tubes. Il s'agit d'une microdilution en plaque **(Hanbaz, 2021)** où la CMI correspond à la concentration la plus faible inhibant encore la croissance bactérienne **(Egli et al .2018).**

- **Méthode de dilution en gélose**

Cette méthode consiste à incorporer l'antibiotique à une concentration donnée dans la gélose. Une série de boites de Pétri est préparée avec des concentrations d'antibiotique croissantes, ensuite, les bactéries sont ensemencées à la surface du milieu gélosé. Celles-ci sont incubées. La lecture est alors effectuée: il est facile de repérer l'emplacement de chaque souche et de noter la présence ou l'absence de croissance **(Hanbaz, 2021).**

- **E-test**

Dans le cadre du test en gradient de diffusion, une bandelette de papier avec une concentration croissante d'un antibiotique est appliquée sur la gélose de Müller-Hinton préalablement ensemencée avec l'inoculum bactérien. Après incubation. Une ellipse d'inhibition de culture est tracée autour de la bandelette. La valeur de CMI est lue à l'intersection de la bandelette et de la culture bactérienne **(Joly-Guillou, 2006 ; Egli et al. 2018).**

- **Methodes des disques**

À la surface d'une gélose ensemencée en nappe, se dépose des disques contenant une quantité d'antibiotique. Après quelques secondes, l'antibiotique diffuse du disque vers la gélose selon deux directions, l'une horizontale, de façon régulière autour du disque, l'autre verticale vers le fond de la gélose. Après ensemencement de la gélose par la bactérie à tester, la croissance de cette dernière se fait autour du disque, en formant un halo d'inhibition. Il existe une corrélation entre CMI et diamètre d'inhibition d'un couple antibiotique-bactérie **(Jehl et al.2015 ; Hanbaz, 2021)**. Le diamètre est lié à la sensibilité de l'isolat et à la vitesse de diffusion du médicament à travers le milieu gélosé **(Reller et al. 2009).**

III.2.5.2 Automatisation de l'antibiogramme :

L'automatisation de l'antibiogramme s'est également développée au cours des trente dernières années. Les bénéfices perçus sont d'abord la productivité et la rapidité des résultats et la haute standardisation des tests : les réactifs sont préparés industriellement, les conditions d'incubation sont contrôlées, la lecture et l'interprétation sont automatisées. Seule la préparation de l'inoculum est laissée à l'utilisateur et est en outre assisté par un instrument de mesure **(Hanbaz, 2021).**

III.2.5.3 Méthodes moléculaires

Pour mieux comprendre les mécanismes de la résistance aux antibiotiques et pour détecter rapidement la présence ou l'absence de déterminants génétiques de la résistance, de nombreux tests moléculaires ont été développés **(Billy ,2003)**. Les techniques moléculaires peuvent offrir une détection des gènes de résistance de manière rapide et sensible à partir d'un isolat de culture voire d'un échantillon du patient. . **(Kaprou et al. 2021).** Ces tests analysent le génotype de la bactérie alors que les tests de sensibilité conventionnels analysent le phénotype correspondant à l'expression du génotype **(Egli et al.2018).**

La PCR est la technique d'amplification d'acide nucléique la plus couramment utilisée pour la détection des gènes de résistance **(Kaprou et al. 2021)** présents dans une bactérie ou même dans des échantillons provenant de différents environnements, pour autant que l'on dispose d'une séquence d'ADN pour le gène entier ou partiel, qui peut être utilisée pour concevoir les amorces de la PCR. **(Anjum et al. 2017).**

Un développement plus récent, en biologie moléculaire, est l'utilisation de l'amplification isotherme de l'ADN éliminant le besoin de thermocyclage, indispensable dans le cas des méthodes PCR traditionnelles **(Kaprou et al. 2021).**

De même, il a été récemment montré que les méthodes de séquençage du génome complet (WGS) sont une alternative réaliste pour évaluer la sensibilité aux antibiotiques d'une bactérie sur une série de 200 entérobactéries cliniquement intéressantes **(Zankari et al. 2013)**.

La caractéristique unique de WGS est qu'il fournit des informations presque complètes sur le génome d'un isolat, qui peuvent être utilisées pour comprendre la base génétique des mécanismes de résistance et différencier des isolats phénotypiquement identiques.

Ce type d'information moléculaire peut être utilisé dans le développement de nouveaux diagnostics et traitements pour la résistance antimicrobienne. Il permet également de localiser les déterminants de la résistance sur le chromosome bactérien ou sur les plasmides, ce qui fournit des informations précieuses sur les voies de propagation de la résistance **(OMS, 2020).**

La méthode du WGS permet en outre la classification des isolats dans un contexte moléculaire épidémiologique. De plus, tous les gènes séquencés peuvent être comparés avec des banques de données plus grandes, permettant également la détection de gènes de résistance plus rares **(Egli et al. 2018).**

Autre méthodes basées sur la spectrométrie de masse peuvent être utilisé pour la détection de la résistance antimicrobienne, en alternative à la caractérisation bactérienne génotypique ou phénotypique traditionnelle.

La MALDI-TOF MS repose sur le protéome cellulaire et est capable de profiler des protéines (principalement ribosomiques, 2 à 20 kD) à partir d'extraits de cellules bactériennes entières créant une empreinte spectrale bactérienne ou des profils qui discriminent les micro-organismes au niveau du genre, de l'espèce et de la sous-espèce **(Kaprou et al. 2021)**.

Cette approche permet non seulement l'identification bactérienne, mais aussi l'identification d'un mécanisme de résistance, ce qui permet l'adaptation précoce de l'antibiothérapie probabiliste **(Marcadé, 2013).** MALDI-TOF MS est considérée comme une méthodologie fiable, rapide précise, facile à utiliser et rentable **(Kaprou et al.2021).**

III.2.6 L'impact de l'antibiorésistance dans les écosystèmes :

L'antibiorésistance impacte tous les écosystèmes : hommes , animaux , environnement Economie **(Christian , 12 – 18 novembre 2018)**.

A) Impact sur la santé humaine :

Le développement de l'antibiorésistance dans le corps humain rend inefficace les traitements actuellement disponibles et de nombreuses interventions médicales de tous les jours peuvent devenir à risque .

En présence de bactéries résistantes, les risques seraient multipliés pour toutes les chirurgies simples ou complexes : réduction de factures osseuses, greffes d'organes néonatologie, réanimation, chimiothérapie.

Les infection nosocomiales , développées en milieu hospitalier , sont des conséquences Les plus connues de l'antibiorésistance .

B) Un impact sur la santé animale :

La propagation des bactéries résistantes aux antibiotiques S'effectue de différentes manières : à travers l'alimentation , l'environnement au par contact direct , et est favorisées par l'usage abusif des antibiotiques . La mobilisation des éleveurs, des propriétaires d'animaux de compagnie, des vétérinaires et de l'ensemble des acteurs sanitaires est indispensable pour relever le défi de la lutte contre l'antibiorésistance .

C) Un impact sur l'environnement

les milieux naturels Deviennent un réservoir de gènes de résistance et un véritable laboratoire de prolifération de ces derniers développés par les bactéries . les eaux , les sols et la faune sauvage propagent Alors ces nouvelles bactéries résistantes .

D) Un impact sur l'Economie

La menace représentant les infections bactériennes résistantes Antibiotiques dans le monde et en particulier , dans les pays les plus pauvres , serait susceptible de provoquer un impact comparable à la crise financière de 2008(**Etude de la Banque Mondiale ,2008**) .

La Surconsommation d'antibiotiques en France entrainerait une dépense supplémentaire De 71 millions d'euros (par rapport à la moyenne européenne) et de 441 millions d'euros (par rapport aux pays européens) les plus vertueux **(Rapport Carlet, Juin 2015).**

III.2.7 Conséquences de l' Antibiorésistance :

Les conséquences de l'inefficacité des antibiotiques sont multiples :

- Des maladies plus longues et plus difficiles à soigner ;
- Des complications de la maladie ;
- Des consultations médicales supplémentaires ;

- Une utilisation de médicaments plus puissants et plus chers pour arriver à soigner ;
- Des risques plus élevés lors d'interventions médicales, pour lesquelles les antibiotiques sont indispensables pour réduire les risques infectieux ;
- Des décès causés par des infections bactériennes jusqu 'alors faciles à traiter.

Selon une récente estimation du centre européen de prévention et contrôle des maladies (ECDC), les infections à bactéries résistantes touchent plus de 120000 cas par ans en France, et sont associées à plus de 5500 décès. À l'horizon 2050, en l'absence de mesures adaptées, on estime le nombre de décès dus à l'Antibio-résistance à 10 millions de morts par an, dans le monde**. (Antibiotiques.gouv.fr)**.

III.2.8 L'antibiorésistance chez le Staphylocoque :

A. Résistance aux β–lactamines :

Elle repose sur deux grands types de mécanisme :

- Résistance par production de β-lactamase.
- Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle : la plp2a.
- Modification de protéines de liaison à la pénicilline autre que la pLp2a.

B. Résistance aux aminosides :

Ces antibiotiques agissent en inhibent la synthèse d'ARN.

- Mécanisme enzymatique : les enzymes inactivant les aminosides .
- Mécanisme de mutation de la cible de cet antibiotique.

C. Résistance aux macrolides :

Trois mécanismes sont impliqués :

- Modification de la cible de l'antibiotique qui repose sur l'action d'une enzyme méthylase.
- Mécanisme d'efflux : trois gènes codant pour des systèmes d'efflux chez les Cocci à Gram positif (msrA, msrB, msrF).
- Résistance par enzymes inactivatrices .

D. Résistance aux glycopeptides :

Concernant les staphylocoques dorés intermédiaires aux glycopeptides, il existe de nombreuses modifications de la paroi bactérienne avec notamment une production accrue de précurseurs du peptidoglycane **(Quincampoix et Mainardi, 2001).**

Méthodologie

Les objectifs de l'étude :

- Déterminer la fréquence des bactériémies diagnostiquées à l'hôpital de Médéa en 2024.
- Identifier les espèces bactériennes isolées des hémocultures positives à l'hôpital de Médéa.
- Analyser le profil de résistance aux antibiotiques des bactéries isolées des hémocultures.

Type de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive portant sur l'analyse des hémocultures et leur profil de résistance aux antibiotiques à l'établissement public hospitalier "Mohammed Boudiaf "de Médéa sur une période d'une année (2024), complétée par un travail de paillasse du mois de février.

Le lieu de l'étude :

L'étude a été menée au sein de l'unité de bactériologie du laboratoire central de l'établissement public hospitalier "Mohammed Boudiaf " de Médéa.

I. Matériels

I.1 Matériels biologiques :

Notre échantillon est constitué de 147 séries d'hémoculture (au totale 270 hémocultures ; 43 séries sont formées de quatre flacons, 99 séries sont formées de deux flacons, 40 sont formées d'un seul flacon.

L'échantillon englobe toutes les hémocultures reçues au laboratoire provenant des différents services du EPH (postopératoire, urgences, médecine hommes, médecine femmes, pédiatrie, infectieux …).

I.2 Matériel non biologique :

Le matériel non biologique est représenté par les instruments, les appareillages, les verreries, les réactifs, les milieux de cultures, flacons d'hémocultures, les disques d'antibiotiques d'oxydase et de catalase **(Annexe I).**

II. Méthodes

II.1 Prélèvement :

La ponction veineuse constitue la méthode de référence pour le prélèvement sanguin dans le cadre d'une hémoculture. Les autres sites de prélèvement, en particulier les échantillons obtenus à travers un dispositif intravasculaire (tels que les cathéters), sont associés à un risque accru de contamination microbiologique. Par conséquent, en cas d'utilisation de ces

méthodes alternatives, il est nécessaire de procéder à des prélèvements itératifs afin d'optimiser la détection et l'identification de l'agent pathogène responsable.

- **Adultes :**

Chez l'adulte, le volume de sang qu'il est recommandé de prélever pour une mise en culture est de 40 à 60 ml. Étant donné que chaque set se compose d'un flacon aérobie et d'un flacon anaérobie, chacun des flacons doit être inoculé avec environ 10 ml de sang. Ce volume est recommandé pour optimiser la récupération des agents pathogènes lorsque la charge bactérienne/fongique est inférieure à 1 unité formant colonie (UFC) par ml de sang. Par ailleurs, il est généralement recommandé d'utiliser deux ou trois sets de flacons (deux flacons par set) par épisode septique, ce qui implique, chez l'adulte, de prélever 40 à 60 ml de sang sur le patient pour les 4 à 6 flacons, à raison de 10 ml par flacon.



Figure 22 : flacons d'hémoculture Aérobie et Anaérobie chez l'adulte. **(Photo original).**

- **Enfants :**

Le volume optimal de sang à prélever chez les nourrissons et les enfants est moins bien prescrit et doit être adapté au poids du patient **(Voir Tableau VI**).

Tableau VI : Recommandation sur les volumes de sang à prélever en pédiatrie. **(Kellogg J.A, et al, 2000).**

Poids	Volume de sang (ml)	Volume	Volume

de l'enfant (kg)	Culture 1		Culture 2		Culture 3		total cultivé (ml)	total soustrait (ml)
	Aérobie	Anaérobie	Aérobie	Anaérobie	Aérobie	Anaérobie		
≤1	0,5 à 2						0,5 à 2	1,5 à 3
1,1-2	1,5 à 4,5						1,5 à 4,5	1,7-3
2,1-3,9	3 à 6						3 à 6	1,8
4-7,9	6						6	1 à 2
8-13,9	4 à 5	4 à 5					8 à 10	1 à 1,5
14-18,9	5	5 à 7	5 à 8	5 à 7			20 à 24	1,8 à 2,4
19-25,9	5	5	5	5	5	5	30	1,8 à 2,2
26-39,9	10	10	10	10			40	1,7 à 2,2
≥ 40	10	10	10	10	10	10	60	≤ 2,3

Il convient également d'utiliser un flacon anaérobie, sauf en cas de suspicion d'une infection anaérobie. Des flacons d'hémoculture pédiatriques sont spécialement conçus pour maintenir le ratio sang-bouillon habituel (1:5 à 1:10) avec de petits volumes de sang, et ils ont montré qu'ils permettent d'améliorer la récupération microbienne.

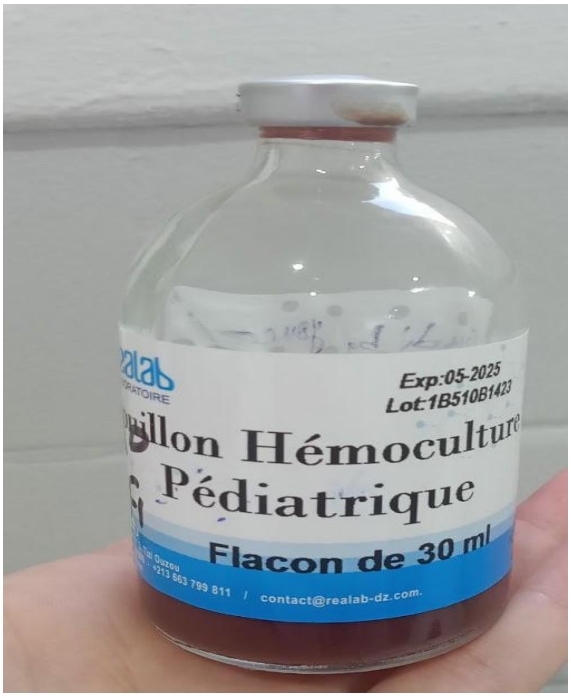


Figure 23 : Flacon d'hémoculture pédiatrique.

II.2 Réception – Enregistrement :

Les flacons d'hémoculture sont acheminés protégés par une touffe de coton pour assurer leur conservation à température ambiante. Chaque flacon est identifié par le nom du patient, ainsi que l'heure et sa température lors du prélèvement. Une fiche renseignements détaillant son état accompagne les échantillons.

Dès que les flacons sont reçus, ils sont mentionnés sur le registre des hémocultures. (**Voire Annexe 1).**

II.3 Incubation :

Dès l'arrivée au laboratoire, les flacons d'hémoculture sont incubés dans l'étuve à 37°C ou introduits dans l'automate. Il y a un suivi et une surveillance des hémocultures, dans le but de détecter un signe de multiplication bactérienne.

III. Etude bactériologique

III.1 Examen macroscopique

- **Méthode convtionnelles ;**

Au laboratoire les flacons sont examinés chaque jour à partir de la 6 ème heure d'incubation. La surveillance des flacons se fait visuellement, durant la durée d'incubation deux fois les premières 48h, puis une fois par jour le restant de la période d'incubation, qui est le plus souvent de 10 jours, et prolongée à 21 jours pour les cas de suspicion d'endocardite infectieuse.

La surveillance par œil nu, note la présence de trouble, une coagulation du bouillon, une hémolyse, et de bulles d'air. **Tableau VII :** Aspect du bouillon d'hémoculture en cas positive.

