



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Études

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

Profil Bactériologique des septicémies

Présenté par : Douha AMRI

Encadré par :

Pr WifaK BAHAFID (FST Fès)

Pr Sara KOUARA (Laboratoire biologie CHU HASSAN II, Fès)

Soutenu le : 04 juillet 2022

Devant le jury composé de :

- Pr W. BAHAFID
- Pr K. BEKHTI
- Pr Sara KOUARA

Stage effectué à : CHU HASSAN II, Fès

Année universitaire 2021-2022

Remerciement

Je souhaite adresser mes plus vifs remerciements aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Je suis digne de mes parents qui m'ont toujours encouragée et aidée dans mes études. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir. J'espère qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

*Je remercie infiniment tout d'abord Madame **WifaK BAHAFID**, mon encadrante pour son soutien, sa confiance, ses conseils permanents, et ses méthodes scientifiques d'encadrements étaient les points clés d'aboutissement de ce travail.*

*Également, Je remercie infiniment Madame **Sara KOUARA**, mon encadrante de stage pour son soutien, son contrôle permanent, ses conseils, et ses méthodes scientifiques et techniques tout au long de la période du stage.*

J'adresse ensuite mes remerciements les plus sincères aux membres du jury respectable:

Pr. Wifak BAHAFID, Pr. K. BEKHTI, Pr. Sara KOUARA d'avoir bien voulu participer à l'évaluation de ce travail.

Je remercie enfin le chef de filière Ms Said el HALOTI pour son soutien, ainsi que toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réussite de ce travail.

Liste des tableaux

Tableau 1: DIFFÉRENTES PORTE D'ENTRÉE DES SEPTICÉMIES.	11
Tableau 2: TAUX DES HÉMOCULTURES SELON L'ÂGE.	22
Tableau 3: RÉPARTITION DES CAS POSITIFS SELON LE SEXE.	23
Tableau 4: RÉPARATION MENSUELLE DES HÉMOCULTURES POSITIVES.	23
Tableau 5: RÉPARTITION DES SOUCHES SELON LES SERVICES.	24
Tableau 6: CLASSIFICATION DES BACTÉRIES ISOLÉES EN HÉMOCULTURES SELON LEURS POUVOIRS PATHOGÈNES.	25
Tableau 7: NOMBRE DES ÉPISODES POLY MICROBIENS ISOLÉS EN 2021.	25
Tableau 8: RÉPARTITION DES GERMES ISOLÉS EN 2021.	26
Tableau 9: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE.	27
Tableau 10: NOMBRES ET POURCENTAGE DES RÉSISTANCES DES SOUCHES D'E.COLI.	27
Tableau 11: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES PSEUDOMONAS.	28
Tableau 12: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES D'ACINETOBACTER.	28
Tableau 13: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS.	29
Tableau 14: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES DE SARM.	29
Tableau 15: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES DE STAPHYLOCOCCUS COAGULASE NÉGATIVE.	30

Liste des figures

Figure 1: ÉVOLUTION DE LA GRAVITÉ DES SYNDROMES SEPTIQUES.	10
Figure 2: MÉCANISME SIMPLIFIÉ DES SEPTICÉMIES D'ORIGINE THROMBOEMBOLIQUE.	12
Figure 3: GANGLION LYMPHATIQUE.	12
Figure 4: TROIS PRINCIPAUX MÉCANISMES DES SEPTICÉMIES.	13
Figure 5: AUTOMATE D'HÉMOCULTURE.	18
Figure 6: CENTRIFUGATION DE SAND.	19
Figure 7: ANTIBIOGRAMME	21
Figure 8: RÉPARTITION MENSUELLE DES HÉMOCULTURES POSITIVES DE L'ANNÉE 2021.	22

SOMMAIRE

Résumé	6
Introduction	7
1- Étude bibliographique	8
1.1- Définition	10
1.2- Mécanismes physiopathologiques des septicémies	10
1.3- Symptômes	13
1.4- Diagnostic	14
1.5- Antibiothérapie	14
1.6- Résistance Bactérienne aux Antibiotiques	14
2- Matériels et méthodes	17
2.1- Type, lieu et période d'étude	17
2.2- Recueil des données	17
2.3- Critères d'inclusion et d'exclusion	17
2.4- Amplification et détection de la charge bactérienne	17
2.4.1- Hémoculture	17
2.4.2- Centrifugation	18
2.4.3- Coloration de gram et examen microscopique	19
2.4.4- Isolement des microorganismes	20
2.4.5- Identification biochimique des isolats	20
2.4.6- Antibiogramme	21
3- Résultats	22
3.1- Données épidémiologique	22
3.1.1- Répartition mensuel des hémocultures positives	22
3.1.2- Répartition des hémocultures positives selon l'âge	22
3.1.3- Répartition des patients selon le sexe	23
3.1.4- Répartition des patients positifs selon le service d'hospitalisation	24
3.2- Données bactériologique	25
3.2.1- Profils bactériologique	25
3.3- Étude de la résistance et la sensibilité des bactéries aux antibiotiques	26
3.3.1- Étude de la résistance des germes à Gram négatifs aux antibiotiques	26
3.3.2- Étude de la sensibilité des germes à Gram positif	29
4- Discussion des résultats	31
Conclusion	35
Références	36

Résumé

Une septicémie est une infection grave généralisée de l'organisme, due à des micro-organismes pathogènes de type microbien, responsable d'une morbidité et d'une mortalité significatives à travers le monde, elle consiste une urgence diagnostique et thérapeutiques. Les objectifs de cette étude étaient d'identifier les bactéries isolées, d'étudier leurs sensibilités et leurs résistances aux antibiotiques, et de déterminer le profil épidémiologique et bactériologique des patients ayant demandé les hémocultures. Il s'agit d'une étude rétrospective d'une année (2021_2022) au niveau du laboratoire de microbiologie de centre hospitalier universitaire HASSAN II à Fès, la collecte des données s'est faite à partir des registres archives d'hémoculture. Au total, nous avons reçu 435 hémocultures positives, le sexe masculin est le plus exposé à la septicémie. Les hémocultures isolées proviennent des différents services où la Réanimation est le grand provoyeur suivis par la Réanimation pédiatrique et la Néonatalogie. La septicémie est plus touchée les nouveaux _nés que les autres âges. 443 souches bactériennes ont été identifiées, avec une prévalence des bactéries à gram négatifs de 55,08%, parmi les bactéries à gram positif isolés le groupe prédominant est entérobactéries (27,99%). La présence de 3,55% des épisodes polymicrobiens, 0,45% des levures. Les vingt-cinq souches productrices de BLSE les plus isolés sont KLEBIELLA PNEUMONIAE par 17 souches. L'évaluation de la résistance bactérienne aux antibiotiques montre que l'efficacité des bêta-lactamines sur les entérobactéries est diminuée et ne devait donc plus être utilisés comme traitement de première intention. Ce phénomène de résistance touche même les BLSE par production de C3G.

La connaissance de l'écologie bactérienne et la surveillance de la résistance et de la sensibilité aux antibiotiques sont nécessaires pour guider l'antibiothérapie dans notre environnement. Face au taux élevé de résistance aux antibiotiques, l'instauration d'un programme de surveillance est devenue très importante pour déterminer les caractéristiques des septicémies dans notre structure, et fournir ainsi la base pour un traitement empirique approprié. L'hémoculture reste aujourd'hui le diagnostic de routine des septicémies. Cependant cette technique montre des limites. Donc des nouvelles technologies telles que les méthodes biomoléculaires promettent une révolution du diagnostic des septicémies dans les prochaines années.

Introduction

La présence des bactéries dans le sang ou septicémies reste toujours grave, et responsable d'une importante cause de mortalité et de morbidité. Ces infections sont classées comme étant la 11^{ème} principale cause de décès aux États-Unis [1]. La maladie est connue depuis longtemps en 1837 par un médecin français "Pierre Adolphe Piorry". Cette infection provient à partir d'un foyer infectieux initial. En déchargeant dans la circulation sanguine, les micro-organismes impliqués peuvent essaimer et créer des foyers infectieux secondaires. Parmi les microorganismes impliqués on trouve Staphylococcus à *Coagulase négative*, *E.coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Acinetobacter*...

Ce type d'infection se manifeste par une aggravation brutale de l'état général, avec fièvre très élevée et frissons. Par conséquent, l'hémoculture constitue une urgence diagnostique et thérapeutique. Elle est le moyen d'investigation le plus sûr pour confirmer une bactériémie pour reconnaître le germe responsable et tester sa sensibilité aux antibiotiques. Mais bien souvent, l'isolement du germe exige un long délai incompatible avec l'urgence de la situation. Elle est fréquemment prescrite en milieu hospitalier, notamment en cas de fièvre indéterminée.

L'interprétation d'une hémoculture positive varie selon la situation clinique et elle est simple si la bactérie retrouvée n'est jamais commensale de la peau [2].

L'objectif de ce travail est d'analyser le profil épidémiologique et bactériologique des isolats du CHU HASSAN II DE FÈS, pendant une période de 1 an (2021), et de préciser la résistance et la sensibilité aux antibiotiques des principaux germes isolés.

