Ministère de l'Education Nationale

République du Mali

Université de Bamako

Un peuple Un but Une foi

Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Année Universitaire 2004-2005

Thèse N°....../ 2005

TITRE

BACTERIES ISOLEES DES HEMOCULTURES AU LABORATOIRE DU CENTRE NATIONAL HOSPITALIER ET UNIVERSITAIRE HUBERT KOUTOUKOU MAGA DE COTONOU

Thèse présentée et soutenue publiquement le/2005 devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie par :

M. SOUDE Séna Gbénou Adébola Arnaud

Pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie Diplôme d'Etat.

Jury

<u>Président</u>: Professeur Moussa Youssoufa MAÏGA

<u>Membres</u>: - Dr Souleymane DIALLO

- Dr Daouda Kassoum MINTA

<u>Directeur de thèse</u>: Professeur Flabou BOUGOUDOGO

Co-Directeur : Professeur Sévérin Yèhouenou ANAGONOU

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2004-2005

ADMINISTRATION

DOYEN: MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR

1 er Assesseur : Massa Sanogo – Maitre de Conferences

2^{ème} ASSESSEUR : **GANGALY DIALLO** – MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

<u>SECRETAIRE PRINCIPAL</u>: **YENIMEGUE ALBERT DEMBELE** – MAITRE DE

CONFERENCES AGREGE

<u>AGENT COMPTABLE</u>: **MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL**-CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA : Ophtalmologie

Mr Bocar SALL : Orthopédie Traumatologie Secourisme

Mr Souleymane SANGARE : Pneumo-phtisyologie

Mr Yaya FOFANA : Hématologie

Mr Mamadou L. TRAORE : Chirurgie générale

Mr Balla COULIBALY : Pédiatrie

Mr Mamadou DEMBELE : Chirurgie Générale Mr Mamadou KOUMARE : Pharmacognosie

Mr Mohamed TOURE : Pédiatrie

Mr Ali Nouhoum DIALLO : Médecine Interne Mr Aly GUINDO : Gastro-Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. ET PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE : Chirurgie Générale Mr Sambou SOUMARE : Chirurgie Générale

Mr Abdou Alassane TOURE : Orthopédie Traumatologie, Chef de D.E.R

Mr Kalilou OUATTARA : Urologie

Mr Amadou DOLO : Gynéco-obstétrique

Mr Alhousseini Ag MOHAMED : O.R.L.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO : Ophtalmologie
Mr Djibril SANGARE : Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE dit DIOP : Chirurgie Générale

Mr Abdoulaye DIALLO : Anesthésie – Réanimation

Mr Gangaly DIALLO : Chirurgie Viscérale Mr Mamadou TRAORE : Gynéco-obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïda SOW : Gynéco-obstétrique Mr Salif DIAKITE : Gynéco-obstétrique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE : Gynéco-obstétrique

Mr Sadio YENA : Chirurgie Générale et Thoracique

Mr Filifing SISSOKO : Chirurgie Générale
Mr Issa DIARRA : Gynéco-obstétrique
Mr Youssouf COULIBALY : Anesthésie – Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO : Oto-Rhino-Laryngologie

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mme Diénéba DOUMBIA : Anesthésie –réanimation

Mr Mamadou L. DIOMBANA : Stomatologie

Mr Sékou SIDIBE : Orthopédie –Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO : Anesthésie –Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY : Orthopédie – Traumatologie

Mme TRAORE J. THOMAS : Ophtalmologie

Mr Nouhoum ONGOIBA : Anatomie et chirurgie Générale

Mr Zanafon OUATTARA : Urologie

Mr Zimogo Zié SANOGO : Chirurgie Générale

Mr Adama SANGARE : Orthopédie –Traumatologie Mme TOGOLA Fanta KONIPO : Oto- Rhino- Laryngologie

Mr Sanoussi BAMANI : Ophtalmologie Mr Doulaye SACKO : Ophtalmologie

Mr Ibrahim ALWATA : Orthopédie –Traumatologie

Mr Lamine TRAORE : Ophtalmologie

Mr Mady MAKALOU : Orthopédie – Traumatologie

Mr Aly TEMBELY : Urologie

Mr Niani MOUNKORO : Gynéco- Obstétrique

Mr Tiemoko D. COULIBALY : Odontologie Mr Souleymane TOGORA : Odontologie

Mr Mohamed KEITA : Oto- Rhino- Laryngologie

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO : Chimie Générale et Minérale Mr Bréhima KOUMARE : Bactériologie- Virologie (OMS)

Mr Siné BAYO : Anatomie-Pathologie- Histo-embryologie

Mr Yéya T. TOURE : Biologie (OMS)

Mr Amadou DIALLO : Biologie

Mr Moussa HARAMA : Chimie Organique

Mr Ogobara DOUMBO : Parasitologie –Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE : Chimie Organique

Mr Anatole TOUNKARA : Immunologie, **Chef de D.E.R.**

Mr Amadou TOURE : Histo- embryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO : Bactériologie- Virologie

Mr Amagana DOLO : Parasitologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M. CISSE : Biologie
Mr Abdourahamane S. MAIGA : Parasitologie
Mr Adama DIARRA : Physiologie
Mr Mamadou KONE : Physiologie

Mr Massa SANOGO : Chimie Analytique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE : Biologie