Aspect macroscopique	Bactérie en cause
Coagulum	*Staphylococcus aureus*
Production de gaz	Bactéries aéro anaérobies ou anaérobies strictes.
Colonies au fond du flacon	*Streptococcus spp. Nocardia sp.*
Turbidité	Bacille à Gram négatif. *Staphylococcus sp.* *Bacteroides spp.*
Hémolyse	*Staphylococcus sp.* *Streptococcus sp.* *Clostridium sp.* *Listeria monocytogenese.*

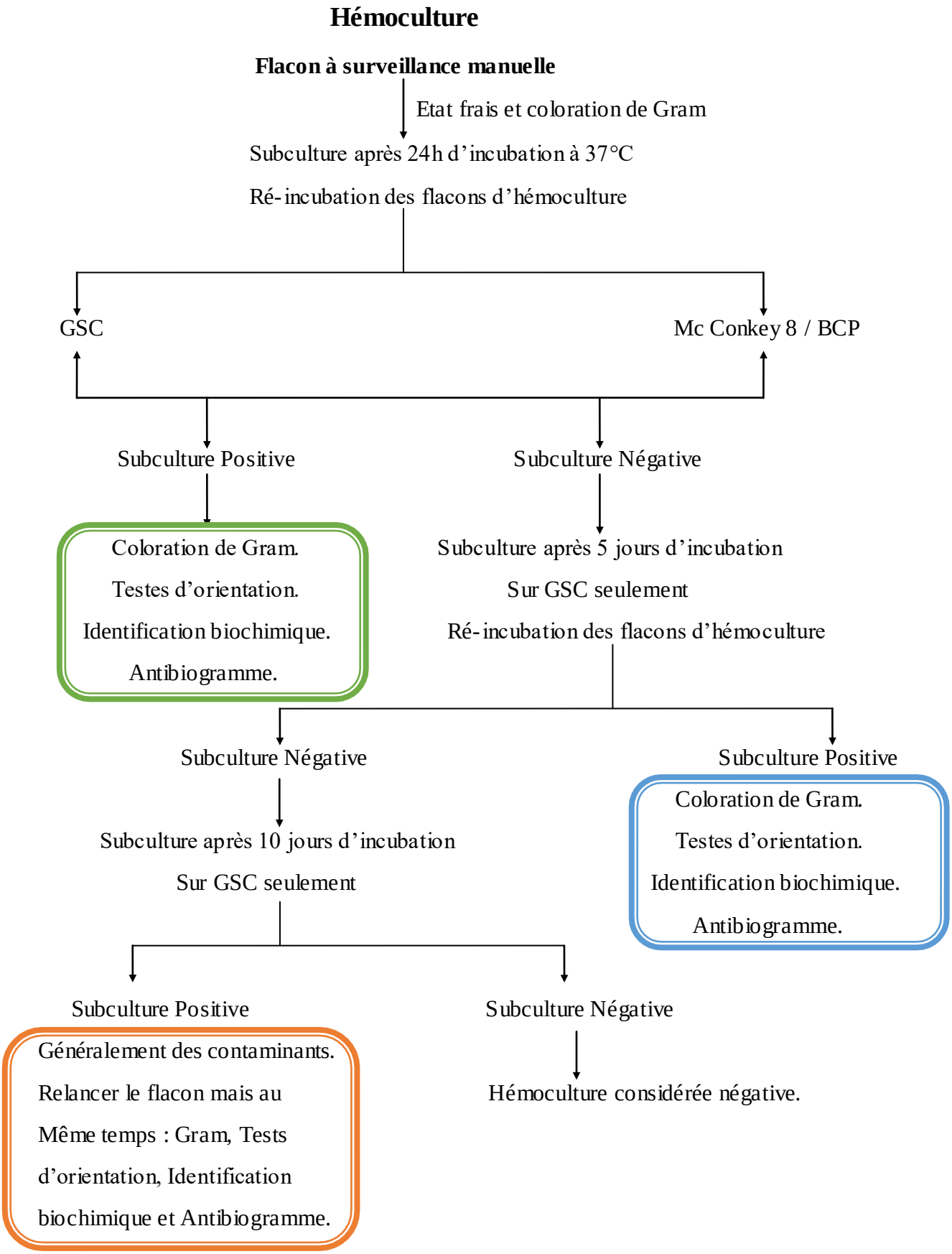


Figure 24 : Diagramme de traitement des flacons d'hémoculture à surveillance manuelle.

- **Suivi des flacons :**

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

III.2 Examen microscopique :

Deux examens microscopiques sont systématiquement réalisés dès les premiers signes de culture : un à l'état frais et un après coloration de Gram. Ces manipulations doivent être effectuées avec précaution pour éviter toute contamination du bouillon d'hémoculture. L'examen direct permet d'observer la morphologie du germe présent, ce qui peut orienter l'identification de l'agent pathogène.

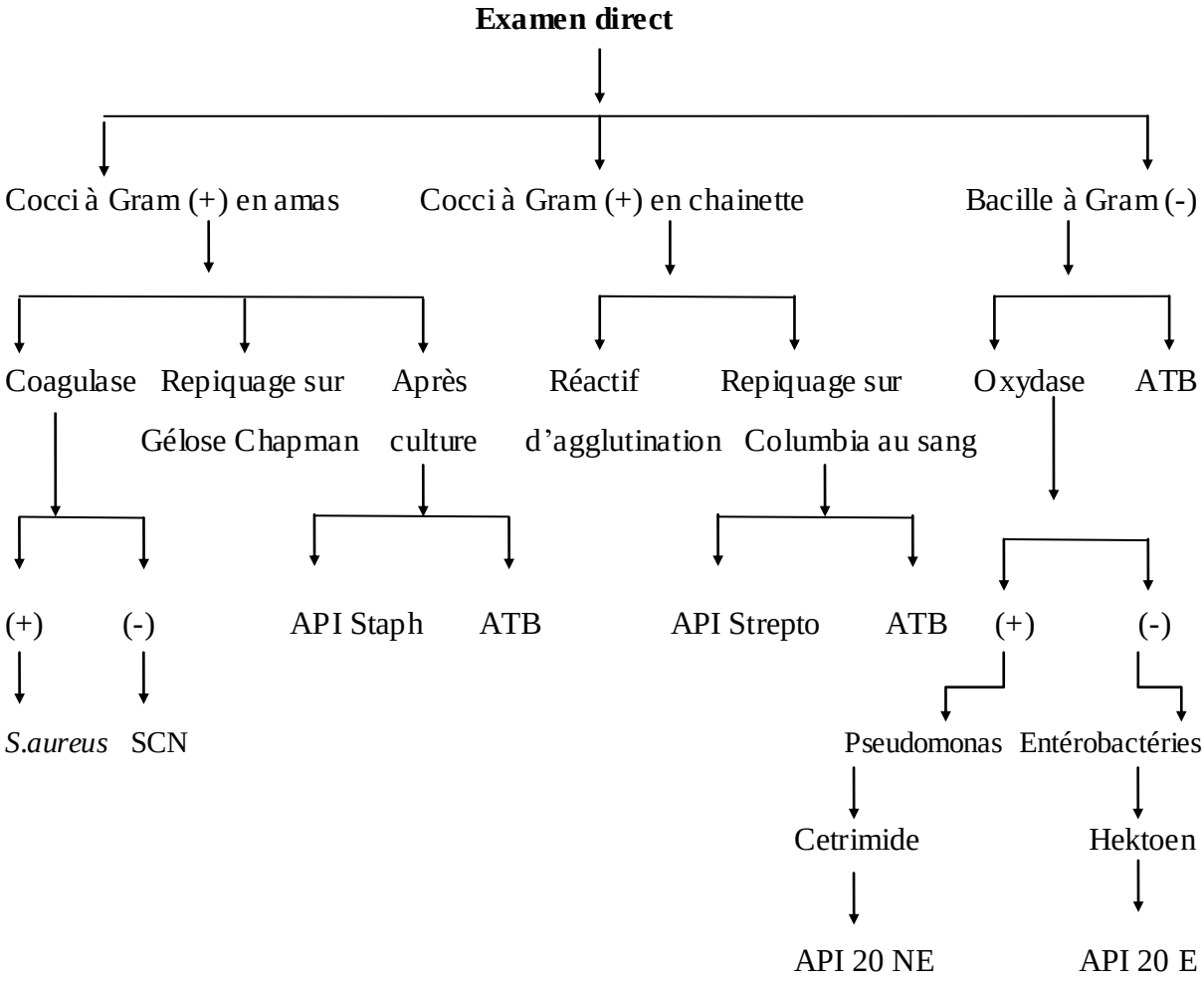


Figure 25 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental après culture.

III.3 Culture et isolement :

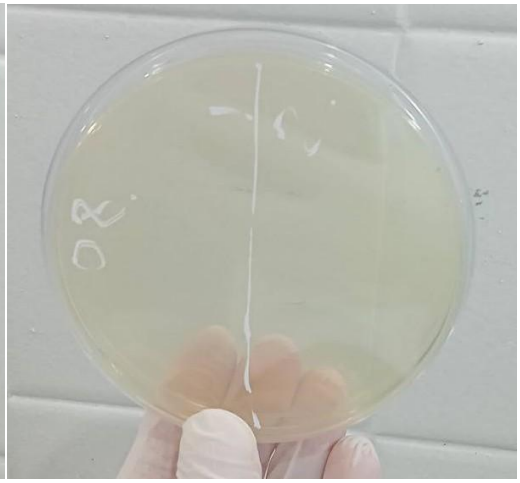
Un examen microscopique positif ou négatif est soumis à la subculture qui a été fait de façon systématique à 24h, 5ème jour et à la fin de la période de surveillance des flacons (jour 10) .

- **Technique :**

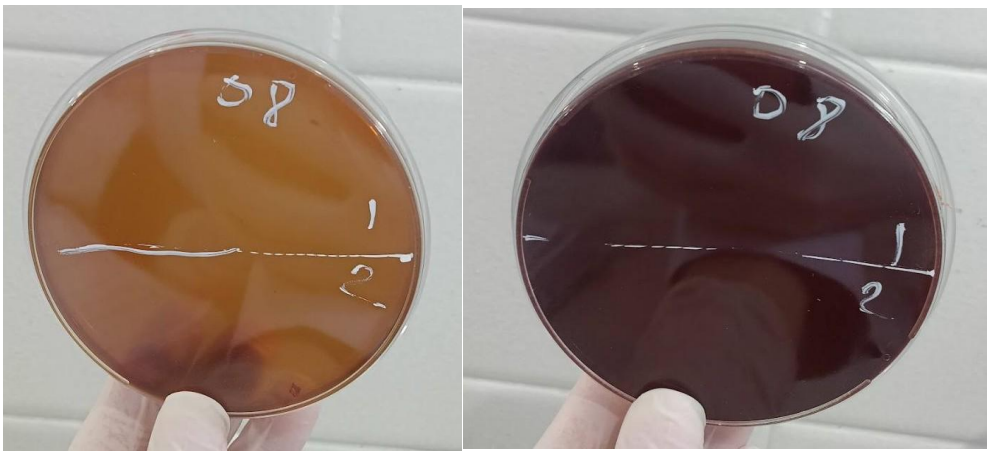
- A l'aide d'une seringue stérile, quelques gouttes de sang sont prélevées et ensemencées par des stries serrées sur les milieux d'isolement :
- Gélose nutritive ; un milieu ordinaire.
- Gélose Hektoen pour l'isolement des entérobactéries et autres BGN.
- Gélose Chapman c'est un milieu sélectif pour les staphylocoques.
- Gélose au sang frais ; milieu d'enrichissement utilisée pour détecter l'hémolyse (α, β, γ) et cultiver des bactéries exigeantes (ex. *Streptococcus spp*, *Haemophilus spp*).
- Gélose au sang cuit (GSC); Milieu contenant du sang chauffé (~80°C), lysé et brunâtre, ce qui libère des nutriments (NAD, hémine) favorisant la croissance de bactéries fastidieuses (ex. *Neisseria spp*).



Gélose Chapman



Gélose nutritive



Gélose Hektoen Gélose au sang cuit

Figure 26 : Les milieux d'isolement utilisés. **(Photos original).**

L'incubation des milieux de culture a été fait en aérobiose (en atmosphère ordinaire) pour la gélose Chapman, gélose nutritive et la gélose Hektoen et en anaérobiose (sous une atmosphère de CO2) pour la gélose au sang cuit pendant 24h à 48h à une température de 37°C.



Figure 27 : Incubateur pour les flacons et les milieux aérobies (à gauche) et incubateur pour les milieux anaérobies (à droite) **(Photo original).**

IV. Identification :

Toutes les souches isolées sont identifiées de manière précise, en se basant sur les caractéristiques morphologiques, culturelles, biochimiques et éventuellement antigéniques. Plusieurs méthodes d'identification sont utilisées : les tests rapides d'orientation (oxydase, catalase, coagulase), les galeries API ou les cartes Vitek, en fonction de la disponibilité des réactifs.

IV.1 Identification macroscopique :

Afin de s'orienter vers la famille de la bactérie, le microbiologiste se base sur l'aspect macroscopique des colonies Les colonies ont été examinées à l'œil nu en fonction de leur apparence, de leur taille (petites, moyennes, grandes), de leur forme (plates, bombées) et de leur couleur (blanchâtres, vertes, orange…). On a signalé une abondance de colonies (rares, nombreuses, très nombreuses). Le tableau suivant présente l'apparence des colonies bactériennes.

Tableau VIII: L'aspect des colonies bactériennes sur les milieux de culture.

Milieux	Observation
Gélose Chapman	Colonies dorées (staphylococcus aureus ou staphylocoque doré) et colonies blanches (staphylocoque blanc).
Gélose Hektoen	Des colonies orange (Lac+) et des colonies vertes (Lac-).
Gélose au sang	Hémolyse : Hémolyse β : zone claire d'hémolyse totale de diamètre 3- 4mm entourant les colonies. Hémolyse α : zone floue et verdâtre de 1 à 2 mm de diamètre.
Gélose nutritive	C'est un milieu ordinaire.

IV.2 Identification microscopique :

Les examens microscopiques sont utiles pour évaluer la présence ou l'absence de germes.

IV.2.1 Examen à l'état frais :

C'est une méthode sans fixer ni colorer qui permet d'observer la bactérie vivante et d'évaluer sa mobilité, sa morphologie (cocci ou bacille) et son mode de regroupement (diplo, amas, chainette,…). La préparation se fait soit à partir d'une suspension bactérienne après culture, soit à partir du produit pathologique directement.

- **Technique :**

- Déposer une goutte d'eau stérile sur une lame.
- A partir d'une culture, prélever une colonie avec une pipette pasteur.
- Homogénéiser puis déposer une lamelle en dessus de la lame
- L'observation se fait à l'objectif × 40 avec un diaphragme quasiment fermé pour augmenter le contraste. Il est conseillé d'attendre quelques dizaines de secondes jusqu'à disparition des mouvements liquidiens.

IV.2.2 Examen de la coloration de Gram :

La coloration de Gram permet de diagnostiquer et de classer les bactéries en deux groupes selon la structure de leur paroi en : bactéries à Gram positif et bactéries à Gram négatif.

- **Technique :**

La coloration de Gram est réalisée sur un frottis préalablement préparé à partir d'une culture de 18 à 24 h et fixées sur une lame, en suivant les étapes ci dessous :

- Verser le violet de gentiane et laisser agir 1 min.
- Rincer avec l'eau du robinet.
- Verser le Lugol, et laisser agir pendant 1 min.
- Rincer avec l'eau du robinet.
- Décolorer à l'alcool pendant 30 seconds.
- Rincer avec l'eau du robinet.
- Verser la Fuschine et laisser agir 1 min.
- Rincer avec l'eau du robinet.
- Sécher et observer au microscope optique à l'immersion au grossissement x1000.

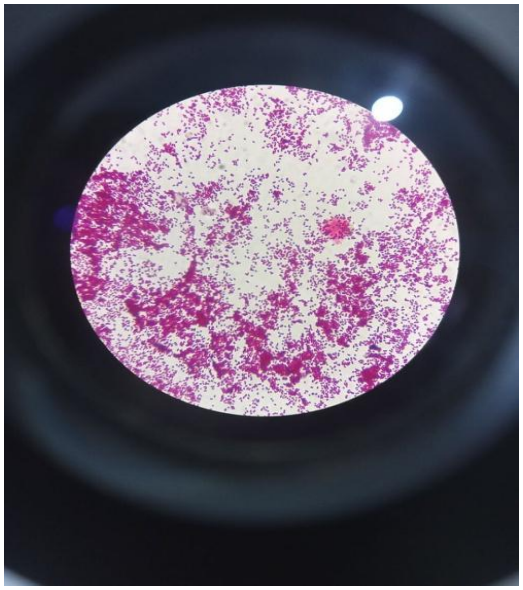


Figure 28: Entérobactéries sous microscope après coloration de Gram. **(Photo originale).**

V. Identification biochimiques

Identifier les bactéries est une étape cruciale dans le diagnostic microbiologique d'une infection. Il est essentiel que l'identification soit fiable et rapide.

L'identification bactérienne peut être réalisée à l'aide de méthodes phénotypiques,

Immunologiques et/ou moléculaires.

- **Test d'Oxydase :**

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme c'est qui catalyse une réaction d'oxydo-réduction en impliquant une molécule d'oxygène comme accepteur d'électrons. Le test

d'oxydase est le plus souvent utilisé dans le but de distinguer entre les BGN non oxydatifs à oxydase négative (*Enterobacteriaceae* et *Acinetobacter*) et les BGN oxydatifs à oxydase positive (*Pseudomonadaceae*).

- **Technique :**

Ce test est réalisé à l'aide des disques vierges sur lequel on dépose une goutte du réactif N-diméthylparaphénylène diamine, sur lequel on dépose une colonie par une pipette Pasteur stérile.

- **Lecture :**

- Présence d'une coloration bleu-violet : Oxydase (+).
- Absence de coloration : Oxydase (-), la lecture est immédiate et sans incubation.

➢ **Test de Catalase**

La catalase a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène. C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne. Le test de catalase est généralement utilisé pour les coccis à Gram positif afin de différencier les *Staphylococcus* qui sont à catalase positive, des *Streptococcus* et *Enterococcus* qui sont à catalase négative.

- **Technique :**

Une colonie issue de la culture bactérienne est mise en contact avec une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) sur une lame.

- **Lecture :**

- La bactérie possède la catalase (Catalase +) : si dégagement immédiat de bulles d'oxygène.
- La bactérie ne possède pas la catalase (Catalase -) : si il ya pas des bulles d'oxygène qui se forment.

➢ **Test de la Coagulation:**

Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée dans le milieu extérieur présent chez *Staphylococcus aureus*.