1-Étude bibliographique

C'est une démarche normale aujourd'hui de pratiquer une ponction veineuse pour détecter la présence des microorganismes dans le sang des malades, mais ce n'est qu'à la fin du XIX^{ème} siècle que la pratique d'hémocultures s'est bien développée [3]. L'étude d'une maladie particulière « le Charbon » touchant principalement les moutons et le bétail, qui a permis d'établir que des germes microscopiques étaient la cause d'une maladie. En 1850, DAVAINÉ (un médecin Parisien) a fait un examen microscopique du sang de rate (sang d'un mouton mort de charbon), et il a observé des bâtonnets plus ou moins longs et flexueux. En 1860, DELAFOND a trouvé l'idée de mettre « en culture le sang en dehors de l'organisme », à cet effet, il a prélevé du sang sur les animaux malades du charbon encore vivants et aussi sur des cadavres. Le sang prélevé a été déposé dans les petits vases en verre à ouverture élargie et placés à l'air libre. Quatre jours après, les baguettes avaient augmenté du double et du triple de leur longueur. Ce sont les travaux de Pasteur et de Koch qui établirent la relation entre la présence de bactéries et les symptômes cliniques. En 1863 Davaine et Pasteur, affirmèrent que les bactéries étaient responsables de la maladie « charbon » et montraient qu'elles pouvaient être cultivées indéfiniment en dehors de l'organisme. En 1866 Coze et Feltz professeurs à la faculté de médecine de Strasbourg, qui prélevèrent le sang d'une malade atteinte de typhoïde, observèrent des micro-organismes au microscope. En injectant ce sang à des lapins, ils transmettaient la bactérie à l'animal. En 1869, ces mêmes auteurs mirent en évidence des « points mobiles et des chaînettes dans le sang d'une femme atteinte de fièvre puerpérale et inoculèrent une série de lapins en utilisant la seringue de Pravaz » [4]. En 1876, Koch, publiait ses travaux sur le charbon. Il a réussi à maintenir l'infection chez 20 générations de souris inoculées avec du sang contaminé. De plus, il a réussi à cultiver la bactérie dans du sérum de bœuf. Le 11 mars 1879, PASTEUR, à l'Académie de Médecine de Paris, évoqua « la nécessité d'un milieu de culture approprié pour chaque germe ». Pour cela, il a rapporté des cas de culture en clinique humaine. La technique utilisée pour le prélèvement est une « pique à l'index de la main gauche, qui avait été préalablement et convenablement lavé et essuyé avec un linge flambé ». La nature du milieu de culture n'est évidemment pas négligeable. En 1880, Coze et Feltz, Doleris, obstétricien à Paris, poursuivait les travaux de Pasteur sur la fièvre puerpérale. Il codifia le prélèvement au doigt « lavé à l'alcool et piqué avec une lancette ou une épingle trempée dans l'acide phénique et flambée ». Le souci de l'asepsie du prélèvement et la nécessité d'éviter les contaminations s'imposaient alors. En 1884 Rosembach est l'un des premiers à avoir obtenu une hémoculture positive au cours de l'évolution de la maladie [5]. En 1895, Schottmuller mettrait à la culture en bouillon le repiquage sur gélose au sang, ce qui était rendu possible à la suite des travaux de Koch. Ainsi, à la fin du XIX^{ème} siècle, la technique

d'hémoculture était peu différente de celle que nous connaissons aujourd'hui, au moins dans ses principes.

1.1- Définition

La septicémie est la décharge massive, répétée et permanente de germes dans la circulation sanguine à partir d'un foyer infectieux initial [3]. Ce foyer s'est constitué lors du passage de microorganismes exogènes par une porte d'entrée muqueuse ou tégumentaire. Généralement il n'y a pas de différence entre bactériémie et septicémie. Le plus souvent, En France, on considère qu'une bactériémie est la « présence d'un germe pathogène dans le sang authentifié par des hémocultures positives » et que la septicémie est définie comme : « un état infectieux grave avec bactériémie » [6]. Le cadre général des syndromes dits (septiques) se présente sous trois stades de gravité croissante (Figure 1) :

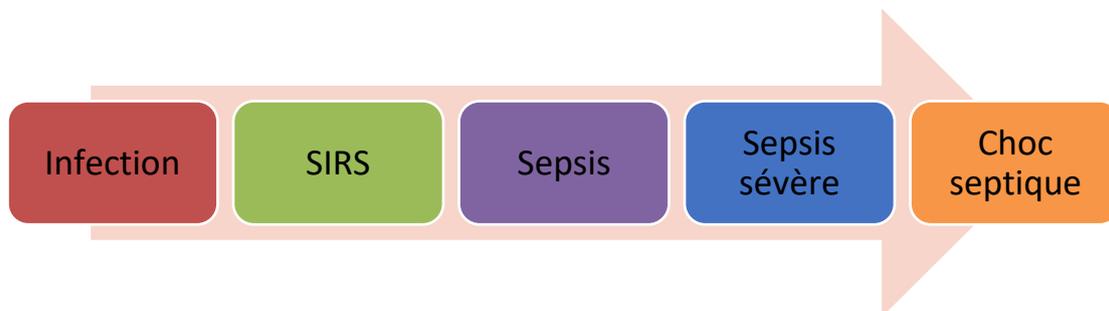


Figure 1: ÉVOLUTION DE LA GRAVITÉ DES SYNDROMES SEPTIQUES.

1.2- Mécanismes physiopathologiques des septicémies

1ère étape :

Les microorganismes pénètrent dans l'organisme par une PORTE D'ENTREE.

- Les septicémies communautaires: les principales portes d'entrée sont, urinaire, digestive puis pleuropulmonaire. Une part importante des portes d'entrée reste inconnue (12,9%).
- Les septicémies nosocomiales: La porte d'entrée principale est urinaire, avec la présence d'une sonde dans la moitié des cas. Les bactéries pénètrent aussi par le biais de dispositifs intravasculaires, et enfin par voie digestive. Là aussi une part importante des portes d'entrée reste inconnue (11,5%) (Tableau 1).

2ème étape :

Les bactéries se multiplient à proximité de la porte d'entrée et forment un foyer infectieux primaire localisé soit de nature thromboembolique, ganglionnaire ou endocarditique.

3ème étape :

À partir du foyer infectieux, les micro-organismes passent dans le sang. Cette inoculation peut être continue ou intermittente.

4ème étape :

Le système phagocytes-mono-nucléaires est activé pour assurer l'élimination des bactéries. Le système phagocytes-mono-nucléaires peut être dépassé lorsque la charge microbienne est massive ou bien si l'agent microbien a la capacité de se multiplier rapidement dans le sang. Des foyers infectieux secondaires (ou métastases septiques) à distance peuvent alors apparaître.

Tableau 1: DIFFÉRENTES PORTE D'ENTRÉE DES SEPTICÉMIES.

Portes d'entrée	Septicémies communautaires %	Septicémies nosocomiales %
Urinaire	31	23,6
Digestif et abdominal	22,2	12,2
Pleuropulmonaire	14,4	7,7
Cathéter central	0,1	7,7
Cathéter périphérique	0,1	4,1
Chambre implantée	0,2	10
Cutanée non opératoire	9,1	6,1
Site opératoire	0,1	7,9
Translocation digestive	1,5	3,2
Materno-fœtale	0,7	1,1
Autre	7,4	5
Inconnue	12,9	11,5

Selon les localisations de la porte d'entrée et du foyer, on distingue trois schémas physiopathologiques :

- **Septicémie thrombophlébitique:** À partir d'un foyer initial cutané (plaies, infection de brûlures...) ou muqueux (rhino-pharynx, appareil génital) se constitue au voisinage de la porte d'entrée et consiste en un coagulum de fibrine infiltré de cellules sanguines et immunitaires et colonisé par les bactéries. De ce thrombus se détachent irrégulièrement des micro-embolies septiques qui ensemencent massivement la circulation sanguine. Les métastases sont fréquentes et intéressent surtout les tissus pulmonaires, nerveux, rénaux et le système réticulo-endothélial. L'aspect de la courbe thermique est irrégulier (fièvre désarticulée), les principaux germes en cause sont surtout des staphylocoques et des streptocoques (Figure 2).