- **Technique :**

Dans un tube à hémolyse, mettre 0.5ml de plasma humaine, et ajouter quelques colonies bactériennes, puis incuber dans l'étuve à 37°c pendant 4h-24h. Les souches de S. aureus provoquent la coagulation du plasma le plus souvent les trois premières heures. Un témoin positif contenant ATCC S. aureus, et un négatif contenant que du sérum sont utilisés.

- **Lecture :**

- Un test positif : formation d'un coagulum lié à la transformation du fibrinogène en fibrine, spécifique à *S. aureus*.
- Un test négatif : pas de coagulation, bactérie définie en tant que staphylocoque à coagulase négative (SCN).

➢ **Galeries API**

La galerie API est un outil standardisé et miniaturisé conçu pour identifier et caractériser une bactérie spécifique à l'aide d'une série de tests biochimiques. Elle se présente sous la forme d'une série de microtubes, appelés tubules, chacun correspondant à un test biochimique particulier. Chaque tubule est ouvert à son sommet, formant une cupule, et peut être rempli ou non de liquide afin d'adapter les conditions expérimentales. Les tubules contiennent des substrats spécifiques (ONPG, ADH, GEL, etc.) auxquels les microorganismes réagissent de manière différenciée en fonction de leurs caractéristiques métaboliques.

- **Technique:**

- Les galeries sont à la base du système API, où des tests biochimiques sont effectués dans des puits.
- Les cupules de la galerie sont remplies d'eau pour créer un environnement humide. Dans certaines cupules,
- l'application de vaseline est indispensable pour établir des conditions d'anaérobiose.
- Par la suite, un couvercle est positionné sur la galerie, qui est ensuite incubée à une température de 37°C pendant une durée de 24 à 48 heures.

- **Lecture :**

L'interprétation des résultats repose sur l'observation des modifications de couleur et de turbidité dans les puits, suite à l'ajout de réactifs spécifiques. La lecture des résultats s'effectue conformément à la fiche d'interprétation propre à chaque espèce étudiée.

VI. L’antibiogramme

L’antibiogramme est la dernière étape de l’étude, elle visant à tester la sensibilité des bactéries aux antibiotiques sur un milieu gélosé Mueller Hinton (MH) selon les recommandations de comité de l’antibiogramme de la Société française de microbiologie.

Les antibiotiques testés étaient choisis pour chaque famille suivant la septième édition de la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l’échelle nationale.

Cette technique permet à un médecin de choisir le bon antibiotique, ou l'association d'antibiotiques permettant de traiter efficacement le patient.

- **Technique :**

1. **Préparation de la suspension bactérienne :**

- À l'aide d'un Écouvillon, on a enlevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Après cela, on prépare la suspension bactérienne en plongeant complètement les colonies dans 10 ml d'eau physiologique stérile.
- La suspension bactérienne doit avoir une densité de 0,5 McFarland.

2. **Technique d’ensemencement :**

- On a ensemencé toute la surface de la boîte de gélose Mueller-Hinton.
- En faisant des stries serrées avec un écouvillon.
- Afin d'assurer une répartition régulière de l'inoculum, l'ensemencement a été répété à trois reprises.
- En utilisant une pince stérile, on a appliqué les disques d'antibiotiques sur la surface de la gélose, avec un maximum de six disques par boîte.
- Les disques doivent être disposés de manière régulière.
- L'annexe 3 détaille les différents disques d'antibiotiques utilisés pour chaque espèce.

3. **Lecture :**

- Après avoir incubé en atmosphère pendant 18-24 heures, la CMI est visible à l'œil nu, et elle correspond à la mesure, située à la jonction entre l'ellipse et la bandelette E-test.
- Les valeurs lues sont comparées aux valeurs critiques, ce qui permet de classer la souche dans la catégorie Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

Résultats et Discussion

I. Résultats :

Les bactériémies sont des affections graves, responsables d'une mortalité significative, il s'agit d'une urgence diagnostique et thérapeutique, le meilleur moyen de diagnostic repose sur la réalisation des hémocultures.

La présente étude vise à isoler et identifier les germes responsables des bactériémies, à partir des hémocultures, ainsi que déterminer leurs profils de résistance aux antibiotiques.

Il s'agit d'une étude rétrospective des hémocultures positives et des résistances aux antibiotiques à partir du janvier au décembre 2024, menée au niveau du laboratoire de bactériologie de l'EPH de Médéa « Mohamed Boudiaf »

I.1 Caractéristiques de la population étudiée

Au cours de la période d'étude, le nombre de patients pour lesquels une bactériémie était suspectée est 147 patients, hospitalisés dans les divers services de l'EPH de Médéa. Dans la population d'étude, on remarque qu'il y'a une prédominance masculine (59,1%) avec une sex-ratio H/F de 1,45.

Nos résultats sont similaires à l'étude de Boukerouaz et **Benmhidi (2017)** où il y'a une prédominance du sexe masculin (56%), de même pour **Elmouali (2012), Benzriouil (2010)** et **Seko Koné (2009)** qui ont trouvé une prédominance masculine.

Tableau IX : Caractéristiques de la population étudiée.

Caractéristiques	Effectif (N=147)	Pourcentage (%)
Sexe		
Homme	87	59,18 %
Femme	60	40,81 %
Age		
Adulte	103	70,06 %
Enfant	44	29,93 %

- **Services demandeurs des hémocultures :**

La fréquence des demandes d'examens d'hémocultures varie selon le service. Parmi Les 147 hémocultures étudiées, la grande majorité des échantillons provenait de trois services qui sont la pédiatrie (23,80%), la médecine interne (17,68%) et les urgences médico-chirurgicales (16,32%). Des hémocultures ont été reçues respectivement des services de réanimation et de pneumologie (14,9%), (12,92%). Seuls quelques échantillons ont été envoyés par les autres services **(Tableau X).**

Tableau X : Répartition des nombres des demandes d'hémoculture selon le service.

Service	Nombre de prélèvement (%)
Pédiatrie	23,80 %
Médecine interne	17,68 %
Urgence médecine-chirurgicales	16,32 %
Poste opératoire	14.96 %
Phtisiologie	12,92 %
Chirurgie général	4,76 %
Infectieux	3,40 %
Chirurgie infantile	3,40 %
Gynécologie	2,72 %

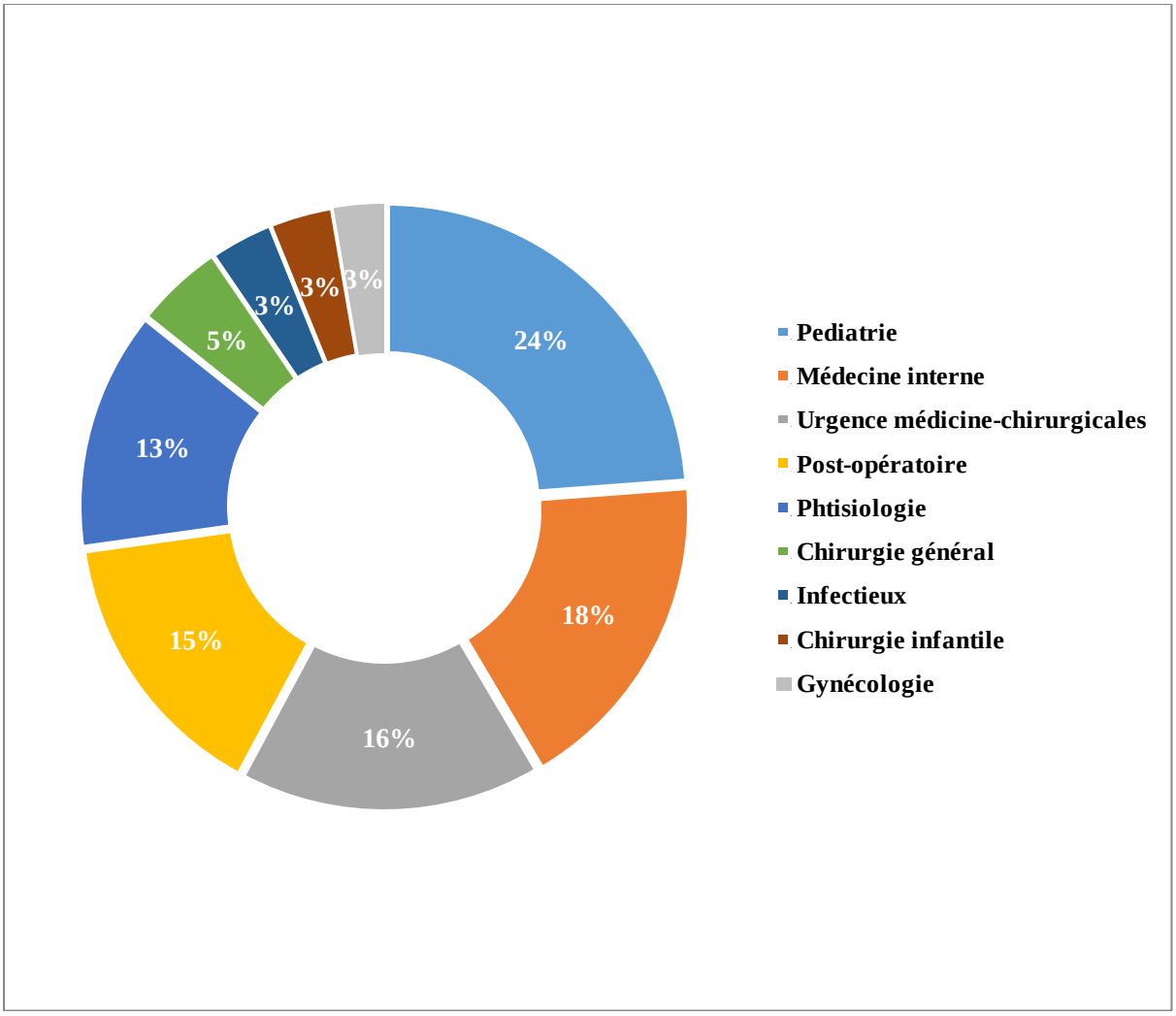


Figure 30: Répartition de demandes d'hémoculture selon le service

I.2 Répartition globale des hémocultures :

Dans notre étude, 17 des 147 hémocultures effectuées se sont avérées positives soit un taux de positivité de 11,56%, 22 ont été considérées contaminées (14,96%) et 108 (73,46%) étaient négatives. (**Figure 31**).

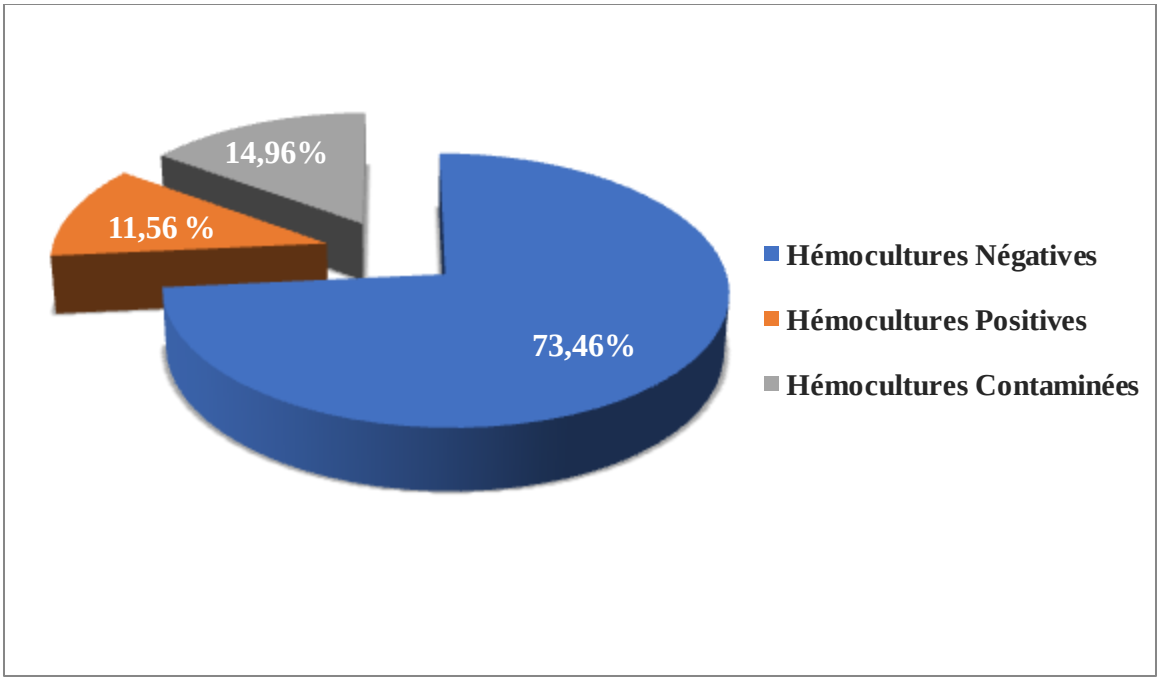


Figure 31: les résultats totaux des hémocultures.

Discussion:

Notre taux de positivité enregistré (11.56%) se rapproche à celui obtenu par **Ebongue et al** à Douala, Cameron, sur une période de six ans (2006-2011), signalant une positivité de 12,%.

Nos résultats sont superposables à ceux de l'étude conduite par **Benjamaa et al**, en Tunisie, entre 1993 et 1998 qui rapportent un taux de positivité de 10,5 %.

En revanche notre taux de positivité est inferieur à celui de **Kitila et al 2018** (32%), **Radha Rani et al 2017** (27.7%), **Elmouali (2012)**, réalisé en Maroc (19.7%).

La variation du taux de prévalence des bactériémies entre les différents pays est due à divers facteurs dont:

* le système d'hémoculture utilisé.

*le volume de l'inoculum sanguin et le nombre des flacons ayant été reçues.

*La variabilité de la population étudiée et les facteurs de risques.

(15%) 22 des hémocultures sont considérés contaminées, ce taux est près de celui rapporté par **Benjemaa et al**, en Tunisie (12%).Par contre d'autres études avaient un taux de

contamination très faible : (8%) d'**Osthof et al (2016).** (6,6%) de **Lochan et al (2017)** en Afrique de sud et (1.63%) **Banik et al (2018).**

La contamination des hémocultures pourrait être réduite en optimisant les conditions de prélèvement et en améliorant les techniques de ponction veineuse.

I.3 Hémocultures positives :

I.3.1 Répartition des hémocultures positives selon le sexe. :

Nous avons constaté une bactériémie chez 10 patients de sexe masculins (58,82 %), et 7 féminins (41,17 %). Un taux qui se concorde avec les résultats rapportés par plusieurs études : **El-Din et al.2010, Lachhab et al. 2017**, **Banik et al 2018**.

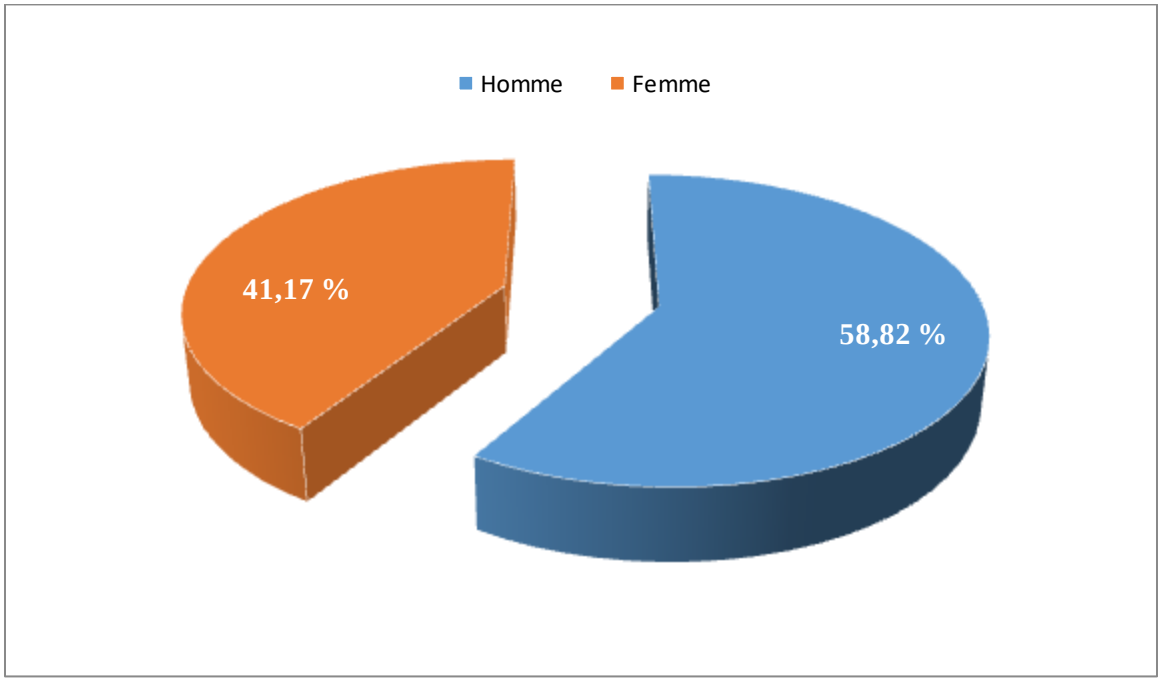


Figure 32: Répartition des résultats positifs selon le sexe

Discussion:

On remarque qu'il y a une prédominance de sexe masculin par rapport au sexe féminin, avec un sexe ratio de 1,42. Ces résultats sont similaires à l'étude menée au CHU de Tizi-Ouzou par **Aiche en 2022** (Algérie), où les hommes représentaient 56% et les femmes 44% de positivé.et se concordent aussi avec les résultats rapportées par **El-Din et al. 2010**, **Lachhab et al 2017**.

En effet les différences observées entre les hommes et les femmes dans la progression et l'issue des infections sont étroitement liées à des variations génétiques, biologiques et comportementales. Ce dimorphisme sexuel englobe plusieurs facteurs, tels que l'exposition à des pathogènes spécifiques, les hormones sexuelles et le développement de diverses réponses immunitaires. De manière générale, il a été constaté que les hommes sont plus susceptibles de développer certaines infections bactériennes que les femmes **(Vázquez-Martínez et al(2018).**

I.3.2 Répartition des demandes et des résultats positifs selon les services

Les taux de bactériémie les plus élevées étaient constatés aux urgences médico-chirurgicales à 20,8% et au service de médecine interne à 19.2%, la réanimation avait 13.5% de positivité. En revanche le service de gynécologie et de chirurgie infantile n'avaient aucune hémoculture positive.

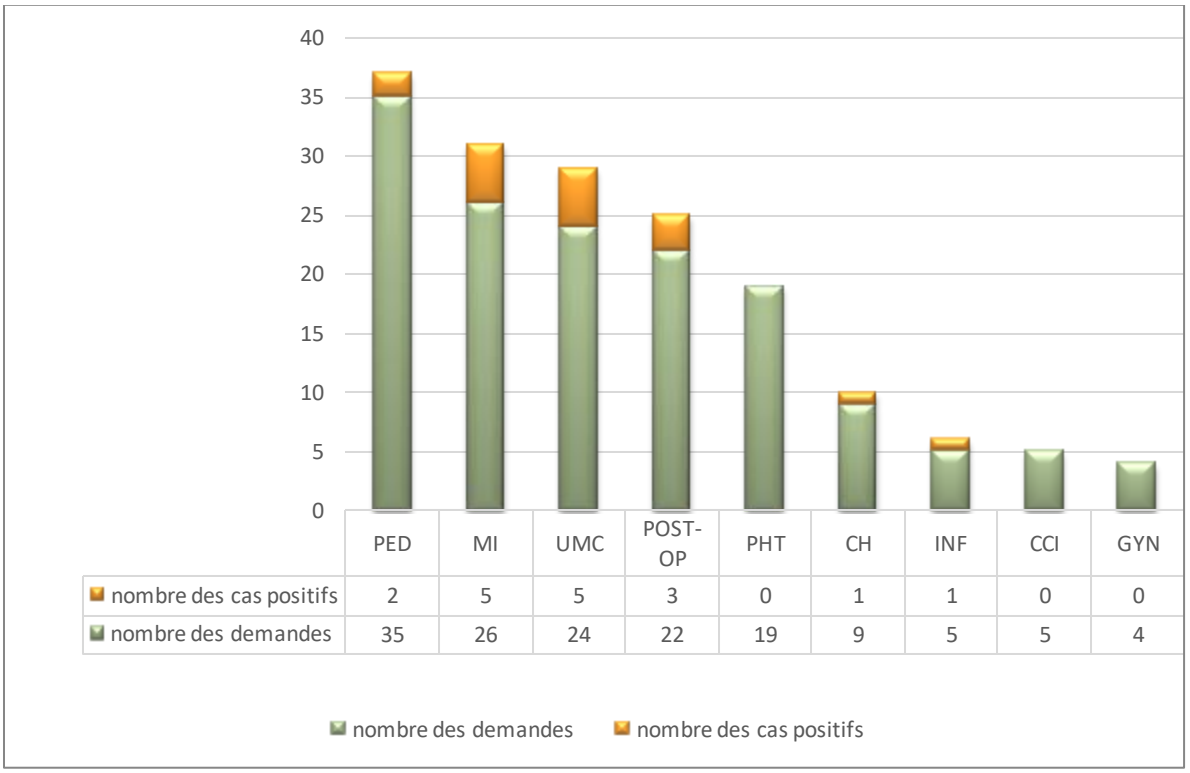


Figure 33: Répartition des demandes et des résultats positifs selon les services

Discussion:

La prédominance des bactériémies dans le service de médecine interne et des urgences médico-chirurgicales avec un taux de (5/17) est lié à la présence de différents catégories de patients , car ils sont composés de plusieurs sous unités : l'hématologie ,l'oncologie, la cardiologie, la gastrologie et la neurologie .Les patients sont exposés aux infections à cause de leur immunodéficience et à la prise des traitements immunosuppresseurs et aux gestes invasifs tels que l'endoscopie , les ponctions des séreuses .

Les patients du service réanimation viennent en deuxième position dans notre étude, ceci peut être lié à plusieurs facteurs, dont l'exposition aux agents pathogènes, l'état du système immunitaire, l'alimentation parentérale, le sondage vésical, le cathétérisme, la ventilation mécanique et l'antibioprophylaxie dans ce service.

Le taux de positivité de la pédiatrie est assez faible (11.7%) par-apport à ceux de **Rakota et al. (2020)** à Madagascar et d'**Ebongue et al(2014)** qui avaient (54%) et (49.7%) respectivement.

Les services hospitaliers présentant les pourcentages les plus faibles d'hémocultures positives sont les services d'infectiologie et de la chirurgie générale avec un taux de 5,88% Ces résultats sont similaires à l étude d '**Aiche (2022).**

Les variations des taux de positivité observés dans les différents services peuvent être attribuées à la fréquence élevée de la contamination, qui nécessite la mise en place de mesures de sensibilisation et de formation du personnel de santé concernant les procédures de prélèvement des hémocultures et les règles d'hygiène dans le milieu hospitalier.

I.3.3 Répartition des demandes d'hémoculture et le taux de positivité selon les mois d'étude :

Les demandes des hémocultures ont intéressé les 12 mois de l'année, mais le plus grand nombre d'isolats a été constaté durant les mois du mai, juin et décembre.

La fréquence des demandes est croissante dans la période hivernale et constante à la période estivale.

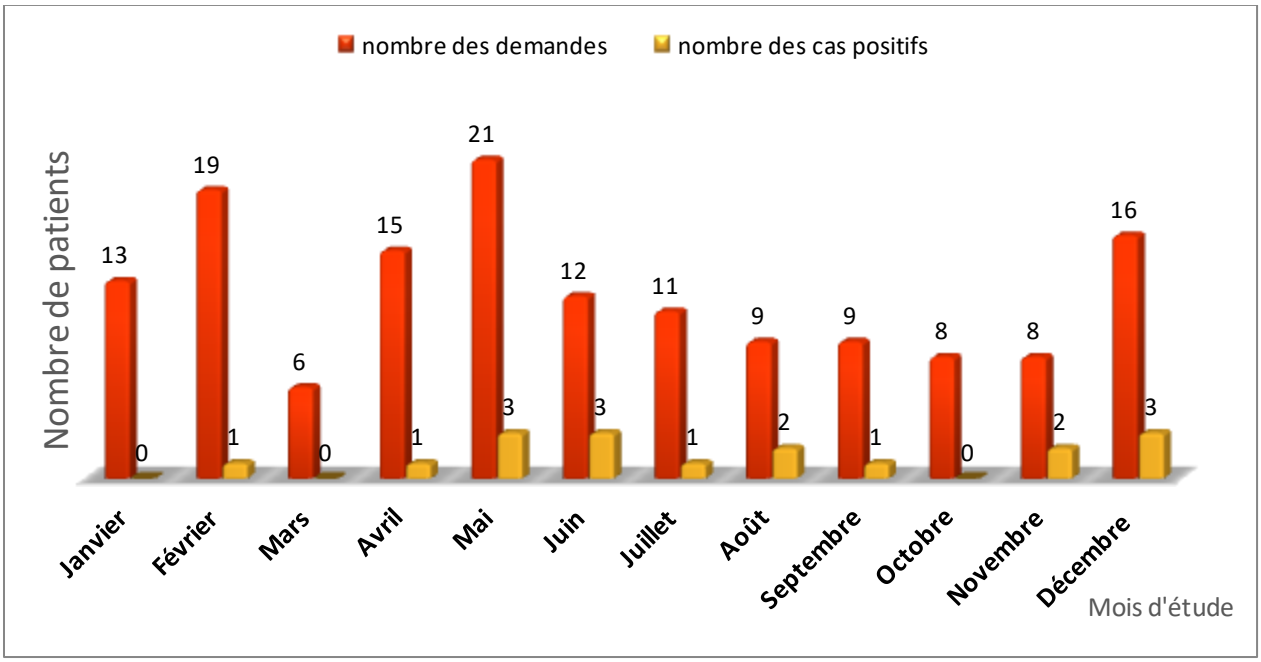


Figure 34: Répartition des demandes d'hémoculture et le taux de positivité selon les mois d'étude

I.3.4 Profil bactériologique des bactériémies :

a) Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram. :

Les résultats illustrés dans la **(Figure 35)** indiquent que 79% des bactéries sont à Gram Négatif alors que 21% sont à Gram Positif.

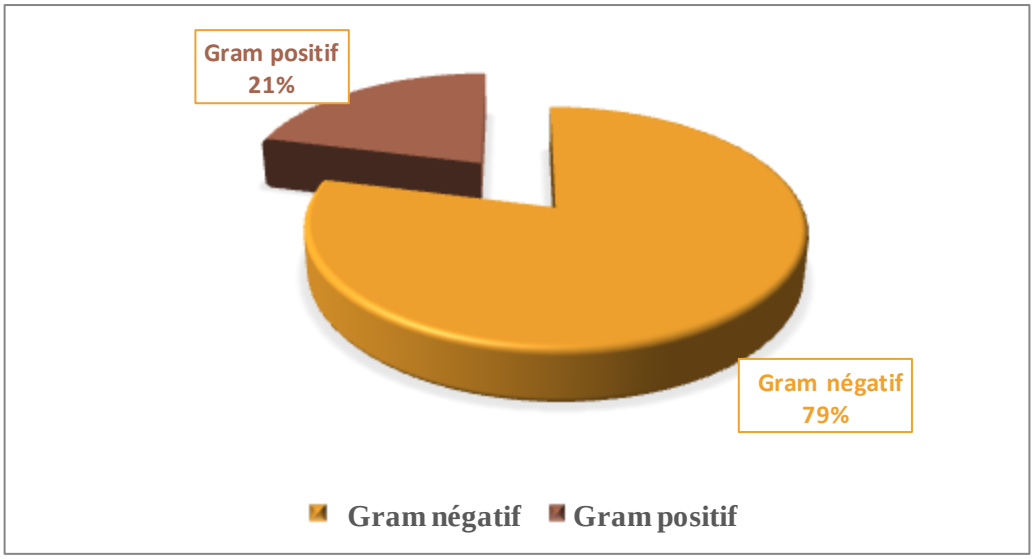


Figure 35: Répartition des isolats bactériens selon la coloration de Gram.

Discussion :

Les résultats obtenus à l'issue des cultures bactériennes montrent une prédominance des bactéries à Gram négatif. En comparant ces résultats avec d'autres études, on trouvera quelle se concordent avec celle ci : Aiche 66% (2022), à Madagascar **Rakotomala et al** 77% (2020) et qu'elles se diffèrent de **Banik et al, 2018**, **Vasudeva et al2016** qui ont rapporté une prédominance des Gram positif.

La différence peut être due à diverse pratiques d'utilisation de dispositifs médicaux, auxquels certaines bactéries à Gram positif sont directement associées, ainsi qu'à l'évolution des soins médicaux. La différence des portes d'entrée détermine aussi la prédominance des agents infectieux.

b) Répartition des bactéries isolées selon les genres bactériens :

Les 17 souches isolées sont divisées par 4 groupes bactériens:

*Les entérobactéries * Les bacilles gram négatif non fermentaires

*Les staphylococcus * Les streptococcus

La répartition des souches isolées selon les groupes bactériens montre que les entérobactéries sont les plus incriminés à 58,8 % (10 souches), suivis des staphylococcus et des BGN non fermentaires avec un taux égal de 17,6 %, puis au 3éme rang les streptococcus avec un pourcentage de 5,8 % (1 souche).

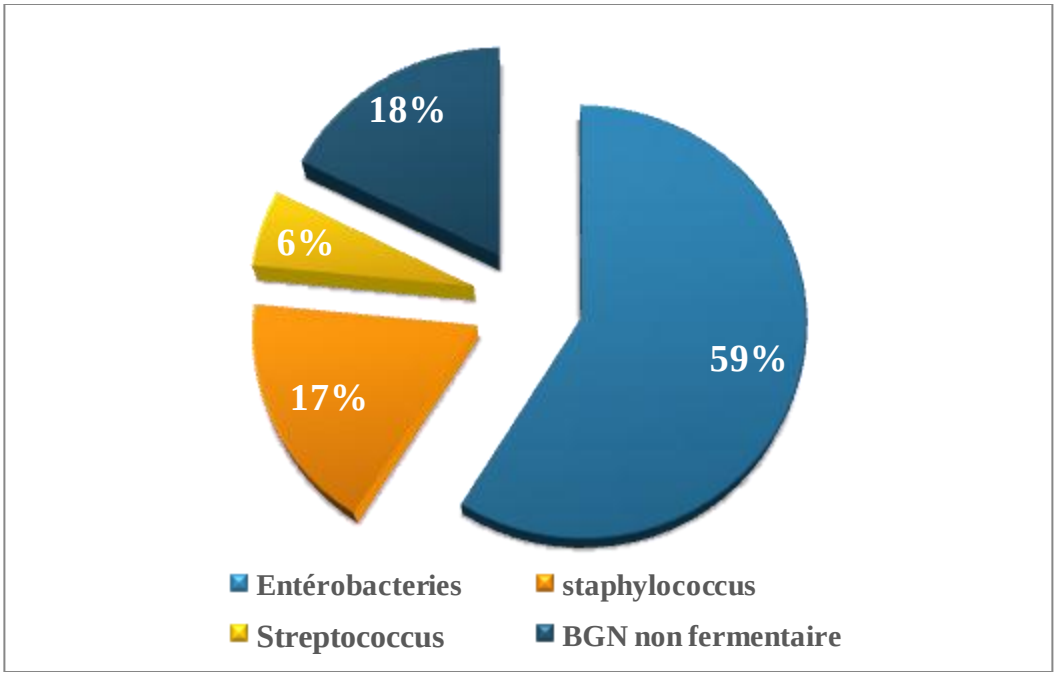


Figure 36 : Répartitions des hémocultures positives selon les genres.

c) Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne :

D'après les résultats de la répartition des différentes espèces isolées **(Tableau XI),** nous avons observé que *Klebsiella pneumoniae* est l'espèce dominante représentant 35,2 % des bactéries. Suivis de *staphylococcus aureus* et *Echerechia.coli* «3 souches» (17,6 %) chacun d' entre eux, une seule souche (5.8%) observée pour *streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* et *Enterobacter cloacae*.

Tableau XI : Répartition des souches bactériennes isolées selon l'espèce.

Famille / Genre		Espèce	Nombre (%)
Enterobacteriaceae	**58,81 %**	*Klebsiella pneumoniae*	**6 (35,29) %**
		E. coli	**3 (17,64 %)**
		Enterobacter cloacae	**1 (5,88 %)**
BGNF	**17,64 %**	*Pseudomonas aeruginosa*	**2 (11,76 %)**
		Acinetobacter baumannii	**1 (5,88 %)**
Staphylococcus	**17,64 %**	*Staphylococcus aureus*	**3 (17,64 %)**
Streptococcus	**5,88 %**	*Streptococcus pneumoniae*	**1 (5,88 %)**

Total	**100 %**	**Total**	**17 (100 %)**

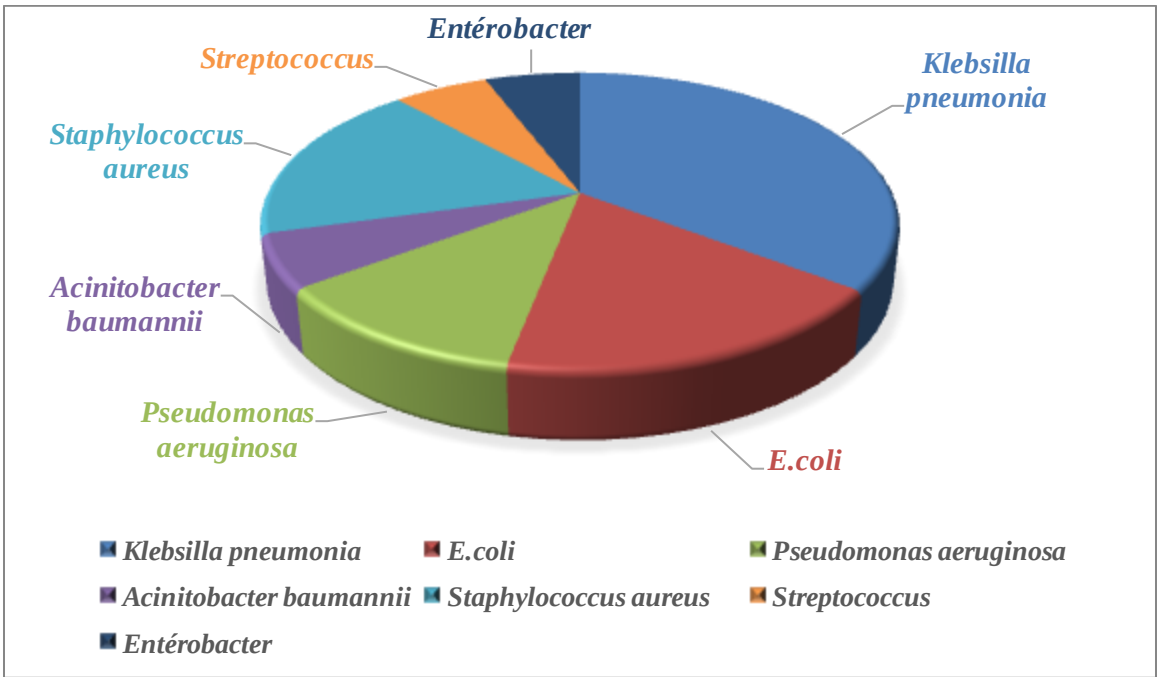


Figure 37: Répartitions des hémocultures positives selon l'espèce.