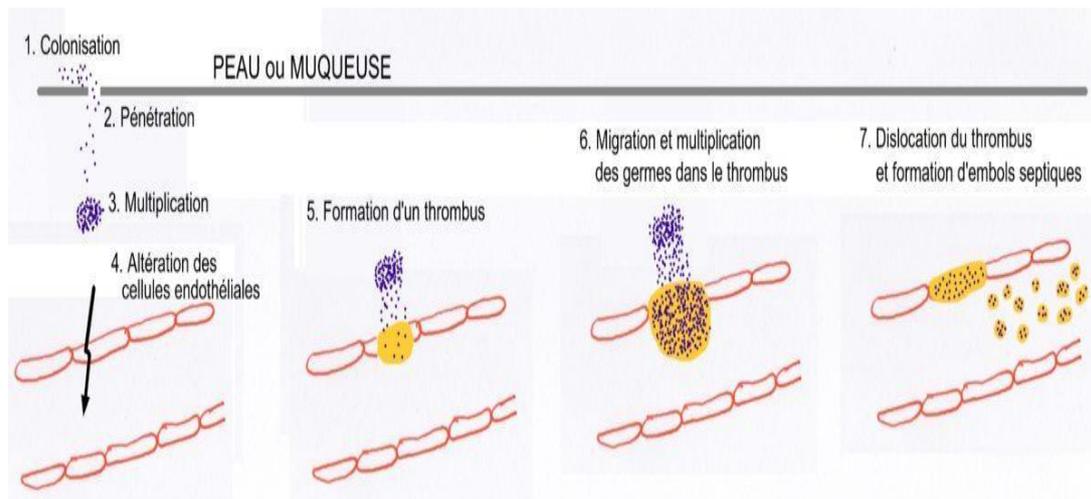


Figure 2: MÉCANISME SIMPLIFIÉ DES SEPTICÉMIES D'ORIGINE THROMBOEMBOLIQUE.

- Septicémie à point de départ lymphatique: Elles sont très 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. Ce schéma pathogénique est typique de la typhoïde (*Salmonella Typhi*, *S. paratyphi A, B*) et de la brucellose (*Brucella SPP* responsable de la fièvre de Malte). La peste bubonique est également une bactériémie d'origine lymphatique. Les rongeurs constituent le réservoir de cette maladie. La maladie se transmet à l'homme par la piqûre d'une puce infectée. L'agent pathogène est *Yersinia pestis* (Figure 3).

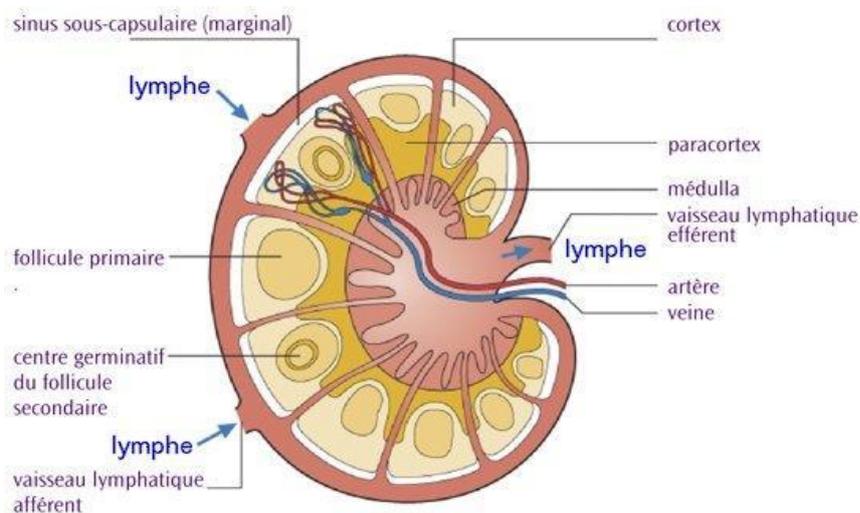


Figure 3: GANGLION LYMPHATIQUE.

- Septicémies endocardiques: Ce type survient surtout dans des cas de lésions cardiaques préexistantes (ex: valvulopathie) ou chez les porteurs de prothèses cardiaques ou vasculaires. Les micro-organismes responsables sont fréquemment des streptocoques (viridans), staphylococcus epidermidis et aureus, enterococcus SP. Elles sont bien adaptées au milieu, soit défectives (paroi absente ou anomalie). De ce fait, ces microorganismes peuvent être résistantes aux antibiotiques et difficilement cultivable.

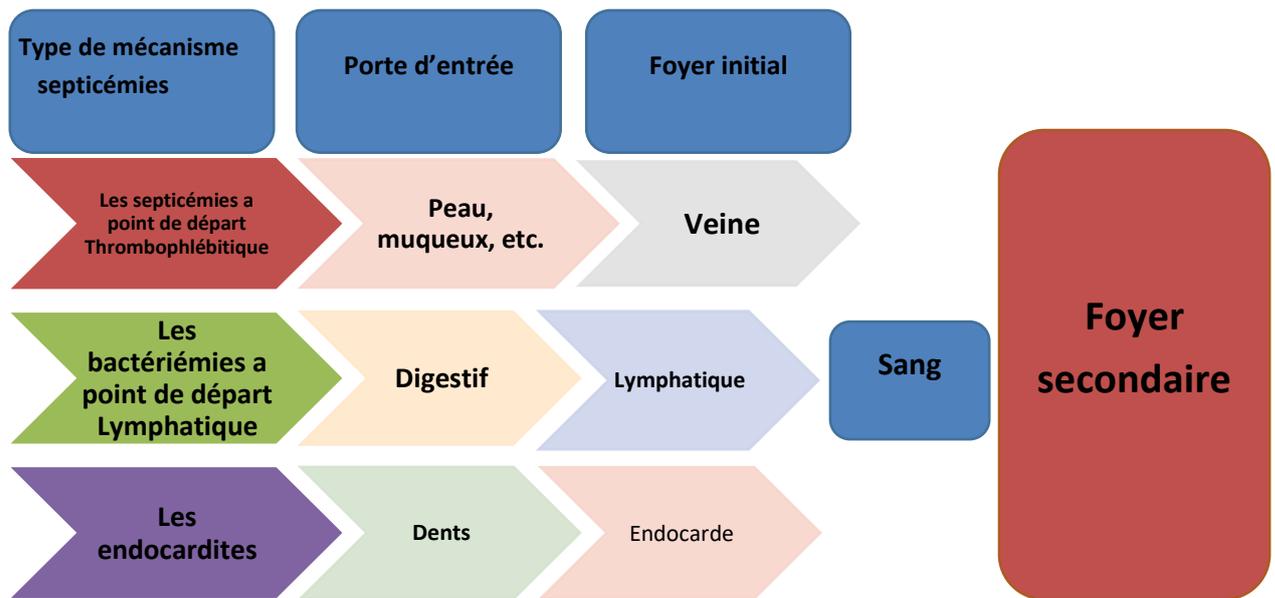


Figure 4: TROIS PRINCIPAUX MÉCANISMES DES SEPTICÉMIES.

1.3- Symptômes

Certains patients sont asymptomatiques ou ne présentent qu'une fièvre peu élevée [7]. Toutefois l'apparition de plusieurs autres symptômes peut être notée:

- Tachypnée
- Des frissons une fièvre persistante
- Une altération de la conscience
- Chute de la tension artérielle (Une hypotension)
- Fatigue
- Voire d'une confusion mentale chez les plus âgés et les plus jeunes

- Des symptômes gastro-intestinaux (douleurs abdominales, nausées, vomissement et diarrhée) évoquent une sepsis ou choc septique

1.4- Diagnostic

Le diagnostic des septicémies passe par l'isolement de la bactérie responsable de l'infection au niveau du sang. Le diagnostic positif de septicémie repose sur la positivité des hémocultures. Des hémocultures doivent être réalisées en cas de suspicion clinique de septicémie et dans le bilan de toute suspicion d'infection bactérienne sévère [8]. En effet, l'hémoculture est un examen essentiel en bactériologie médicale, qui permet de détecter la présence des micro-organismes dans le sang, de les identifier et de caractériser leur profil de sensibilité et de résistance aux anti-infectieux. De très nombreux agents pathogènes peuvent être isolés à partir d'hémocultures. Ils sont soit d'origine communautaire, soit acquis à l'hôpital(nosocomiale) [9].

1.5- Antibiothérapie

En cas de suspicion de septicémie, des antibiotiques sont administrées de manière ampérique après les prélèvements bactériologiques nécessaires. Un traitement continu implique l'ajustement de l'antibiothérapie selon les résultats de la culture obtenue de l'antibiogramme [10]. En effet, l'antibiotique est défini comme substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi synthétique. Elle est capable d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer d'effets toxiques [11]. L'action antibactérienne s'effectue selon quatre mécanismes :

- Une inhibition de la synthèse des constituants de la paroi,
- Un blocage de la synthèse des protéines,
- Un blocage de la synthèse des acides nucléiques
- Une altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique [5].

1.6- Résistance Bactérienne aux Antibiotiques

On dit qu'une souche résistante aux antibiotiques lorsque :

- La concentration d'ATB qu'elle est capable de supporter est notamment plus élevée que la concentration atteignable in-vivo.
- Une concentration d'ATB notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce [12].

Il existe deux types des résistances bactériennes aux antibiotiques:

- La résistance naturelle : La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les cellules de toutes les souches. Elle est stable,

transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal [13].

- La résistance acquise : Contrairement à la résistance naturelle, la résistance acquise intéresse certaines souches au sein d'une espèce bactérienne normalement sensible à cet antibiotique [8].

Exemple de résistances naturelles aux antibiotiques :

- Bacilles Gram négatif non exigeants :
 - *Klebsiella sp* : Ampicilline /Amoxicilline, Ticarcilline /Pipéracilline.
 - *Enterobacter cloacae* : Ampicilline / Amoxicilline, Amoxicilline+acide clavulanique, Céphalosporine de 1 ère génération, Céfoxitin.
 - *Proteus mirabilis* : Tétracycline, Colistine, Furanes
 - *E.aerogens* : Ampicilline / Amoxicilline, Amoxicilline+acide Clavulanique, Céphalosporine de 1 ère génération, Céfoxitin.
 - *E.marcesens* : Ampicilline /Amoxicilline, Amoxicilline+acide Clavulanique, Céphalosporine de 1 ère génération, Colistine
 - *P.mirabilis* : Tétracycline, Colistine, Furanes
 - *P.vulgaris* : Ampicilline /Amoxicilline, Céphalosporine de 1 ère génération, Tétracycline, Colistine, Furanes
 - *P.morganii* : Ampicilline /Amoxicilline, Amoxicilline +acide Clavulanique, Céphalosporine de 1 ère génération, Tétracycline, Colistine, Furanes
- Bacilles Gram négatif non exigeants et non fermentaires et autres BGN :
 - *Pseudomonas aeruginosa* : Ampicilline /Amoxicilline, Tétracycline, Céftriaxone, Kanamycine, Céfoxitine
 - Chloramphénicol, Quinolones, Céphalosporines de 1ère et 2ème génération
 - *Acinetobacter Baumanii*: Ampicilline /Amoxicilline, Triméthoprime, Fosfomycine, Furanes, Céphalosporine de 1 ère génération, Céphalosporine de 2 ère génération.
 - Autres BGN : Ampicilline /Amoxicilline, Erythromycine, Céphalosporines de 1ère et 2ème génération
- Bacilles Gram négatifs exigeants :
 - *Haemophilus*: Macrolides (cycle 16 atomes: Spiramycine, Josamycine, Midécamycine), Lincosamides.
- Bactéries à Gram positif :
 - *Staphylococcus Saprophyticus*: Fosfomycine, Novobiocine
 - *Micrococcus* : Furanes.
 - *Streptococcus* dont *Streptococcus Pneumoniae*: Aminoglycosides (bas niveau), Peifloxacin.

- *Enterococcus*: Oxacilline, Céphalosporines, Ertapénème, Aminoglycosides (bas niveau), Peifloxacine, Fosfomycine (bas niveau), Sulfamides, acide Fucidique.
- *Enterococcus Faecalis*: Lincosamides, Streptogramines A.
- *Enterococcus Faecium*: Imipénème [14].

2- Matériels et méthodes

2.1- Type, lieu et période d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive des registres du service de bactériologie pendant une période de 1 an (2021), au sein du laboratoire du CHU HASSAN II à Fès. Cette étude a inclus tous les services du CHU.

Pour chaque patient inclus ; au moins une hémoculture a été prélevée, les hémocultures ont été classées en positives et négatives.

2.2- Recueil des données

Afin d'avoir le maximum de renseignements administratifs, cliniques et paracliniques des patients présentant une hémoculture positive, nous avons élaboré une fiche patient (Annexe) afin de standardiser les données utiles à l'analyse statistique et épidémiologique. Dans cette fiche on note principalement les services concernés, le motif d'hospitalisation ou de consultation, les antécédents médicaux, les chirurgicaux et toxiques, quelques résultats biologiques et la nature de l'antibiothérapie initiale, ainsi que l'évolution de l'état des patients. Le contenu des fiches est introduit dans une base de données Microsoft Excel®2021 pour les traiter statistiquement. Les variables recueillies étaient :

- Mois et année du prélèvement
- Âge et sexe du patient
- Indication de l'hémoculture
- Germe isolés
- Sensibilité aux antibiotiques des isolats.

2.3- Critères d'inclusion et d'exclusion

Critères d'inclusion : Les patients hospitalisés au sein de l'hôpital Hassan II à Fès ayant une ou plusieurs hémocultures positives.

Critères d'exclusion :

- Les patients avec des hémocultures positives jugées contaminées (faux positifs).
- Les hémocultures positives identifiant une même bactérie chez un patient durant un même épisode.

2.4- Amplification et détection de la charge bactérienne

2.4.1- Hémoculture

L'hémoculture est un examen sanguin essentiel en infectiologie, il consiste en un prélèvement de sang veineux, qui est ensuite mis en culture afin d'y rechercher des micro-organismes.

Le prélèvement de sang est introduit dans des flacons spéciaux, contenant des nutriments pour le pathogène en général. Deux flacons d'hémoculture sont inoculés en même temps, un en condition aérobie et un autre en condition anaérobie (sans oxygène) permettant ainsi de détecter les germes aérobies et anaérobies.

Les flacons d'hémoculture contiennent des substances pour inhiber l'action antibactérienne du complément, et l'action des antibiotiques lorsque le patient a déjà débuté un traitement antibiotique avant le prélèvement de l'échantillon.

Les flacons d'hémoculture sont placés dans l'automate à une température de 37 C. celui-ci est un appareil permettant de détecter une croissance bactérienne en mesurant l'augmentation de la quantité de CO_2 à l'intérieur des flacons d'hémoculture. Cette étape requiert en général 24 à 72h.

Ce test permet donc de confirmer la présence de pathogènes dans la circulation sanguine, et la diminution des délais de réponse grâce à une surveillance automatique.



Figure 5: AUTOMATE D'HÉMOCULTURE.

2.4.2- Centrifugation

La centrifugation est une technique qui utilise le principe de la force centrifuge pour séparer les composants du sang, en vue d'analyses ultérieures. Le sang est récolté dans des tubes à centrifugation qui sont ensuite placés dans la centrifugeuse. Pendant la centrifugation certains composants du sang vont sédimenter et se déposer au fond du tube. Ils sont ainsi séparés du surnageant.

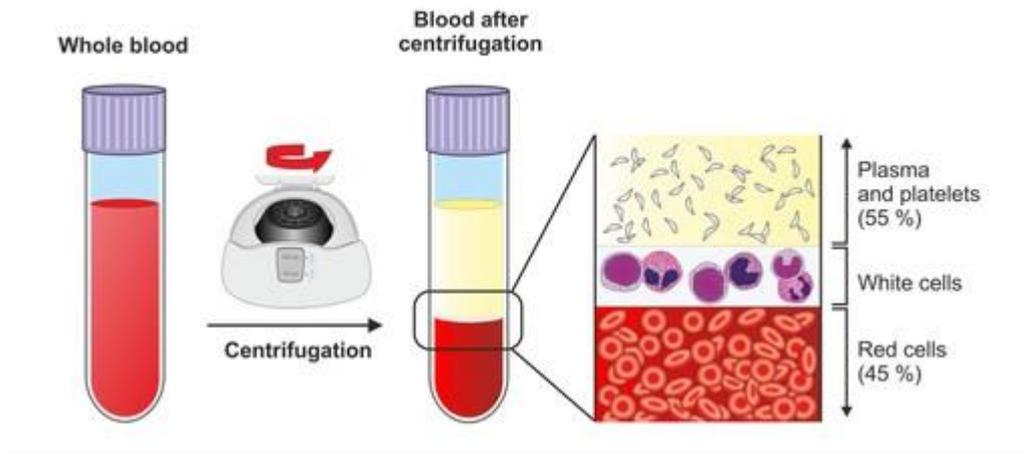


Figure 6:CENTRIFUGATION DE SAND.

2.4.3- Coloration de gram et examen microscopique

Après l'obtention d'une hémoculture positive, la première analyse à être effectuée est la coloration de Gram figure x. Celle-ci permet de visualiser les micro-organismes : bactéries Gram (+), bactéries Gram (-) ou, plus rarement, des levures. Cette étape permet aussi d'observer la forme des micro-organismes (coques, bacilles, ...), ainsi que leur mode de groupement (grappe, chaînette ou isolés). Les résultats de la coloration de Gram et les premières observations microscopiques constituent un premier outil pour faciliter le choix des milieux gélosés utilisés pour l'isolement.

Les étapes de la coloration de CRAM :

1. Inonder le frottis séché à l'air et fixé à la chaleur pendant 1 minute avec le réactif de coloration au cristal violet. Veuillez noter que la qualité du frottis (concentration cellulaire trop lourde ou trop légère) affectera les résultats de la coloration.
2. Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes
3. Inondation avec le mordant : iode ou lugol. Attendre 1 minute
4. Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes.
5. Inondation la lame avec agent décolorant. Attendre 15 secondes ou ajouter goutte à goutte pour faire sortir l'agent de décoloration
6. Inondation la lame avec contre-colorant, 'safranine'. Patienter 30 secondes à 1 minute.
7. Laver la lame dans un jet d'eau douce et indirecte de l'eau du robinet jusqu'à ce qu'aucune couleur n'apparaisse dans l'effluent, puis sécher avec du papier absorbant.

8. Observez les résultats de la procédure de coloration sous immersion dans l'huile, examiner au microscope, objectif x100 [15].

2.4.4- Isolement des microorganismes

L'isolement DES MICROORGANISMES à partir des différents échantillons prélevés est effectué en utilisant le milieu gélose Columbia au sang cuit additionnée de polyvitamines sans antibiotique (=milieu cos). Le milieu est ensemencé en quadrants (à usage général) obtenu après culture des colonies bien isolées.