Discussion :

Le profil bactériologique des bactériémies dans notre étude a été largement prédominé par le groupe des entérobactéries (59%).

Les entérobactéries constituent une très vaste famille qui représente près des trois quarts des isolements d'un laboratoire de bactériologie médicale **(Denis et al. 2007).**

Les études menées par **Alam et al. (2017), Lachhab et al. (2017)**, **Laupland (2013)**, **Ebongue et al 2014**(68%) ont aussi rapporté la prédominance des entérobactéries. Alors que le genre staphylococcus était au chef du fil dans les études de **Maman(2015)** 52% et **Dridi et al. (2021)** par rapport à 17% seulement observé par nous.

Cette différence peut être due à la variation écologique locale et à la pression de sélection des antibiotiques.

Les Bacilles Gram Négatif Non fermentaires représentent 17% de nos isolats d'hémocultures, un taux un peu supérieur à celui signalé par **Mahrane et Tali Mammar, 2018** (13%) et **Christopher et al, 2013**(9.5%).

Les BGNNF sont des bactéries d'origine nosocomiales, leurs taux plus au moins élevé suggère leur transmission manu-porté par le personnel médical et un problème de maitrise de l'environnement hospitalier **(Elouennass et al.2017).**

Le taux d'isolement de *Streptocoques* était moins important par-rapport aux 3 autres groupes (5,88%) mais est égal à celui d'**El- Din et al. (2010),** et supérieur à 2.5% observé par **Larru et al (2016)**.

En effet, ce genre bactérien est plus fréquent dans les bactériémies de l'enfant et des femmes **(Opintan et Newman, 2017)** .Cela peut être justifiées par le faible pourcentage des demandes des hémocultures par le Service de gynécologie (2% de demandes .0% de positivité)

D'après la répartition des hémocultures selon les espèces bactériennes, *Klebsiella pneumoniae* est l'espèce la plus isolée, représentant 35,29% des isolats .Ce taux est superieur à celui constaté par **Ebongue et al, 2014**, par contre un peu faible par rapport à l'étude de **Belhadj Chekir, 2023** (**41%),**

Contrairement à notre étude, À Madagascar, les germes les plus souvent identifiés étaient *Enterobacter cloacae* (32% Vs 5.8%), suivi de *S. aureus* (23% Vs 17%) et *Klebsiella pneumoniae* (18%) **(Rakotomalala et al. 2020). Boukerouaz en 2017** a constaté une prédominance *d'E.coli* (19.1%) suivi par *k. pneumoniae* (6.1%).

Les patients hospitalisés en réanimation et en oncologie sont immunodéprimés, souvent mis sous antibiothérapie, et fréquemment sujets à des opérations invasives, des facteurs de risque à la bactériémie par *Klebsiella pneumoniae*.

Parmi les BGNNF, le *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce dominante, avec un taux de (11,73%), similaire à une étude en inde (11.49%) 108.

I.4 Résultats de l' antibiogramme :

Les résultats de l'antibiogramme de différentes espèces identifiées ont été exprimés par la lecture de diamètre d'inhibition et la comparaison aux valeurs critiques des diamètres d'inhibition de chaque espèce, référencées dans la 7ème édition de la standardisation des antibiogrammes à l'échelle nationale.

I.4.1 Profil de résistance des entérobactéries :

L'étude de l'activité antibactérienne in vitro chez les entérobactéries a permis de révéler une variabilité du comportement vis-à-vis les 12 antibiotiques testés. **(Figure 38).**

Au total, les taux de résistance les plus élevés ont été enregistrés envers les bêta-lactamines surtout l'Ampicilline (90%), Amoxicilline+acide clavulanique (80%).La Fosfomycine à (75%).Une résistance modérée a été observée pour Cotrimoxazole (50%), Ciprofloxacine (40%).

Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés par **Derabli (2016)** et **Berrezoukk et al. (2008)** qui ont montré que les entérobactéries présentent des taux élevés de résistance contre l'amoxicilline (94,5%).

Par contre la resistance aux aminosides reste relativement faible (10% AK) (25% GM) voir nulle à l'Imipénème. Cette sensibilité peut être expliquée par les indications, le mode d'administration et les précautions d'utilisation de ces derniers. (Voie parentérale stricte, nephrotoxicité).

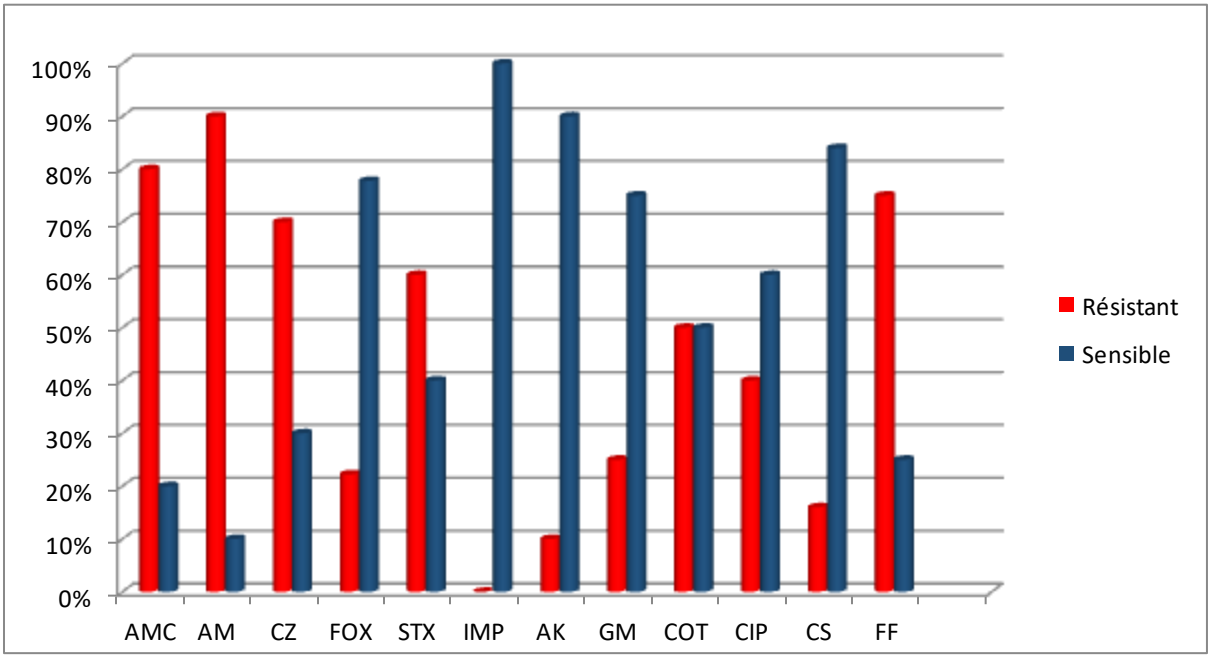


Figure 38: profil de résistance des Entérobactéries.

- ***Klebsiella pneumoniae***

Dans notre étude, le taux de résistance de *Klebsiella pneumoniae* à l'ampicilline était à 100%. Nous avons enregistré une résistance élevée de (67 %) à l'amoxicilline +acide clavulanique et au céfazoline, et une résistance faible à la Ciprofloxacine (20%).

Les aminosides, la colistine et l'imipenème étaient les antibiotiques les plus efficaces avec un taux de sensibilité à 100%.

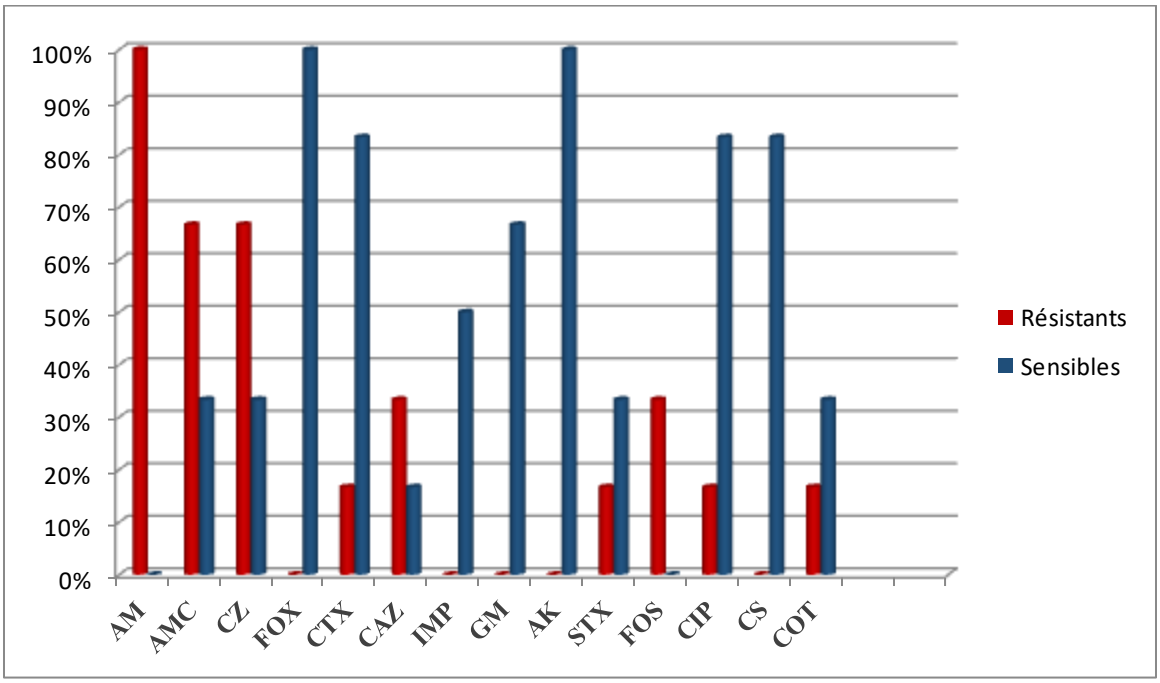


Figure 39: profil des résistances des *Klebsiella pneumoniae*.

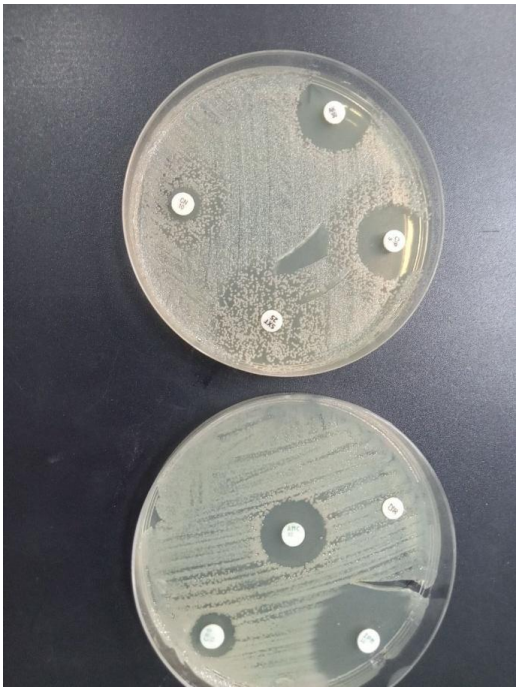


Figure 40 : Résultats d'antibiogramme de *Klebsiella pneumoniae*. **(Photo originale).**

Discussion :

Klebsiella pneumoniae est naturellement résistante aux pénicillines des groupes G et A et à la carbénicilline sous l'effet d'une pénicillinase chromosomique appelée SHV1, cette résistance bactérienne aux β-lactamines (pénicillines telle que l'amoxicilline, l'ampicilline et les céphalosporines tell que céfazoline) est due principalement à la production d'enzymes (β-lactamases) **(Arlet et Philippon, 2003)**, qui sont des enzymes d'inactivation hydrolysant l'anneau β-lactame **(Rodriguez et al., 2006)**. Elle est sensible aux autres antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif **(Joly et Reynaud, 2002)**.

La résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux quinolones (Ciprofloxacine) est due à une protéine codée par le gène de résistance (Qnr A) qui protège le complexe ADN-gyrase de l'inhibition par les quinolones **(Meradi et al. 2009).**

- ***Escherichia coli***

Une sensibilité totale des isolats d'*E.coli* a été observée pour L'Amikacine et l'imipenème. Par contre une résistance élevée de 67% vis-à-vis l ' Amoxicilline, la Céfazolline et la Ciprofloxacine, moyenne pour le Cotrimoxazole (50%).

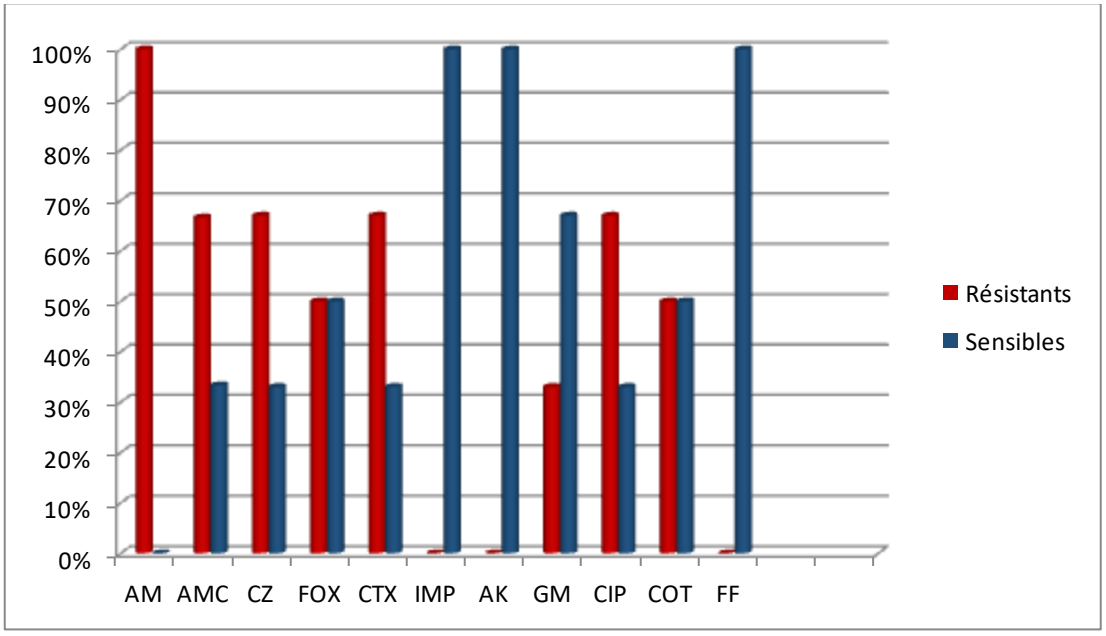


Figure 41: Profil de résistance des *E. Coli.*

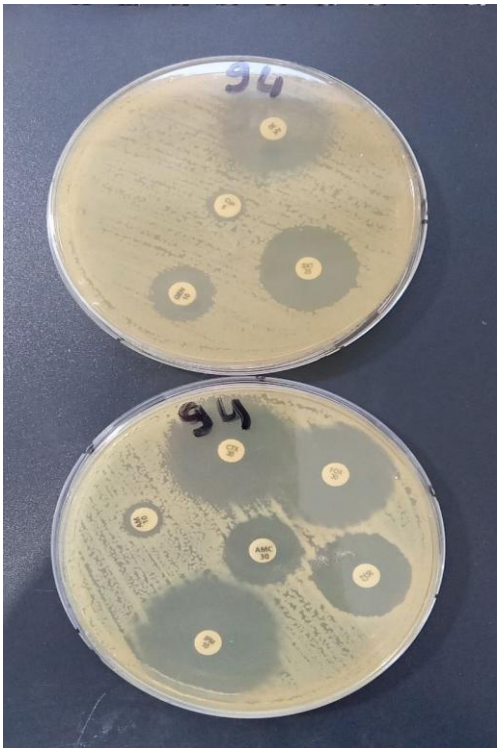


Figure 42: Résultats d'antibiogramme d'*E.coli* **(Photo originale).**

Discussion :

Le taux de résistance *d'Escherichia coli* aux antibiotiques a connu une croissance inquiétante au cours des dernières années. Il est établi que la résistance *d'E.coli* aux antibiotiques est corrélée à l'utilisation abusive, ambulatoire et non contrôlée de ces derniers qui contribue à la large diffusion de la résistance **(Berrazeg, 2013).**

Ces résultats sont similaires à ceux d'**Elmouali** (**2012**) qui a trouvé une résistance à l'amoxicilline (77.7%) à la triméthoprime sulfaméthoxazole (43.48), avec une sensibilité vis-à-vis l'imipenème et la gentamycine**.**

- ***Enterobacter Cloacae* :**

Nous avons remarqué une résistance à la plupart des antibiotiques testées : Beta-lactamines, aminosides et quinolones sauf la Colistine. Une sensibilité a été observée contre la Colistine.

Tableau XII : Profil de résistance d'*Enterobacter Cloacae*.

Famille	Antibiotiques	Résistant	Sensible
Béta-lactamine	Ampicilline **AM**	✓	
	Amox+ AC clavulanique **AMC**	✓	
	Céfazolline **CZ**	✓	
	Céfoxitine **FOX**	✓	
Aminosides	Amikacine **AK**	✓	
	Gentamycine **GM**	✓	
Sulfamides+ diaminopyrimidines	Cotrimoxazole **COT**	✓	
Quinolones	Ciprofloxacine **CIP**	✓	
Divers	Fosfomycine **FF**	✓	
	Colistine **CS**		✓

I.4.2 Profil de résistance des BGNNF :

L'analyse du profil de résistance des BGN non fermentaires nous a montré des taux de resistance de 33% à la ticarcilline, la pipéracilline, l'aztréonam la Ciprofloxacine et la lévofloxacine, alors que l'amikacine conserve une excellente activité.