2.4.5- Identification biochimique des isolats

Après la coloration de Gram (observation microscopique) et ensemencement sur les milieux gélosés (observation macroscopique) les souches sont identifiées selon les méthodes classiques. Les genres et les espèces sont différenciés sur la base des caractères biochimiques étudiés sur des milieux rassemblés dans la galerie d'identification (fermentation des sucres, décarboxylation d'acides aminés, production d'indole, d'acétone, etc.). Dans notre étude ont utilisé des tests suivant (caractéristiques biochimiques) :

En cas des Bacilles:

- Test de l'urée pour comparer entre *E.coli* et *Klebsiella*

En cas des Cocci gram +:

- Test DNASE pour l'identification des *Staphylococcus*: c'est un test est utilisé pour déterminer la capacité d'un organisme à hydrolyse l'ADN et à utiliser comme source de carbone et d'énergie pour la croissance.
- Test de catalase pour l'identification des *Streptococcus*:
- Test de *BILESCULINE* pour l'identification des *Enterobacter cloacae*.
- Test de l'oxydase, plus précisément du cytochrome C2 permet nous la différenciation d'un certain nombre de bacilles à Gram négatif non fermentatifs (oxydase positive) des entérobactéries (oxydase négative). Le réactif utilisé est une solution aqueuse à 1% de *Tétraméthyl -p-Phénylènediamine*, elle est incolore à l'état réduit et bleue-violette à l'état oxydé.

2.4.6- Antibiogramme

Des tests de sensibilité aux antibiotiques sont lancés en parallèle, en déposant sur la gélose MH des disques imbibés.

C'est cette étape qui nous permet de déterminer la sensibilité du pathogène à plusieurs familles d'antibiotiques.



Figure 7: ANTIBIOGRAMME

3- Résultats

3.1- Données épidémiologique

3.1.1- Répartition mensuel des hémocultures positives

Au cours de la 1 année, le laboratoire de bactériologie de CHU HASSAN II de Fès a reçu 435 hémocultures positives provenant des divers services. La répartition mensuelle des hémocultures positives est présentée dans la figure suivante :

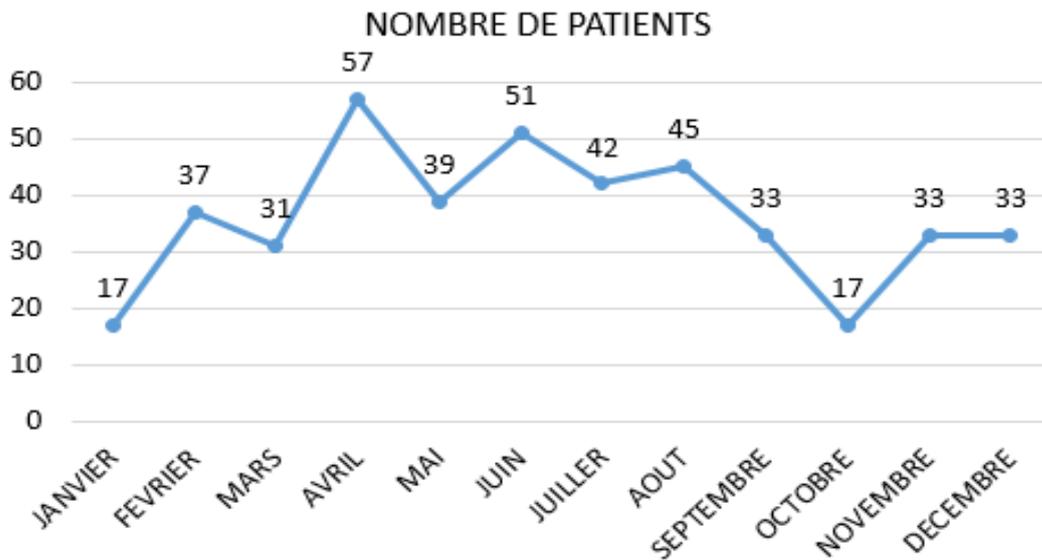


Figure 8: RÉPARTITION MENSUELLE DES HÉMOCULTURES POSITIVES DE L'ANNÉE 2021.

D'après les résultats obtenus, on a constaté que le taux le plus élevé des hémocultures positives a été enregistré en mois d'avril. Alors que le taux le plus faible des hémocultures positives a été enregistré en mois d'octobre et janvier.

3.1.2- Répartition des hémocultures positives selon l'âge

Le tableau suivant présente la répartition des hémocultures positives selon l'âge des patients :

Tableau 2: TAUX DES HÉMOCULTURES SELON L'ÂGE.

Classe d'âge (ans)	EFFECTIF	Taux
[0;10[125	28,74%
[10;20[35	8,05%
[20;30[64	14,71%
[30;40[44	10,11%
[40;50[58	13,33%
[50;60[43	9,89%
[60;70[45	10,34%

[70;80[11	2,53%
[80;90[10	2,30%
Total	435	100,00%

D’après le tableau, Si l'on répartit la population d'étude selon l'âge, on se rend compte que la tranche [0-10[ans est la plus représentée avec un pourcentage de 28,74%, suivi par la tranche [20;30[ans avec un pourcentage de 14,71%, puis la tranche [40;50[ans avec un pourcentage de 13,33%, 10,34% pour la tranche [60;70[ans, suivi par la tranche [30;40[ans avec un pourcentage de 10,11%, 9,89% chez la tranche [50;60[ans, puis 8,05% pour la tranche [10;20[ans, par contre les patients qui âgées c.à.d. leurs âge est [70;80[et [80;90[représentes un taux de positivité faible avec des pourcentages respectivement 2,53% et 2,30%.

3.1.3-Répartition des patients selon le sexe

Le tableau suivant présente la répartition des patients selon le sexe :

Tableau 3: RÉPARTITION DES CAS POSITIFS SELON LE SEXE.

SEXE	NOMBRE DES PATIENTS	TAUX
MASCULIN	252	58%
FEMININ	183	42%
TOTAL	435	100%

Tableau 4: RÉPARATION MENSUELLE DES HÉMOCULTURES POSITIVES.

JANVIER		FEVRIER		MARS		AVRIL		MAI		JUN		JULLER		AOUT		SEPTEMBRE		OCTOBRE		NOVEMBRE		DECEMBRE	
M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
13	4	21	16	18	13	35	32	25	14	29	22	25	17	20	25	20	13	9	8	18	15	18	15

Selon cette étude et en se basant sur les résultats représentée dans le tableau 4, on constate bien que les hommes sont les plus touchés par la maladie que les femmes avec un pourcentage de 58% et 42% respectivement.

3.1.4-Répartition des patients positifs selon le service d'hospitalisation

La fréquence des demandes d'examens d'hémocultures durant cette année (2021) diffère d'un service à l'autre. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5: RÉPARTITION DES SOUCHES SELON LES SERVICES.

SERVICE	NOMBRE DE PATIENTS	TAUX
REANIMATION 1	93	21,38%
REANIMATION PEDIATRIQUE	57	13,10%
CARDIOLOGIE	18	4,14%
PEDIATRIQUE 1	40	9,20%
NEPHROLOGIE	48	11,03%
REANIMATION 2	47	10,80%
REANIMATION DIABETIQUE 4	4	0,92%
REANIMATION DIABETIQUE 1	3	0,69%
GASTRO CUTEROLOGIE	11	2,53%
DERMTOLOGIE	11	2,53%
NEUROLOGIE CHIRURGICAL	3	0,69%
GYNECOLOGIE Obstétrique	5	1,15%
NEONATALOGIE	54	12,41%
RHUMATOLOGIE	2	0,46%
MEDCINE INTERNE	22	5,06%
ENDOCRINOLOGIE	1	0,23%
PNEUMOLOGIE	1	0,23%
NEUROLOGIE	1	0,23%
URGENCE PEDIATRIQUE	3	0,69%
URGENCE CHIRURGICAL	2	0,46%
CHIRURGIE VISCERAL 2	3	0,69%
ONCOLOGIE HEMATOLOGIE ADULTE	1	0,23%
CHIRURGIE VISCERAL A	2	0,46%
UROLOGIE	1	0,23%
ONCOLOGIE HEMATOLOGIE ADULTE	2	0,46%
TOTAL	435	100,00%

- La réanimation 1 et 2, réanimation pédiatrique, Néonatalogie, Néphrologie, pédiatrique sont respectivement les services les plus demandeurs.
- Cardiologie, Gastro-entérologie, Dermatologie, Gynécologie-obstétrique, et la Médecine interne présentant une demande moyenne.

- Tandis que, réanimation diabétique 4, Rhumatologie, la chirurgie vasculaire, endocrinologie, l'oncologie, l'urologie, Oncologie hématologie adulte, l'urgence pédiatrique, Neurologie, et la pneumologie restent les moins demandeurs.

3.2-Donnés bactériologique

3.2.1-Profils bactériologique

Les tableaux suivants représentent les différentes micro-organismes isolées en hémocultures pendant l'année 2021.

Tableau 6: CLASSIFICATION DES BACTÉRIES ISOLÉES EN HÉMOCULTURES SELON LEURS POUVOIRS PATHOGÈNES.

MICRO-ORGANISMES	EFFECTIF	TAUX
<i>Bactéries gram positive</i>	191	43,12%
<i>Staphylococcus Coagulase négative</i>	105	23,70%
<i>Staphylococcus Aureus</i>	69	15,58%
<i>Enterococcus</i>	9	2,03%
<i>Streptocoques</i>	8	1,81%
<i>Bactéries gram négatives</i>	244	55,08%
<i>Enterobacteries</i>	124	27,99%
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	59	13,32%
<i>E.coli</i>	40	9,03%
<i>Enterobacteries Cloacae</i>	9	2,03%
<i>Serratia</i>	5	1,13%
<i>Proteus</i>	9	2,03%
<i>Haemophilus influenwae</i>	2	0,45%
<i>Bacilles gram négatifs non fermentant</i>	120	27,09%
<i>Pseudomonas</i>	10	2,26%
<i>Acinetobacter</i>	110	24,83%
<i>Leveurs</i>	2	0,45%
<i>Polymorphe</i>	6	1,35%
TOTAL	443	100,00%

Tableau 7: NOMBRE DES ÉPISODES POLY MICROBIENS ISOLÉS EN 2021.

<i>Episodes polymicrobiens</i>	16	3,55%
<i>Acinetobacter +Klebsiella Pneumoniae</i>	7	1,55%
<i>Acinetobacter + Staphylococcus Coagulase négative</i>	1	0,22%
<i>Acinetobacter+Staphylococcus Aureus</i>	1	0,22%
<i>Staphylococcus Coagulase négative+Bacille gram négative</i>	2	0,44%
<i>Staphylococcus Coagulase négative+Saphylococcus Aureus</i>	2	0,44%

<i>Staphylococcus Coagulase négative+Levures</i>	1	0,22%
<i>Acinetobacter +Proteus</i>	1	0,22%
<i>Bacille gram négative +Proteus</i>	1	0,22%

Tableau 8: RÉPARTITION DES GERMES ISOLÉS EN 2021.

MICRO-ORGANISMES	EFFECTIF	TAUX
BACTÉRIES GRAM POSITIVE	191	43,12%
BACTÉRIES GRAM NEGATIVE	244	55,08%
LEVURES	2	0,45%
POLYMORPHE	6	1,35%
Total	443	100,00%

Durant la période de notre étude, 435 épisodes septicémiques ont été confirmés bactériologiquement : 96,45% étaient monomicrobiens, et 3,55% était polymicrobiens.

On constate que les bactéries gram négatifs ont été les plus isolés avec un taux de 55,08%, 27,99% des *Enterobacteries* (l'espèce *Klebsiella Pneumoniae* occupe le premier rang avec 13,32%, et *E.coli* occupe le deuxième rang avec 9,03%. Une proportion de 2,03% correspondant au *entérobacter cloacae*) et 27,09% des Bacilles gram négatifs non fermentant.

Concernant les bactéries à gram positifs, on a trouvé 43,12%, l'espèce *Staphylococcus coagulase négative* viennent largement en tête (23,70%), *Staphylococcus Aureus* avec un pourcentage de 15,58%.

Durant l'année 2021 qui a fait l'objet de notre étude seulement 2 souches de levures a été isolées et 6 souches polymorphes.

3.3- Étude de la résistance et la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

3.3.1-Etude de la résistance des germes à Gram négatifs aux antibiotiques

Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Klebsiella pneumoniae*:

Le tableau suivant présente le profil de résistance des souches *Klebsiella pneumoniae* :

Tableau 9: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE.

KLEBSIELLA PNEUMONIAE		
RESISTANTE		
ANTIBIOTIQUES	RESISTANTE	TAUX DE RESISTANTE
AMOXICILLINE+ACIDE CLAVULANIQUE	20	33,90%
CEFALOTINE	20	33,90%
CEPHALOSPORINES DE 3 EME GENERATION	2	32,00%
	17(BLSE)	
BACTRIM	10	16,95%

Les souches de *Klebsiella Pneumoniae* (59 souches) présentent une résistance naturelle à l'ampicilline.

Selon les isolats de notre étude on trouve que *Klebsiella Pneumoniae* à acquis d'autres résistances aux antibiotiques qui sont :

L'Amoxicilline +acide clavulanique et la Bactrim avec un pourcentage de 33,90%.

*La Céphalosporine de 3 ème génération avec un pourcentage de 32% (28% pour les souches de *Klebsiella Pneumoniae* Blse et 4% pour les souches de *Klebsiella Pneumoniae*).*

La Céfalotine avec un pourcentage de 6,78%.

Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *E.coli*:

Le tableau suivant présente le profil de résistance des souches *E.coli* :

Tableau 10: NOMBRES ET POURCENTAGE DES RÉSISTANCES DES SOUCHES D'E.COLI.

E. COLI		
RESISTANTE		
ANTIBIOTIQUE	RESISTANTE	TAUX DE RESISTANCE
AMPICILLINE	11	27,50%
AMOXICILLINE+ACIDE CLAVULANIQUE	5	12,50%
CEFALOTINE	2	5,00%
CEFOTAXINE	1	2,50%
BACTRIM	6	15,00%
NORFLOXACINE	1	2,50%

Concernant les 40 isolats d'*E.coli* de notre étude on note une résistance élevée à l'Ampicilline 27,50%, l'Amoxicilline +acide Clavulanique 12,50%, la Bactrim 15%, %. Des résistances moins élevées sont enregistrées avec la Céfalotine 5%, la Céfoxitine, la Norfloxacin.

Profil de résistance aux antibiotiques des souches de Pseudomonas :

Le tableau suivant présente le profil de résistance des souches *Pseudomonas*:

Tableau 11: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES PSEUDOMONAS.

PSEUDOMONAS		
RESISTANTE		
ANTIBIOTIQUE	RESISTANTE	TAUX DE RESISTANCE
ACIDE NALIDIXIQUE	10	100,00%
BACTRIM	10	100,00%
IMIPENEME	4	40,00%
AZTREONAM	5	50,00%
CEFTAZIDIME	5	50,00%
TICARCILLINE	5	50,00%

Les *Pseudomonas* (10 souches) résistent naturellement à plusieurs antibiotiques : Céfalotine (Céphalosporine de 1er génération), céphalosporine de 3ème génération sauf Ceftazidime, l'acide Nalidixique, Bactrim, l'Ertapénème. Au moment où ils sont moins résistants à l'Imipénème avec pourcentage de 40%, 50% pour l'Aztreonam, la Céfazidime et la Ticarcilline, comme il est représenté dans la (tableau 11).

Profil de résistance aux antibiotiques des souches Acinetobacter:

Le tableau suivant présente le profil de résistance des souches d'*Acinetobacter* :

Tableau 12: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES D'ACINETOBACTER.

ACINETOBACTER		
SENSIBLE		
ANTIBIOTIQUES	RESISTANTE	TAUX DE RESISTANTE
COLISTINE	110	100,00%
IMIPENEME	4	3,64%
BACTRIM	8	7,27%
AMIKACINE	11	10,00%
CN	3	2,73%

Les souches d'*Acinetobacter* (110 souches) présentent une sensibilité élevée à la Colistine (sensibilité naturelle).

3.3.2- Étude de la sensibilité des germes à Gram positif

Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Staphylococcus Aureus*:

Le tableau suivant présente le profil de résistance des souches *Staphylococcus Aureus* :

Tableau 13: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS.

STAPHYLOCOQUE AUREUS		
RESISTANTE		
ANTIBIOTIQUES	RESISTANTE	TAUX DE RESISTANCE
PENICILLINE G	69	100,00%
NOFLOXACINE	4	5,80%
ERYTROMYCINE	3	4,35%
ACIDE FUSIDIQUE	3	4,35%
LINCOMYCINE	1	1,45%

Selon les 69 souches des *Staphylococcus Aureus* on constate que les souches ont une résistance élevée avec la *Pénicilline G* à 100%, des résistances moins élevées sont enregistrées avec la *Nofloxacine*, et l'*acide Nalidixique* à 5,80%, L'*Erytromycine*, et L'*Acide Fusidique* avec pourcentage de 4,35%, et 1,45% pour la *Lincomycine*.

Profil de résistance aux antibiotiques des souches *Staphylococcus Aureus* résistant à la *Méticilline*:

Le tableau suivant présente le profil de résistance des souches *Staphylococcus Aureus* résistant à la *Méticilline* :

Tableau 14: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES DE SARM.

SARM		
RESISTANTE		
ANTIBIOTIQUE	RESISTANTE	TAUX DE RESISTANTE
PENICILLINE G	8	100,00%
CEFOXITINE	8	100,00%
LINCOMYCINE	1	12,50%
NORFLOXACINE	8	100,00%
BACTRIM	1	12,50%

La figure ci-dessous (tableau 14) montre une résistance de *SARM* (8 souches) à la Pénicilline G, la Céfoxitine et la Norfloxacine avec un pourcentage de 100%, et une résistance moins élevée à la Lincomycine, et la Bactrim avec pourcentage de 12,50%.