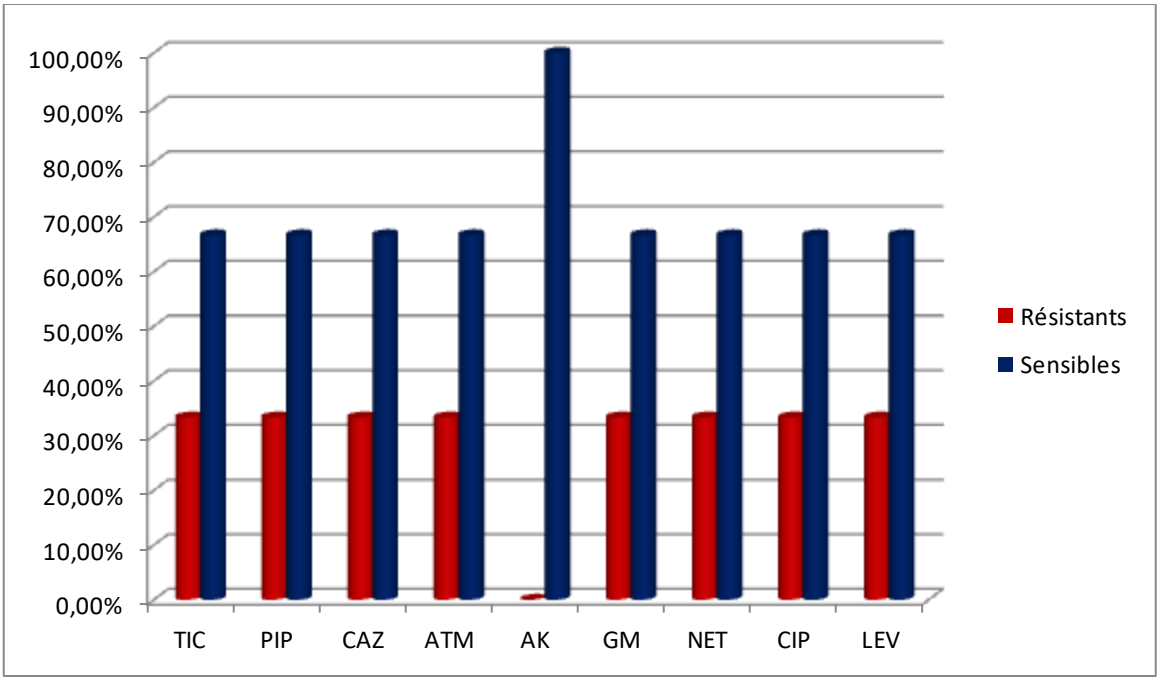


Figure 43 : Profil de résistance des BGNNF.

Discussion :

Les bacilles à Gram négatif non fermentaires sont naturellement résistants à de nombreux antibiotiques et peuvent acquérir de nombreux mécanismes de résistance causant de réelles difficultés thérapeutiques **(Boukhatem, 2013).**

Durant cette étude, le pourcentage de résistance des BNF aux pipéracilline a été de 33,33%, notre taux est supérieur à celui rapporté dans l'étude d'**Ebongue et al** qui est de 28.5%.

La resistance de ces souches à la gentamycine est également moyenne, ce taux se retrouve dans le champ des résultats obtenus par **Benmasbah (2019),** (35%-75%).

- ***Pseudomonas aeruginosa***

Les deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont montré une sensibilité totale aux antibiotiques testés (Ticarcilline, Pipéracilline, Céftazidime, Aztréonam, Gentamycine, Amikacine, Ciprofloxacine, Lévofloxacine, Nitelomycine, Colistine, Imipénème).

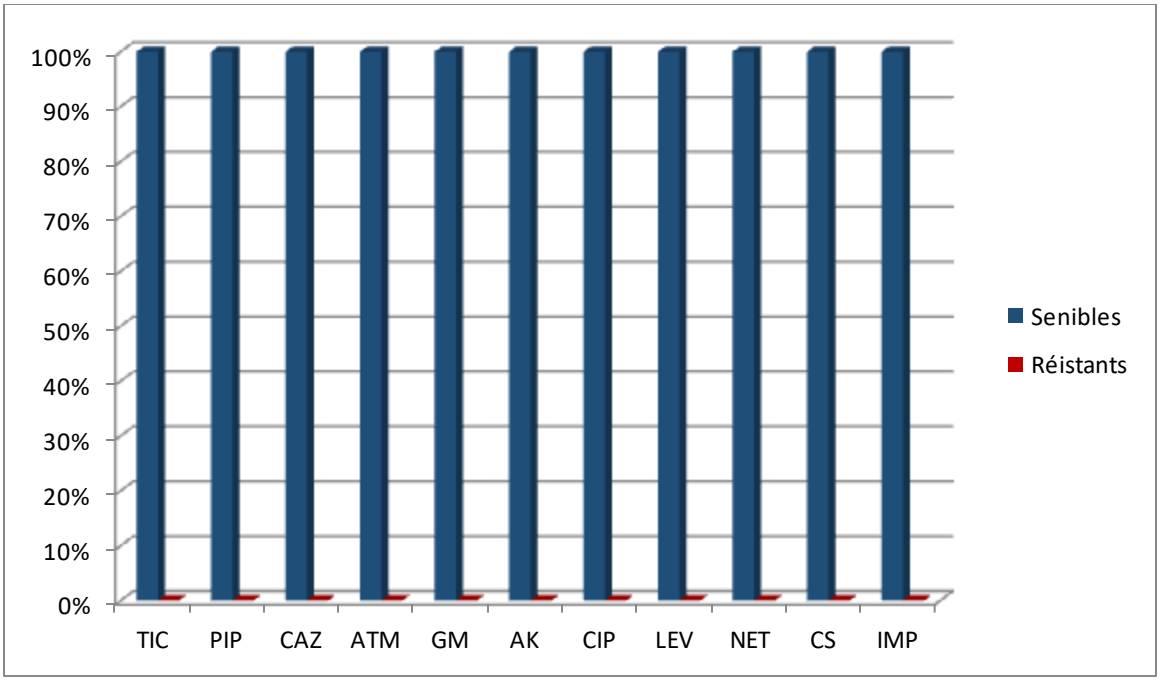


Figure 44: Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Discussion :

Ces résultats sont différents de ceux de **Boukerouaz et Benmehidi** (**2017**) qui rapportent une résistance moyenne à la gentamicine (50%), la Ciprofloxacine (53%) et à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole **(45%)**, et de faible résistance à l'imipenème (20%), la colistine (22%).

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont intrinsèquement résistantes à l'ampicilline **(Weiss, 2002).** Elles présentent une résistance naturelle élevée à de nombreuses β-lactamines due à l'association d'une imperméabilité naturelle de la membrane et d'une Céphalosporinase naturelle **(Strateva et Yordnanov, 2009)**. *P.aeruginosa* est naturellement sensible à L'imipenème.

- ***Acinetobacter baumannii***

La souche isolée *d'Acinetobacter baumannii* présente une résistance importante aux Béta-lactamine et à la plupart des antibiotiques testés.

.

Tableau XIII : Profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii.*

Famille	Antibiotiques	Résistant	Sensible
Béta-lactamine	Ticarcilline **TIC**	✓	
	Pipéracilline **PIP**	✓	
	Aztréonam **ATM**	✓	
	Céftazidime **CAZ**	✓	
Aminosides	Amikacine **AK**		✓
	Gentamycine **GM**	✓	
	Nitelomycine **NET**	✓	
Quinolones	Lévofloxacine **LEV**	✓	
	Ciprofloxacine **CIP**	✓	

I.4.3 Profil de résistance des Streptococcus :

- ***Streptococcus Pneumoniae.***

La plupart des antibiotiques gardent une excellente activité sur la souche isolée de *Streptococcus Pneumoniae,* une résistance à la clindamycine et à la tétracycline a été notée.

Cette sensibilité aux quinolones, à la rifampicine et à la vancomycine se concordent avec les résultats obtenus par **Vasudeva et al.2016** et par **Banik et al.2018**.

La résistance aux macrolides diverge des données de plusieurs études dont **Sallam et al.2019** (67% de sensibilité à la clindamycine) et **Akova et al. 2016** (sensibilité à 80%).

Tableau XIV : Profil de résistance de *Streptococcus pneumoniae*.

Famille	Antibiotiques	Résistant	Sensible
Béta-lactamine	Ampicilline **AM**		✓
	Céfotaxime **CTX**		✓
	Pénicilline **P**		✓
Macrolides	Clindamycine **CD**	✓	
	Erythromycine **E**		✓
Quinolones	Lévofloxacine **LEV**		✓
	Ofloxacine **OFX**		✓
Divers	Tétracycline **TE**	✓	
	Chloramphénicol **C**		✓
	Rifamycine **RA**		✓
	Vancomycine **VA**		✓

I.4.4 Profil de résistance des Staphylococcus :

- ***Staphylococcus aureus***

Les trois souches de *Staphylococcus aureus* isolées ont montré une résistance totale vis-à-vis de la pénicilline. Pour l'Oxacilline la résistance des souches ne dépassent pas les (35%). Cependant, on note que 100% de ces souches sont sensibles aux Céfoxitine, Gentamicine, Amikacine et Lévofloxacine. Aucune souche n'a présenté une résistance à la Vancomycine et Chloramphénicol.

Tableau XV: Profile de résistance des *Staphylococcus aureus*.

Souche /ATB	STAPH 1	STAPH 2	STAPH 3
P	R	R	R
E	R	R	S
FOX	S	S	S
AK	S	S	S
GM	S	S	S
COT	S	/	/
LEV	S	S	S
OFX	/	S	S
TE	S	S	S
FA	/	S	S
PT	S	S	S
VA	S	S	S
CH	S	S	S
CD	/	S	S
SXT	/	S	S
RA	S	S	/

Discussion :

Ces résultats sont similaires à ceux de **Elmouali 2012** en ce qui concerne la resistance a l'oxacilline qui était a 31.8%, et la sensibilité vis à vis la vancomycine , en parallèle se différent d'eux à cause de l'activité de certains antibiotiques où une note une résistance à la gentamycine et au Ciprofloxacine ce qui n'est pas le cas dans notre étude .

La résistantes totale à la pénicilline est similaire à l'étude de **Yahav et al (2016)** et **Vasudeva et al (2016).**

La résistance aux antibiotique chez le les *staphylococcus* est un problème en constante aggravation, divers mécanismes augmentent le taux de résistance :

*Modification de la cible de l'antibiotique Inactivation enzymatique (pénicillinase .phosphorylation des macrolides).

*L'hyper expression des pompes d'efflux (NorA.NorB.NorC) par les fluoroquinolones.
*Modification de la perméabilité aux molécules d'antibiotique **(Vestergaard et al2019).**

Conclusion

La détection de bactéries viables dans le sang compromet le fonctionnement optimal des organes. En absence d'un traitement antibactérien adéquat, ces infections entraînent une morbidité et une mortalité considérables, particulièrement dans les établissements de santé. Le diagnostic repose sur l'isolement rapide et précis des bactéries responsables à partir des hémocultures.

Les résultats de l'étude retrospective des hemocultures au niveau du laboratoire de l'EPH de MEDEA révèle que :

*les hémocultures positives représentent 11,56% de l'ensemble des hémocultures, confirment le diagnostique de bactériémie chez 17 patients .Qui sont majoritairement du sexe masculin , et hospitalisés au nivaux du pavillon des urgence médico-chirurgicales ou en médecine interne 29,41%.

*L'étude bactériologique (étiologique) des hémocultures a permis d'identifier 17 souches bactériennes regroupés en 4 groupes ,dont 79% etaient de Gram négatif.

**Klebsiella pneumoniae* est l'espece dominante avec un taux de (35,29%), suivie par *Escherichia coli* (17,64%), *Staphylococcus aureus* (17,64%), et *Pseudomonas aeruginosa* (11,76%).

Une antibiothérapie adaptée doit etre mis en place ,dés que le diagnostic est etabli .Sur le plan de sensibilitée aux antibiotiques :

*Des taux elevés de resistance observés chez les entérobactéries envers l'ampicilline , amoxicilline +acide clavulanique et la fosfomycine .

*L'Amikacine conserve un exellente activitée sur les bacille a gram negatif non fermentaires.

*Les 3 souches de staphylococcus aureus sont resistants à la penicilline, alors que les pneumocoques sont sensibles aux beta-lactamines

Par ailleurs, il est à noter que, la prévention reste le seul moyen pour minimiser le risque des bactériemies . Cette prévention doit se baser sur :

♦la mise en œuvre d'un système de surveillance épidémiologique;

♦l'établissement de recommandations écrites précisant les règles d'hygiène et d'asepsie;

♦la formation du personnel médical et paramédical et sa motivation qui passe essentiellement par son implication dans les différentes mesures à prendre;

- La définition de bonnes règles de pratique clinique afin de rationaliser l'usage des antibiotiques.

Enfin, les résultats obtenus nous amène à conclure que :

- La présence de bactéries viables dans le sang (bactériémie) constitue aujourd'hui une préoccupation majeure dans la pratique hospitalière;
- Le diagnostic repose sur la réalisation des hémocultures qui doit être précis et rapide;
- Il est impératif de déterminer et de connaitre les profils de sensibilité vis-à-vis des agents anti-infectieux.
-L'éducation sanitaire basée sur l'hygiène individuelle et collective, le traitement précoce des portes d'entée potentielles s'imposent pour diminuer l'incidence des septicémies acquises en communauté.

Références Bibliographiques

« A »

1. (https://wiki.fablab.sorbonne-universite.fr/) Fiche Technique: Les Galeries API en Microbiologie.
2. **A. Philippon** (Faculté de Médecine René Descartes, Université PARIS V). résistance bactérienne [Internet]. 2010. Disponible sur: http://www.microbesedu.org/etudiant/antibio3.htmlgy.36:86-101.

3. **A.CONTREPOIS. 1995**. Naissance de l'hémoculture. Rev Prat; 45 : 942-7.
4. Aiche. (2022). Bactériémies au CHU de Tizi-Ouzou: Aspect bactériologique et résistance aux antibiotiques. Diplôme d'état de docteur en pharmacie.
5. **Akbi, S.,** Ahmed, N., Aggoune, N., & Zerouki, A. (2021). Antibiogramme d'urgence au cours des bactériémies: évaluation des résultats de sensibilité aux antibiotiques. *Algerian Journal of Health Sciences*, *3*(4), 31-40.
6. **Akova, M. (2016).** Epidemiology of antimicrobial resistance in bloodstream infections. *Virulence*, *7*(3), 252-266.
7. **Alam, M**. M., Nishat, S. A., Wahab, A. B. R. A. R., & Halim, A. B. D. U. L. (2017). Antibiotic resistance pattern of bloodstream bacterial isolates from enteric fever patients: a prospective cross-sectional study. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research*.
8. **Alves, B., & Jouffroy, R. (2019).** Enquête nationale sur la pratique de prélèvement des hémocultures chez l'adulte par les infirmières diplômées d'état. Revue Francophone Internationale de Recherche Infirmière, 5(2): e107-e113.
9. **Avril JL, Donnio PY.** La surveillance des infections nosocomiales. La Revue du Praticien, 1989, 39(16):1381-1385.
10. **Avril, J.** L., Donnio, P. Y., Perrin, M., & Boiron, P. (1999). L'hémoculture: un examen en apparence simple. Médecine et Maladies Infectieuses, 29(2), 77– 86. https://doi.org/10.1016/s0399-077x(99)80014-6.

« B »

11. **Bakalar N. Penicillin, 1940.** The New York Times [Internet]. 23 févr 2009 ;
12. **Banik, A**., Bhat, S. H., Kumar, A., Palit, A., & Snehaa, K. (2018). Bloodstream infections and trends of antimicrobial sensitivity patterns at Port Blair. *Journal of laboratory physicians*, *10*(03), 332-337.
13. **Barenfanger J**, Graham DR, Kolluri L, Sangwan G, Lawhorn J, Drake CA, Verhulst SJ, Peterson R, Moja LB, Ertmoed MM, Moja AB, Shevlin DW, Vautrain R, Callahan CD. Decreased Mortality Associated With Prompt Gram Staining of Blood Cultures, Am J Clin Pathol 2008;130:870-876
14. **Bates DW.** Cook F., Goldman L., Lee T. (1990). Predicting bacteremia in hospitalized patients. A prospective validated model. Ann Intern Med; 113:495 500.
15. **Belhadj, K., & Chekir, A. (2023**). *Isolement et Identification des bactéries à partir des Hémocultures au CHU Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

16. **Belouahad.L** Djebellah A. Hammidi D. Djeloul A/K EPH Oued Zenati - Mars 2025https://microbiologie-clinique.com/examenmicroscopique.html.

17. Benjemaa Z., Mahjoubi F., Ben Haj H'mida Y., Hammami N., Ben Ayed M., Hammami A. Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax (1993-1998). Pathol Biol 2004 ; 52 : 82-8.

18. Benmesbah K. (2019). Profil bactériologiques et sensibilité aux antibiotiques des bactériémies. Mémoire de Master en microbiologie. Algérie (Blida): laboratoire de biotechnologie, environnement et santé.

19. Benzriouil, B. (2010). Hémoculture: Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques à l'hôpital Ibn Sina de Rabat.

20. Berkowitz D.M., Martin G.S. (2007). Sepsis and sex: can we look beyond our hormones? Chest 132:725–1727.

21. Bernard G.R., Wheeler A.P., Russell J.A., Schein R., Summer W. R., Steinberg K.P., Fulkerson W.J., Wright P.E., Christman B.W., Dupont W.D., Higgins S.B., Swindell B.B. (1997).The effects of ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. The Ibuprofen in Sepsis Study Group. N. Engl. J. Med. 336: 912–918.

22. Berrazeg, M. (2013). *Développement des nouveaux outils de surveillance de l'émergence des bactéries à Gram négatif multi résistantes* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat en. Université Abou Bekr Belkaid–Tlemcen, Algérie, 179).

23. Berrezzouk, M. (2008). *Hémoculture: profil bactériologique de sensibilité aux antibiotiques à propos de 539 prélèvements collectés au laboratoire de l'hôpital Cheikh Zaied à Rabat* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat en pharmacie, Faculté de Médecine et de pharmacie, Université Mohammed V, Rabat).

24. Bezoen et al,(1999), Usages vétérinaire des antibiotiques résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine P 16 .

25. Biotechlerncenter.interpharma.

26. Boukerouaz, A., & Benmehidi, R. (2017). Profil bactériologique des bactériémies à bacilles Gram négatif. *Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie*, *112*.

27. Boukhatem, L. (2013). Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen. *Universite Aboubekr Belkaid Tlemcen, mémoire de master*.

28. Bouvet P.J.M., Grimont P.A.D. (1986).Taxonomy of the Genus Acinetobacter with the Recognition of Acinetobacter baumannii sp. nov., Acinetobacter haemolyticus sp. Nov., Acinetobacter johnsonii sp. nov., and Acinetobacter junii sp. Nov. And Emended Descriptions of Acinetobacter calcoaceticus and Acinetobacter lwoffii. 36 (2):228–240.

29. Brienne P., Gayton E., Mounier M. 2014. Le mode d'action des antibiotiques. [En ligne].http://www.antibiotique.eu/le-mode-daction.html**.**

« C »

30. Cattoir V, Merabet L, Djibo N, Rioux C, Legrand P, Girou E, Lesprit P. 2011. Clinical impact of a real-time PCR assay for rapid identification of Staphylococcus aureus and determination of methicillin resistance from positive blood cultures. Clin Microbiol Infect 17:425–431.

CClinEst,CClinOuest,CClinParis-Nord,CClinSud-Est,CClinSud-Ouest,InVS
http://www.invs.sante.fr/raisin/

31. Cédric Paquin. Antibiogramme direct sur flacon d'hémoculture positif : mise au point et intérêt en thérapeutique. Sciences pharmaceutiques. 2016. ffdumas-01495351f

32. CH de NIORT - Laboratoire de Biologie Médicale , Version : 08 ,Page 3.

33. Christian Brun-Buisson, Dossier d'information [Semaine mondiale pour le bon usage des antibiotiques (12-18 novembre 2018)]

34. Christopher, A., Mshana, S. E., Kidenya, B. R., Hokororo, A., & Morona, D. (2013). Bacteremia and resistant gram-negative pathogens among under-fives in Tanzania. *Italian journal of pediatrics*, *39*, 1-8.*

35. Comité de l'**A**ntibiogramme de la **S**ociété **F**rançaise de **M**icrobiologie.2007, 2010 et 2011

36. Comité technique national des infections nosocomiales. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, 1996. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, 1997, 36:161-163.

37. Cornaglia G., et al. European Manual of Microbiology. ESCMID-SFM 2012.

« D »

38. D.YALA et al. (2001). CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES .Médecine du Maghreb, n° 91

39. Denis F., Ploy M., Martin C., Cattoir V. (2016).bactériologie médicale : technique usuelles. Paris : Elsevier Masson.640p.

40. Derabli B., Tiaounine M. (2016). Profil épidémiologique des septicémies nosocomiales au CHU et à l'HMC 2014-2016. Mémoire de master en Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine.

Disponible sur: http://www.nytimes.com/2009/02/24/health/24firs.html79

41. Dr. Benseghir hassane (2021). Cours technique d'analyse des produits pathologiques. Partie III : Tests biochimique utilisés dans l'identification des bactéries.

« E »

42. Ebongue, C. O., Mefo'o, J. N., Dongho, E. N., Moukoko, E. E., Adiogo, D., & Beyihabd, G. (2014). Profil Bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des isolats d'hémoculture (2006–2011) à Douala, Cameroun. *Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie*, 27-39.

43. El-Din, A. Z. A. K., Mohamed, A. M., Walaa, H. G., & Ghada, S. L. (2010). Prevalence of microbial pathogens in blood cultures: an etiological and histopathological study. *Journal of Taibah University for Science*, *3*, 23-32.

44. Elmouali, A. (2012). Hémoculture: profil bactériologique et antibiorésistance à l'hôpital Ibn Sina de Rabat.

« F »

45. FAUCHERE JL, AVRIL JL, 2002. Bactériologie générale et médicale Ellipses Edition marketing S.A : 236-8.

46. Fauchère J. L. (1997). Bactério fiches des techniques en bactériologie clinique. Paris : Ellipses. 175 P.

47. Fauchère J.L., Avril J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Paris : Ellipses. 365p. Flahaut S., Boutibonnes P., Auffray Y. (1997). Les entérocoques dans l'environnement proche de l'homme. Revue canadienne de microbiologie, 43(8):699-708.

48. FLANDROIS JP, 1997. Bactériologie Médicale. Edition Presses Universitaires de Lyon : 107-99.

49. François D., Marie C. (2007). Ploy Bactériologie médicale: techniques usuelles : 111,112, 113,115.

« G »

50. GASTINEL P, 1954. Précis de bactériologie médicale. Paris, Masson : 1244.

51. Ghouli A, Senoussi A. Activité biologique des diazépines synthétisés du phosphore florique [Internet] [mémoire]. Université Kasdi Merbah Ouargla; 2015

52. GOUARI Soufyane, Mécanismes d'action et de Résistance aux Antibiotiques .Mémoire de Master, Université MOHAMED BOUDIAF - M'SILA, 2021

53. Guardabassi L., Courvalin P. 2006. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin 1-18 p.

« H »

54. https://microbiologiemedicale.fr/bacteriemie-septicemie

55. https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques

56. https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/dossier-information_antibioresistance_def.pdf

57. https://sante.gouv.fr/prevention-en-sante/les-antibiotiques-des-medicaments-essentiels-a-preserver/des-antibiotiques-a-l-antibioresistance/article/l-antibioresistance-pourquoi-est-ce-si-grave

58. https://sofia.medicalistes.fr/spip/IMG/pdf/classification_et_mode_d_action_des_antibiotiques.pdf

59. https://www.biomerieux.fr/sites/subsidiary_fr/files/livret_education_hemocultures_2019.pdf

60. https://www.centreleonberard.fr/sites/default/files/2023-04/prelevements_d_hemocultures.pdf

61. https://www.esst-inrs.fr/3rb/ressources/ed999.pdf.

« I »

62. Institut Pasteur https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/resistance-aux-antibiotiques.

« J »

63. Jepsen OB. Surveillance of hospital infection with limited re-sources. Clinical Infectious Diseases, 1996, 2:211-223.

64. Joly B et Reynaud A. (2002). Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic, 79-80-83.

« K »

65. Kellogg J.A., Manzella J.P., Bankert D.A. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. J Clin Microbiol. 2000;38:2181-2185

66. Kirm T.J., Weinstein M.P. Update on blood cultures: how to obtain, process, report , and interpret. Clin Microbiol Infect. 2013;19 (6) :513–520).

67. Kitila, KT., Taddese, BD., Hailu, TK., Sori, LM., Geleto, SE., Mengistu, GZ., Tesfaw, DD., Gebeyehu, CS., Balcha, HM., Desalegn, DM., Bika, AT. (2018). Assessment of Bacterial Profile and Antimicrobial Resistance Pattern of Bacterial Isolates from Blood Culture in Addis Ababa Regional Laboratory, Addis Ababa, Ethiopia. *Clinical Microbiology: Open Access*. **7**(2): 312.

68. Ki-Zerbo, G. A., Thioub, B., Diop, B. M., Badiane, S., Coll-Seck, A. M., & Samb, A. (1996). Étude Des Hémocultures Positives Au Chu De Fann Dakar : Bilan De Trois Années Du Laboratoire De Bactériologie. 43(6).

69. Köser CU, Holden MTG, Ellington MJ, Cartwright EJP, Brown NM, Ogilvy-Stuart AL, Hsu LY, Chewapreecha C, Croucher NJ, Harris SR, Sanders M, Enright MC, Dougan G, Bentley SD, Parkhill J, Fraser LJ, Betley JR, Schulz-Trieglaff OB, Smith GP, Peacock SJ. 2012. Rapid Whole-Genome Sequencing for Investigation of a Neonatal MRSA Outbreak. N Engl J Med 366:2267–2275.

« L »

70. Lachhab, Z., Frikh, M., Maleb, A., Kasouati, J., Doghmi, N., Ben Lahlou, Y., ... & Elouennass, M. (2017). Bacteraemia in intensive care unit: clinical, bacteriological, and prognostic prospective study. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, *2017*(1), 4082938.

71. Larru, B., Gong, W., Vendetti, N., Sullivan, K. V., Localio, R., Zaoutis, T. E., & Gerber, J. S. (2016). Bloodstream infections in hospitalized children: epidemiology and antimicrobial susceptibilities. *The Pediatric infectious disease journal*, *35*(5), 507-510.

72. Laupland, K. B. (2013). Incidence of bloodstream infection: a review of population-based studies. *Clinical microbiology and infection*, *19*(6), 492-500.

73. Laupland, K. B., et al. (2013). ** *Epidemiology of severe bloodstream infections: A population-based assessment.* Critical Care Medicine, 41(1), 1-9.

74. Lavigne J-P, Riegel P. 2015. [Mass spectrometry in bacteriology]. Ann Biol Clin (Paris) 73:113–125.

75. Lee A., Weinstein MP. Mirrett S., Reller LB. Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures Are Needed? J Clin Microbiol 2007;45:3546-3548

76. Lochan, H., Pillay, V., Bamford, C., Nuttall, J., & Eley, B. (2017). Bloodstream infections at a tertiary level paediatric hospital in South Africa. *BMC infectious diseases*, *17*, 1-9.

77. LODA FA, COLLIER, GLEREN WP, STRANGER K and all, 1975. Occurrence of diplodocus pneumonie in the upper respiratory tract of children. J pediatr : 1087-93.

« M »

78. M.GOULON ,1985. Etat de choc et réanimation cardio-vasculaire. Abrégés de réanimation Médicale, Masson, Paris, : 194-204.

79. M47-A. Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI); Wayne, P.A. 2007

80. Mahrane, S. et Tali Maamar, H. (2018). Profils de sensibilité et de résistance des bactéries isolées d'hémocultures. *In :* Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des

Bactéries aux Antibiotiques (AARN), 18ème Rapport d'évaluation Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, Edition 2018.

81. Maillard,(2002) , Usages vétérinaire des antibiotiques , résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine P 16 .

82. Maman, R. (2015). Profil épidémiologique des bactériémies à l'hôpital militaire My Isma {copy} il de Meknès. Etude rétrospective sur trois ans (2011-2013).

83. Marchandin H, Compan B. Simeon de Buochberg M. Despaux E. Perez C. Detection kinetics for positive blood culture bottles by using the VITAL automated system. J Clin Microbiol 1995; 33: 2098-101

84. Martin C., Denis F., Poly M.C., Bingen E., Quentin R. (2011). Microbiologie médicale. Elsevier Masson, 631p.

85. Mckellar,(2001) . Usages vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine P 15.

86. Mécanismes d'action et de Résistance aux Antibiotiques (Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master Académique 2021).

87. Mermel, L. A., et al. (2009). ** *Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America.* Clinical Infectious Diseases, 49(1), 1-45.

« O »

88. Opintan, J. A., & Newman, M. J. (2017). Prevalence of antimicrobial resistant pathogens from blood cultures: results from a laboratory based nationwide surveillance in Ghana. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, *6*(1), 1-6.

89. Osthoff, M., Khanna, N., Goldenberger, D., Wüscher, V., & Flückiger, U. (2016). Hémocultures positives: interprétation et prise en charge initiale. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 16, No. 03, pp. 59-67).

« P »

90. Pertignat, P. (2019). Infections nosocomiales. diagnostic et prise en charge.* Revue Médicale Suisse, 15(654), 1234-1239.

91. Philippon A. (1979). Problèmes posés par les hémocultures. Médecine et maladies infectieuse, 9(9) :496-502.

92. Pr Alban LE MONNIER Bonnes pratiques de prélèvement des hémocultures : quand, pour qui, comment ? PDF, 2023, 7 p.

93. Principles and Practice of Infectious Diseases, 9e éd. (2020).

94. Principles and procedures for Blood Cultures; Approved Guideline, CLSI document M47-A. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); Wayne, P.A. 2007

95. Principles and procedures for Blood Cultures; Approved Guideline, CLSI document M47-A. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); Wayne, P.A. 2007

96. Pulcini, C. (2007). Maladies Infectieuses (53ème édition). Vernazobres-Grego, Paris, 430 p.

« R »

97. Radha Rani D., Sridevi R. J., Basant K. R., Senthil R., Krishna P.K., Krishna M.M.V.T., Vibhavari N., Pavan K., Ayyagari S., Subramanyeshwara R.T. (2017). Retrospective Analysis of Blood Stram Infections and Antibiotic Susceptibility Pattern of

Gram Negative Bacteria in a Tertiary Care Cancer Hospital. International Journal of Medical Research Health Sciences, 6. (12): 19-26.

98. Réseau d'alerte, d'investigations et de surveillance des infections nosocomiales **(RAISIN).** Enquête de Prévalence Nationale 2001 - Résultats. Paris, Institut de Veille Sanitaire, 2003

99. Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales **(Raisin)** en France

100. Rodriguez-Villalobos, H., & Struelens, M. J. (2006). Résistance bactérienne par β-lactamases à spectre étendu: implications pour le réanimateur. *Réanimation*, *15*(3), 205-213.

« S »

101. Sallam, M., Abbadi, J., Natsheh, A., Ababneh, N. A., Mahafzah, A., & Özkaya Şahin, G. (2019). Trends in antimicrobial drug resistance of Streptococcus pneumoniae isolates at Jordan University Hospital (2000–2018). *Antibiotics*, *8*(2), 41.

102. Savard. P. (12- 2008). Caractérisation structurale et dynamique de la Béta-Lactamase TEM-1 de la bactérie Escherichia coli par RMN liquide .Thèse Doctorat en biochimie. Université Laval.

103. Schwarz S., Chaslus-Dancla E. (2001) : *Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance*. *Veterinary Research*, Tome 32, pages 201–225

104. Sékou Koné (2009). Bilan de sept (7) ans d9hémoculture en milieu hospitalier pédiatrique de Bamako. (2009). Thèse doctorat en médecine. Université de Bamako, Mali

105. Selton-Suty, C., Goehringer, F., Venner, C., Thivilier, C., Huttin, O., & Hoen, B. (2019). ***Complications et pronostic de l'endocardite infectieuse. La Presse Médicale, 48(5): 532-538.

106. SFM, Société Française de Microbiologie. 2019. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Recommandations 2019 V.2.0 Mai.

107. SINGLETON P, SAINSBURY D, 1984. Bactériologie. Paris, Masson : 158.

108. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 6ème édition 2011.

109. Strateva, T., & Yordanov, D. (2009). Pseudomonas aeruginosa–a phenomenon of bacterial resistance. *Journal of medical microbiology*, *58*(9), 1133-1148.

« T »

110. Tattevin P., Watt G., Revest M., Arvieux C., Fournier P.E. (2015). Update on Blood culture-negative endocarditis. Médecine et maladies infectieuse, 45 (1-2): 1-8.

111. THE LANCET: articles 400.december17.2022.Global mortality associated with 33 bacterial.pathogenes.in.2019.A systemic analysis for the global. Burden of disease study 2019.

112. Theory.labster.com/fr/biochemical-identification-bacteria.

« V »

113. Vallés, J. (2008): Bloodstream infections in the ICU.* Annals of Intensive Care, 8(1), 1-12.

114. Vaubaurdolle M. (2013). Infectiologie 4ème édition. Les Moniteur des pharmacies, 1328p

115. Vaubourdolle, M. (2007). *** Infectiologie. 3ème édition. Collection-Le Moniteur Internat. 2007

116. Vázquez-Martínez, E. R., García-Gómez, E., Camacho-Arroyo, I., & González-Pedrajo, B. (2018). Sexual dimorphism in bacterial infections. *Biology of sex differences*, *9*, 1-20.

117. Vestergaard, M., Frees D., & Ingmer, H. (2019). Antibiotic resistance and the MRSA problem. *Microbiology spectrum*, *7*(2), 10-1128.

« W »

118. Weinstein MP. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology and interpretation of results. Clin Infect Dis 1996: 23:40-6

119. Weinstein, M. P., et al. (1997). *the clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: A prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults.* Clinical Infectious Diseases, 24(4), 584-602.

120. Weiss, K. (2002). La résistance bactérienne. *Congrès de formation médicale continue FMOQ Le Médecin du Québec*, *37*(3).

121. WSD fact sheet 2013/www.world-sepsis-day.org.

« Y »

122. Yahav, D., Shaked, H., Goldberg, E., Yassin, S., Eliakim-Raz, N., Paul, M., & Leibovici, L. (2017). Time trends in Staphylococcus aureus bacteremia, 1988–2010, in a tertiary center with high methicillin resistance rates. *Infection*, *45*, 51-57.

Annexes

Annexe I. Matériels non biologiques



Figure 01 : Registre des hémocultures **(Photo originale).**

1. Appareils.

Tableau I : Différents appareils et outils utilisés au laboratoire.

Appareillage	Verrerie et outils
• Etuve d'incubation à 37°C. • Microscope optique. • Réfrigérateur du laboratoire. • Bain marie. • VITEK ® 2.	• Bec Bunsen. • Pipettes Pasteur. • Anse à boucle. • Seringues. • Ecouvillon. • Lames et lamelles. • Tubes à hémolyse. • Gants stériles. • Boites de Pétri. • Cartes VITEK® 2. • Pince bactériologique. • Portoirs.