Profil de résistance aux antibiotiques des souches Staphylococcus Coagulase négative :

Le tableau suivant présente le profil de résistance des souches *Staphylococcus Coagulase négative* :

Tableau 15: NOMBRES ET POURCENTAGES DES RÉSISTANCES DES SOUCHES DE STAPHYLOCOCCUS COAGULASE NÉGATIVE.

STAPHYLOCOCCUS COAGULAS NEGATIVE		
RESISTANCE		
ANTIBIOTIQUE	RESISTANTE	TAUX DE RESISTANCE
AMPICILLINE	105	100,00%
PENICILLINE G	105	100,00%
CEFOXITINE	30	28,57%
ERYTROMICINE	10	9,52%
QUINOLONE	10	9,52%
ACIDE FUSIDIQUE	8	7,62%
CN	7	6,67%
BACTRIM	7	6,67%
CEPHALOSPORINE DE 3 EME GENERATION	4	3,81%
LINCOMYCINE	4	3,81%
SPIRAMICINE	2	1,90%

Les souches des *Staphylococcus à Coagulase négative* (105) montrent une résistance très élevée avec la pénicilline G (100%), et l'Ampicilline (100%). Et présente une résistance moins élevée avec la *Cefoxitine* à 28,57%, et des faibles résistances sont enregistrées avec les antibiotiques suivant: *l'Erytromycine*, la *Quinolone*, la *CN*, l'*Acide Fusidique*, la *Lincomycine*, la *Céphalosporine de 3ème Génération* et la *Bactrim*.

4- Discussion des résultats

Les bactériémies sont des affections très graves, responsables d'une mortalité et d'une morbidité significative à travers le monde, il s'agit d'une urgence diagnostique et thérapeutiques et le meilleur outil de diagnostic repose sur la réalisation des hémocultures [16]. Dans notre étude rétrospective qui a été réalisée au niveau du laboratoire de centre hospitalier universitaire(CHU) HASSAN II à Fès pendant une période d'une année (2021-2022), sur un total correspondant à 435 hémocultures positives, ce taux est inférieur par rapport à ceux de l'étude qui a été faite à CHU de FANN DAKAR sur une période de trois ans (1985-1987), sur 988 cas le taux de positivité des hémocultures [17]. Par contre, le taux de positivité de notre étude reste élevé par rapport à ceux de l'étude qui a été faite à laboratoire de bactériologie de L'HMMI à Meknès sur une période de trois ans (2011-2012-2013) sur 88 hémocultures positives [18]. Notre étude montre que le sexe masculin plus dominant que le féminin, cette observation est confirmée par plusieurs études par exemple: l'étude qui a été faite à laboratoire de bactériologie de L'HMMI à Meknès pendant une période de trois ans [18].

Ces fréquences peuvent être expliquées par :

- En immunologie expérimentale, chez la femelle, il faut une moindre quantité d'antigènes pour susciter la synthèse d'anticorps et la demi-vie plasmatique de ceux-ci est longue par rapport que le mâle.
- Chez la femme, Les taux sériques d'anticorps naturels et immuns sont plus élevés que le mâle, en particulier le taux sérique d'IgM ; or c'est le premier anticorps synthétisé en réponse à une simulation antigénique.
- Le nombre de granulocytes circulants est plus élevé chez la femme que chez l'homme à l'âge adulte.
- Existence de différences de l'immunité humorale pendant la naissance qui sont renforcées après la puberté par les œstrogènes [19].

D'après notre étude, on constate que la septicémie touche plus les nouveau-nés d'âge compris entre 0 et 5 ans, et cette observation est confirmée par plusieurs études, on cite par exemple: L'étude qui a été faite à l'hôpital universitaire à Mahajanga Madagascar pendant la période de 18 mois allant du juillet 2017 jusqu'au décembre 2018 [20].

Notre étude montre que les services qui ont le plus fort pourcentage de positivité des hémocultures sont ceux du Réanimation avec un pourcentage de 21,38%, suivi par la Réanimation pédiatrique et la Néonatalogie par des taux respectifs de 13,10% et 12,41% souches, le taux le plus faible est enregistré au service de Dermatologie

(2,53%), pneumologie (0,23%), et aussi Neurologie, Endocrinologie au même pourcentage. Par contre un l'étude réalisée par Dr Rivo RAKOTOMALALA indique un taux élevé de 54% dans la pédiatrie et de 4% à la Gynécologie-obstétrique [21].

Tous ces résultats sont disparates d'une étude à l'autre, ces différences peuvent être expliquées par la différence de recrutement.

Dans notre étude, la bactériémie est due principalement aux bactéries (99,4%) est rarement aux levures (0,45%), cette observation est confirmée par plusieurs études, comme celle de Salou et al pendant l'année 2004 et aussi de Bauda et al dans un même année, Séko koné en 2009 rapportant des taux proches: 1% 6%, 0,1% concernant les levures. [22] [23] [20].

Le profil bactériologique dans notre étude était marqué par une légère prédominance des bactéries gram négatives qui représentaient (55,08%), par rapport aux bactéries à gram positives (43,12%), avec notamment les polymorphes (1,35%).

Globalement le profil bactériologique des isolats a été marqué par une prédominance des bactéries à gram négatives par rapport aux bactéries à gram positives.

L'étude qui est faite à chu de Fann Dakar sur une période de trois ans est différentes à ces résultats (80% des Bacilles à gram négatif et les cocci à gram positif 17,91%, 1,82% des Bacilles à gram positif), par contre n'a aucun Épisode polymicrobien et les coccobacilles [17].

Pour les bactéries gram négatifs, les bactéries les plus isolées sont les Entérobactéries 27,99% (l'espèce *Klebsiella Pneumoniae* occupe le premier rang avec 13,32%, et *E.coli* occupe le deuxième rang avec 9,03%. Une proportion de 2,03% correspondant au *Enterobacter Cloacae*) et 27,09% des Bacilles gram négatifs non fermentants.

Concernant les bactéries à gram positifs, l'espèce *Staphylococcus a coagulase négative* viennent largement en tête (23,70%), *Staphylococcus Aureus* avec un pourcentage de 15,58%.

Par contre une autre étude qui réalisée par Rajae MAMAN (étude rétrospective au sein de laboratoire de L'HMMI durant une période de trois années) qui trouve pour les cocci gram négatif, 33% des *Staphylococcus à coagulase négative*, *Staphylococcus Aureus* .17%, et pour les Bacilles à gram négatif la plupart des souches isolées sont 16% *E.coli*, *Klebsiella Pneumoniae* 2%, et 6% des épisodes polymicrobiens [18].

Concernant le profil de résistance, l'évolution de la sensibilité bactérienne, se caractérise par l'apparition plus ou moins rapide de nouveaux facteurs de résistance, ce constat a été rapporté également par différents études nationales et internationales [24].

Nous avons entrepris travail pour définir le profil bactériologique des septicémies et déterminer l'évolution de la résistance des principaux germes aux antibiotiques.

Pour la résistance de E.coli, notre étude a montré des taux de résistance important pour l'Ampicilline(27,50%), la Bactrim (15%), l'Amoxicilline +Acide Clavulanique à 12,5% et une résistance faible à la Céfalotine à 5% et pour la Céfoxitine, Noofloxacin, Ticarcilline, restent les antibiotiques de choix.

Ces résultats superposables à ceux de l'étude qui faire à CHU de tizi Ouzou pendant l'année 2018, qui trouve les souches d'E.coli caractérise par une résistance important à l'Ampicilline (93,40%), et l'Amoxicilline (84,20%), et des résistances nulles à la Colistine et la Cefoxitine.

Dans notre étude, nous avons noté un profil de résistance des souches isolées de *Klebsiella Pneumoniae* à L'Amoxicilline + Acide Clavulanique, et à la Céfalotine (33,99%), Céphalosporine de 3ème Génération avec de taux 32% (28% correspondant à la *Klebsiella Pneumoniae* BLSE), et 16,95% pour la Bactrim.

Ces résultats sont proches à l'étude réalisée au sein de laboratoire de chu de tizi ouzou durant l'année 2018, qui trouve que les souches des *Klebsiella Pneumoniae* ont une résistance très élevée avec les antibiotiques de Céphalosporines de 1 Génération à 97.2%, les %), Céphalosporine de 3ème Génération 85% à 90%, L'Amoxicilline + Acide Clavulanique à 69.7% [29].

Les souches de *Pseudomonas Aeruginosa* isolées se sont révélées résistantes aux principaux antibiotiques utilisés comme l'Imipénème et l'Aztreonam, la Céfalotine représentent des taux respectifs de 40%, 50% et 10%. Alors que des résultats basés sur les pourcentages de résistance des bactéries aux antibiotiques au laboratoire de microbiologie de l'hôpital international et universitaire CHEIKH ZAID à Raba (*Pseudomonas aeruginosa* résistant au ciprofloxacine et l'imipénème était, respectivement, de 27,27 et de 9,09%) [7].

Concernant le profil de résistance d'Acinetobacter, on a noté que les germes sont sensibles 100% à la Colistine, 10% à l'Amikacine, 7,27% à la Bactrim, L'Imipénème avec un taux de 3,60%. Dans une étude faite au Maroc, Berrezouk a retrouvé des mêmes résultats : une résistance totale à la gentamicine et une résistance 83% à la Colistine [7].