Figure 02 : A droite étuve d'incubation des flacons d'hémoculture, à gauche relève de températures **(Photo personnel).**



Figure 03 : Poste de sécurité microbiologique **(Photo personnel).**



Figure 04 : Réfrigérateur du laboratoire **(Photo originale).**



Figure 05 : Microscope optique **(Photo originale).**



Figure 06: Disque d'antibiotique des entérobactéries **(Photo originale).**



Figure 07: Disque d'antibiotique des entérobactéries **(Photo originale).**

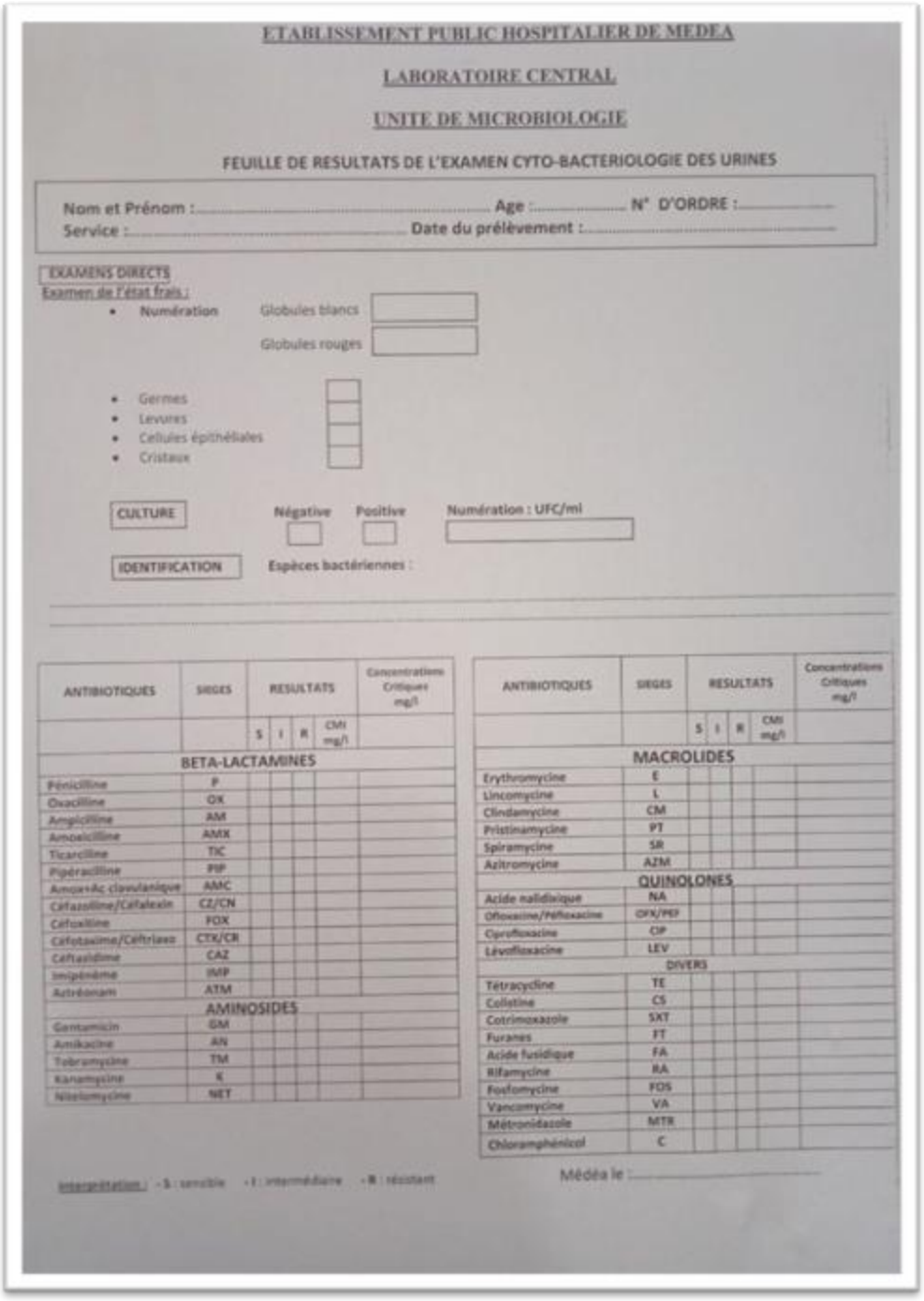


Figure 08: Disque d'antibiotique des *Pseudomonas spp*, Staph1 et Staph 2 **(Photo originale).**



Figure 09: Agitateur de laboratoire **(Photo originale).**

Annexe II. Fichiers



ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER DE MEDEA

LABORATOIRE CENTRAL

UNITE DE MICROBIOLOGIE

FEUILLE DE RESULTATS DE L'EXAMEN CYTO-BACTERIOLOGIE DES URINES

Nom et Prénom : ..... Age : ..... N° D'ORDRE : .....

Service : ..... Date du prélèvement : .....

EXAMENS DIRECTS

Examen de l'état frais :

- Numération — Globules blancs
- Globules rouges
- Germes
- Levures
- Cellules épithéliales
- Cristaux

CULTURE — Négative — Positive — Numération : UFC/ml

IDENTIFICATION — Espèces bactériennes :

ANTIBIOTIQUES	SIGLES	RESULTATS S	I	R	CMI mg/l	Concentrations Critiques mg/l
BETA-LACTAMINES						
Pénicilline	P					
Oxacilline	OX					
Ampicilline	AM					
Amoxicilline	AMX					
Ticarcilline	TIC					
Pipéracilline	PIP					
Amoxi+Ac clavulanique	AMC					
Céfazoline/Céfalexin	CZ/CN					
Céfoxitine	FOX					
Céfotaxime/Ceftriaxo	CTX/CR					
Ceftazidime	CAZ					
Imipénème	IMP					
Aztréonam	ATM					
AMINOSIDES						
Gentamicin	GM					
Amikacine	AN					
Tobramycine	TM					
Kanamycine	K					
Nétilmycine	NET					

ANTIBIOTIQUES	SIGLES	RESULTATS S	I	R	CMI mg/l	Concentrations Critiques mg/l
MACROLIDES						
Erythromycine	E					
Lincomycine	L					
Clindamycine	CM					
Pristinamycine	PT					
Spiramycine	SR					
Azitromycine	AZM					
QUINOLONES						
Acide nalidixique	NA					
Ofloxacine/Péfloxacine	OFX/PEF					
Ciprofloxacine	CIP					
Lévofloxacine	LEV					
DIVERS						
Tétracycline	TE					
Colistine	CS					
Cotrimoxazole	SXT					
Furanes	FT					
Acide fusidique	FA					
Rifamycine	RA					
Fosfomycine	FOS					
Vancomycine	VA					
Métronidazole	MTR					
Chloramphénicol	C					

Interprétation : - S : sensible - I : intermédiaire - R : résistant

Médéa le : .....

Figure 10 : Feuille de résultats de l'examen d'ATB.

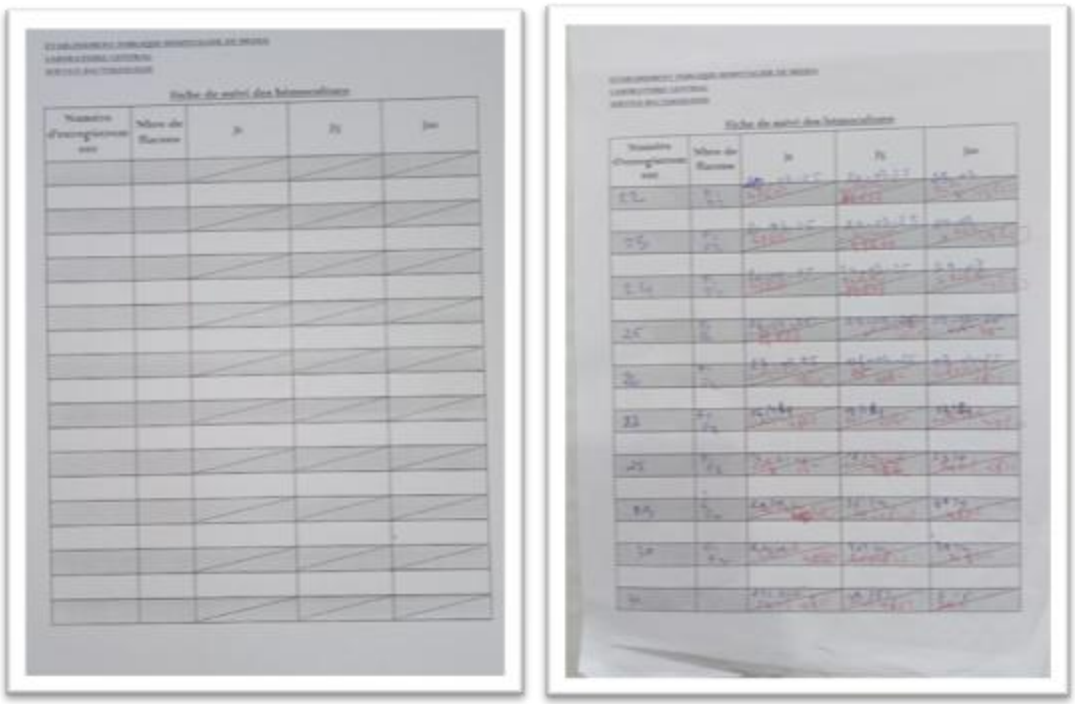


Figure 11 : Fiche de suivi des hémocultures**.**

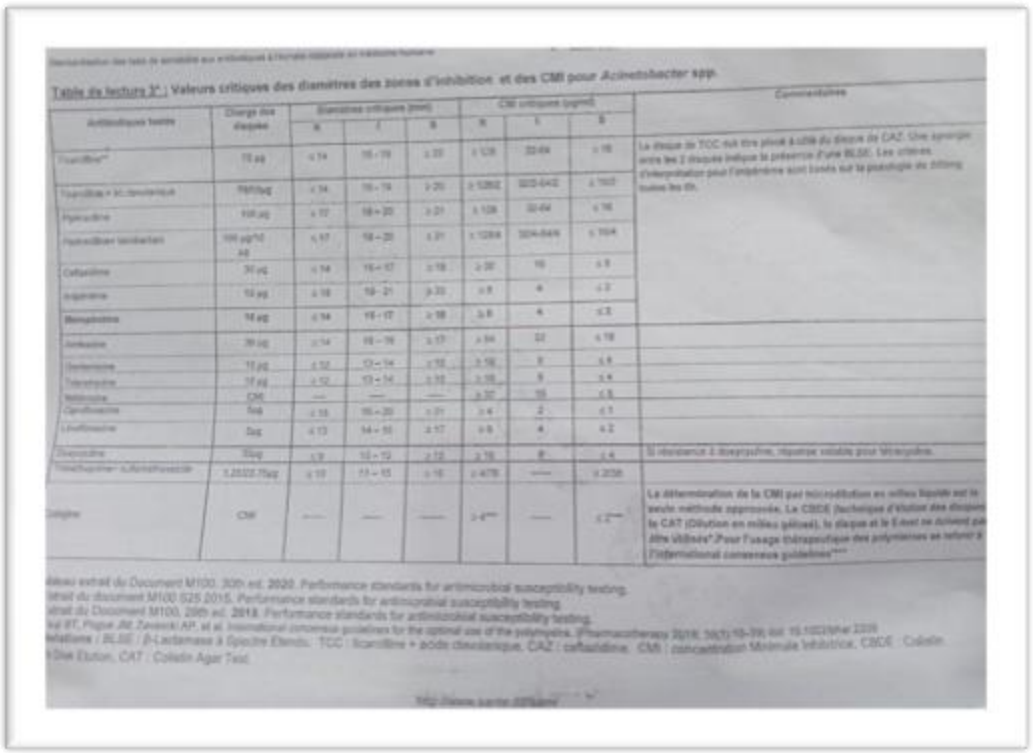


Figure 12 : Valeurs critiques des diamétres des zones d'inhibition et CMI pour *Acinectobacter spp*.

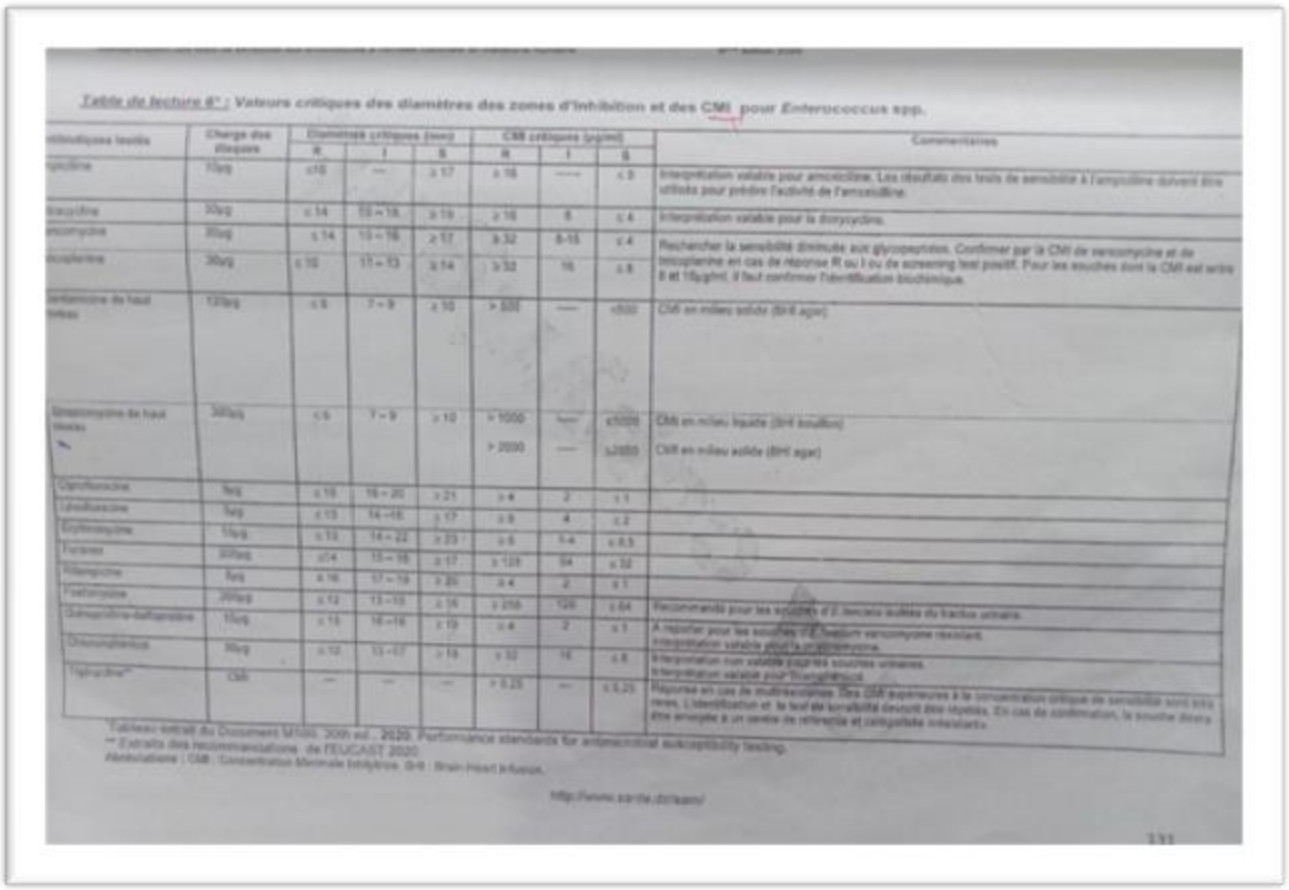


Table de lecture n° : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Enterococcus spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤16	—	≥ 17	≥ 16	——	≤ 8	Interprétation valable pour amoxicilline. Les résultats des tests de sensibilité à l'ampicilline doivent être utilisés pour prédire l'activité de l'amoxicilline.
Doxycycline	30µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4	Interprétation valable pour la doxycycline.
Vancomycine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 32	8-16	≤ 4	Rechercher la sensibilité diminuée aux glycopeptides. Confirmer par la CMI de vancomycine et de teicoplanine en cas de réponse R ou I ou de screening test positif. Pour les souches dont la CMI est entre 8 et 16µg/ml, il faut confirmer l'identification biochimique.
Teicoplanine	30µg	≤ 10	11 – 13	≥ 14	≥ 32	16	≤ 8	
Gentamicine de haut niveau	120µg	≤ 6	7 – 9	≥ 10	> 500	——	≤500	CMI en milieu solide (BHI agar)
Streptomycine de haut niveau	300µg	≤ 6	7 – 9	≥ 10	> 1000 > 2000	——	≤1000 ≤2000	CMI en milieu liquide (BHI bouillon) CMI en milieu solide (BHI agar)
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 –16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Erythromycine	15µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0,5	
Furanes	300µg	≤14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Rifampicine	5µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1	
Tétracycline	30µg	≤ 12	13 –15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Recommandé pour les souches d'*E. faecium* isolées du tractus urinaire.
Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	1,25µg	≤ 15	16 –18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	A rapporter pour les souches d'*E. faecium* vancomycine résistant. Interprétation valable pour la pristinamycine.
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 –17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Interprétation non valable pour les souches urinaires. Interprétation variable pour l'association
Tigécycline**	CMI	—	—	—	> 0,25	—	≤ 0,25	Réponse en cas de multirésistance. Des CMI supérieures à la concentration critique de sensibilité sont très rares. L'identification et le test de sensibilité devront être répétés. En cas de confirmation, la souche devra être envoyée à un centre de référence et compétente rapidement.

Tableau extrait du Document M100, 30th ed., 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.
** D'après des recommandations de l'EUCAST 2020.
Abréviations : CMI : Concentration Minimale Inhibitrice, BHI : Brain Heart Infusion.

http://www.sante.dz/kasmi/

Figure 13 : Valeurs critiques des diamétres des zones d'inhibition et CMI pour *Enterococcus spp.*