Les staphylocoques: staphylococcus auteurs est responsable de plusieurs pathologies infectieuses allant de la colonisation au choc septique et responsable aussi d'infections

sévères chez les enfants par la sécrétion de leucocidine de Panton et Valentine (PVL), qui est un facteur de virulence toxinique majeur. Ainsi que Staphylocoques à coagulase négative sont couramment impliqués au cours des infections nosocomiales ou associées aux soins, en particulier sur matériel (bactériémies sur cathéter, endocardites sur prothèse, infections de site opératoire) pour cela on a noté les souches de staphylococcus à coagulase négative chez les personnes infectées (Non immunodéprimés, pas des nouveau-nés) des souches négatives. Dans notre étude la pénicilline reste l'antibiotique le moins actif vis-à-vis des souches de staphylocoque (résistant à 100%), cette tendance a été confirmée en différents points du pays (AARN résistance de 94%), ceci est due au fait qu'elles produisent des pénicillinases et développent une résistance croisée entre les pénicillines M (Méticilline, oxacilline) et les autres bêta-lactamines. Cette observation est confirmée par plusieurs études, comme l'étude qui a été faite durant l'année 2018 au laboratoire de microbiologie au centre hospitalier et universitaire Nedir Mohamed de Tizi Ouzou [29].

Dans notre étude, on a trouvé quatre souches sauvages et elle dominé par *E. COLI* (75%) et 26% des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (*EBLSE*). Contrairement aux études faites dans d'autres laboratoires, en effet, une étude a montré qu'il n'existe aucune souche sauvage, et Les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (*EBLSE*) représentaient 12,5% [20]

Quant aux bactéries *Staphylococcus Aureus*, la résistance à la *meticilline* était 8,24% (*SARM*), ce qui était différente du cas rapporté en France en 2018 (19%) [25]. La fréquence d'isolement des *SARM* dans notre étude reste faible (8,24%), ceci est dû au faible taux d'isolement des *Staphylocoques* comparativement avec les entérobactéries productrices de BLSE.

Conclusion

Les septicémies tiennent une place très importante dans le spectre des infections diagnostiquées à l'hôpital universitaire (CHU) HASSAN II de Fès, associées à une forte mortalité et morbidité. Elles touchent toutes les tranches d'âge et la plupart des services, leur diagnostic doit être précis et plus rapide, et cette L'étude rétrospective des hémocultures positives du laboratoire de bactériologie du CHU HASSAN II à Fès pendant l'année 2021 révèle que :

- ✓ 435 hémocultures positives.
- ✓ Selon l'identification des microorganismes, on a trouvé qu'une prédominance des bactéries gram négatives par rapport aux bactéries gram positives et le germe le plus isolé est l'acinetobacter, suivi par Staphylococcus Coagulase négative, puis Staphylococcus Aureus, Klebsiella Pneumoniae, et E.coli . Avec une présence rare des levures (0,45%).

Concernant la résistance bactérienne :

- ✓ Les entérobactéries présentent une forte résistance aux bêtalactamines et une faible résistance aux carbapénèmes et céphalosporinases.
- ✓ Les Staphylococcus Aureus possèdent une résistance important au pénicillines G, et une résistance faible au la ménicilline.
- ✓ Les Staphylococcus Coagulase négatives sont fortement résistantes aux pénicilline G et Ampicilline, par contre elles sont faiblement résistantes aux la céfoxitine.
- ✓ Quatre souches sauvages a été trouvé.

L'hémoculture est une méthode bien adaptée, elle permet la croissance des micro-organismes avant leur isolement pour les identifier et tester leurs sensibilités aux antibiotiques, mais parfois il existe des contaminants habituels ce qui rend parfois l'interprétation difficile.

Cette étude rétrospective a rapporté l'épidémiologie des patients atteints de septicémie à CHU HASSAN II à Fès, les résultats obtenus mettent en évidence la nécessité d'investir davantage dans le diagnostic et la surveillance épidémiologique des septicémies afin d'optimiser la prise en charge thérapeutique des patients et améliorer nos statistiques.

Références

- [1] T. S. S. N. M. Taniguchia T, High positivity of blood cultures obtained within two hours after shaking chills, *Int J Infect Dis*, 2018.
- [2] M. A. D.-T. F. T. B. S. M. S. M. e. a. Sangare SA, Evaluation du test de dépistage de *Streptococcus pneumoniae* Binax NOW® ICT à partir des hémocultures réalisées chez les enfants atteints d'infections bactériennes invasives à Bamako au Mali, *Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie*, 2014.
- [3] A. contrepois, «Naissance de l'hémoculture,» *La revue de praticien*, vol. 45, pp. 942-947, 1995.
- [4] Z. M, «Vers la découverte des streptocoque: les travaux de deux médecins,» université Louis Pasteur, Strasbourg, 1993.
- [5] A. J. O. D. LOULERGUE J, *Etude des produits pathologiques: Hémocultures*, Editions SIMEP, 1987.
- [6] r. C, La septicémie. In: Chassagne P, Frioucourt P, Gonthier R, Jeandel C, Nourhashémi F, Pfitzenmeyer P, Belmin J, *Gériatrie. Gériatrie*, Masson. Paris.
- [7] M. Allan R. Tunkel, «Bactériémie-maladies infectieuses,» [En ligne]. [Accès le 17 03 2017].
- [8] E. b. M., «, Bactériémies en réanimation: Epidémiologie, traitement et évolution. Thèse de doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad,» Marrakech.
- [9] E. M., «Hémoculture: profil bactériologique de sensibilité aux antibiotiques. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Mohamed V,» Rabat, Maroc.
- [10] M. Ilan R. Tunkel, «Bactériémie-maladies infectieuses. PhD, Brown University.,» 2017.
- [11] G. J.-B. B. G. e. a. Lavigne J-P, «Etude de souches de *Stenotrophomonas maltophilia* sécrétrices de BLES : détection de CTX-M et étude de la virulence».
- [12] M. C. P. a. p. H. Grappin, «Bêtalactamines. EMC,» 2007.
- [13] F. J. L. e. A. J. L, *Bactériologie générale et médicale*, Paris: Ellipses, 2002.
- [14] R. A. d. s. d. l. r. d. b. a. Antibiotiques, *STANDARDISATION DES TESTS DE SENSIBILITES AUX ANTIBIOTIQUE A*, 2014.
- [15] «microbiologie-clinique,» [En ligne]. Available: <https://microbiologie-clinique.com/Coloration-Gram.html#Composition>.
- [16] J. M. D. D. T. C. S. D. V. G. Karlowky J.A, «Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood,» United States, 2002.
- [17] F.-N. M. M. E. B. C. M. N. C. S. M. M. Sow A.I, «Le taux de positivité des hémocultures,» Dakar, 1997.
- [18] R. MAMAN, «PROFIL EPIDEMIOLOGIQUE DES BACTERIEMIES A L'HOPITAL MILITAIRE MY ISMAIL DE MEKNES.,» Meknès, 2015.
- [19] «INTRODUCTION - microcsb.net,» [En ligne]. Available: <https://microcsb.net/IMG/pdf/ibrahim.pdf>.
- [20] F. I. R. e. a. Rivo RAKOTOMALALA, «Profil Bactériologique des Hémocultures à L'hôpital Universitaire à Mahajanga, Madagascar,» Mahajanga, 2020.
- [21] D. S. E. D. A.-m. I. M. ., N. Y. T. S. Salou M, «ASPECTS EPIDEMIOLOGIQUES ET BACTERIOLOGIQUES DES HEMOCULTURES AU CHU-SYLVANUS OLYMPIO DE LOME /TOGO,» 2010.
- [22] C. C. R. C. Baudat V, «Revue des hémocultures positives sur deux ans à l'hôpital cantonal de Fribourg. *Med Suisse*,» 2005.
- [23] S. K. M, «Bilan de sept (7) ans d'hémoculture en milieu hospitalier pédiatrique de Bamako,» 2009.
- [24] A. Safaâ, «EPIDEMIOLOGIE DE LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES AU CHU DE MARRAKECH,» 2016.
- [25] a. a. K. Diallo, «Gestion des bactériémies et fongémies par des infectiologues en France et en Allemagne,» 2018.

- [26] K.-N. T. O. S. K.-E. C. K.-N. A. ., D. M. .. Kouadio Allou F, «Apport du Bact/ALERT 3D dans le diagnostic des septicémies et étude des bactéries isolées,» *Revue Bio-Africa*, pp. 13-19, 2010.
- [27] S. A. N, «Fréquence et marqueurs épidémiologiques de klebsiella pneumoniae ans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse de doctorat en sciences.,» 2011.
- [28] N. M. P. L. S. H. Sjøgaard M, Blood culture status and mortality among patients with suspected community-acquired bacteremia: a population-based cohort study., *BMC Infect Dis*, 2014.
- [29] KOUSSA WISSEM, « Germes isolés en hémocultures et leurs résistances aux antibiotiques au niveau du chu Nedir mohmed de tiwi ouzou. Thèse de doctorat en sciences.,» 2018.