Mr Sékou F. M. TRAORE : Entomologie médicale

Mr Abdoulaye DABO : Malacologie, Biologie Animale

Mr Abdourahamane TOUNKARA : Biochimie

Mr Ibrahim I. MAIGA : Bactériologie-Virologie

Mr Moussa Issa DIARRA : Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE : Biologie
Mr Bouréma KOURIBA : Immunologie

Mr Souleymane DIALLO : Bactériologie-Virologie
Mr Cheik Bougadari TRAORE : Anatomie-Pathologie
Mr Lassana DOUMBIA : Chimie Organique

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY : Hématologie Mr Mahamadou A. THERA : Parasitologie

Mr Mangara M. BAGAYOKO : Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Guimogo DOLO : Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Abdoulaye TOURE : Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Djibril SANGARE : Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Mouctar DIALLO : Biologie-Parasitologie

Mr Bokary Y. SACKO : Biochimie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY : Médecine Interne
Mr Mamadou K. TOURE : Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA : Néphrologie

Mr Baba KOUMARE : Psychiatrie, Chef de D.E.R.

Mr Moussa TRAORE : Neurologie
Mr Issa TRAORE : Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA : Pédiatrie

Mr Hamar A. TRAORE : Médecine Interne Mr Dapa Aly DIALLO : Hématologie

Mr Moussa Y. MAIGA : Gastro-Entérologie-Hépatologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE : Pédiatrie

Mr Bah KEITA : Pneumo-Phtisiologie

Mr Boubakar DIALLO : Cardiologie

Mr Somita KEITA : Dermato-Leprologie Mr Abdel Kader TRAORE : Médecine Interne

Mr Siaka SIDIBE : Radiologie

Mr Mamadou DEMBELE : Médecine Interne

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamady KANE : Radiologie

Mme Tatiana KEITA : Pédiatrie

Mme TRAORE Mariam SYLLA : Pédiatrie

Mr Adama D. KEITA : Radiologie

Mme SIDIBE Assa TRAORE : Endocrinologie

Mme Habibatou DIAWARA : Dermatologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE : Psychiatrie

Mr Bougouzié SANOGO : Gastro-Entérologie

Mr Saharé FONGORO : Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY : Psychiatrie
Mr Kassoum SANOGO : Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE : Cardiologie
Mr Mahamadou B. CISSE : Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA : Psychiatrie

Mme DIARRA Assétou SOUCKO : Médecine Interne

Mr Boubacar TOGO : Pédiatrie
Mr Mahamadou TOURE : Radiologie
Mr Idrissa CISSE : Dermatologie
Mr Mamadou B. DIARRA : Cardiologie

Mr Anselme KONATE : Hépato-Gastro-Entérologie Mr Moussa T. DIARRA : Hépato-Gastro-Entérologie

Mr Souleymane DIALLO : Pneumologie Mr Souleymane COULIBALY : Psychologie

Mr Daouda K. MINTA : Maladies Infectieuses
Mr Soungalo DAO : Maladies Infectieuses

Mr Cheïck Oumar GUINTO : Neurologie D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE : Toxicologie

Mr Gaoussou KANOUTE : Chimie Analytique, Chef de D.E.R.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ousmane DOUMBIA : Pharmacie Chimique Mr Drissa DIALLO : Matières Médicales

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA : Législation
Mr Elimane MARIKO : Pharmacologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bénoit KOUMARE : Chimie Analytique

Mr Alou KEITA : Galénique
Mr Ababacar MAIGA : Toxicologie
Mr Yaya KANE : Galénique

5. ASSISTANTS

Mme Rokia SANOGO : Pharmacognosie Mr Saïbou MAIGA : Législation

Mr Ousmane KOITA : Parasitologie Moléculaire Mr Boubacar TRAORE : Immunologie-Pharmacologie

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA : Santé Publique, Chef de D.E.R.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Moussa A. MAIGA : Santé Publique

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE : Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE : Santé Publique Mr Adama DIAWARA : Santé Publique Mr Hamadoun SANGHO : Santé Publique Mr Massambou SACKO : Santé Publique Mr Alassane A. DICKO : Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Samba DIOP : Anthropologie Médicale

Mr Seydou DOUMBIA : Epidémiologie Mr Oumar THIERO : Biostatistique

6. CHARGES DE COURS ET ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA : Botanique
Mr Bouba DIARRA : Bactériologie
Mr Salikou SANOGO : Physique
Mr Boubacar KANTE : Galénique
Mr Souleymane GUINDO : Gestion

Mme DEMBELE Sira DIARRA : Mathématiques

Mr Modibo DIARRA : Nutrition

Mme MAIGA Fatoumata SOKONA : Hygiène du milieu

Mr Mahamadou TRAORE : Génétique Mr Yaya COULIBALY : Législation

7. ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr Doudou BA : Bromatologie
Pr Babacar FAYE : Pharmacodynamie
Pr Eric PICHARD : Pathologie Infectieuse

Pr Mounirou CISS : Hydrologie Pr Amadou DIOP : Biochimie



< Tremble devant le Seigneur, ô terre!</p>
Devant le dieu de Jacob, qui change le Rocher en étang, le roc en source D'eaux. > >

Psaume 114 V 7-8.

<< Non pas à nous, Eternel, non pas à Nous, mais à ton nom donne gloire, A cause de ta fidélité.>>

Psaume 115 V 1

Je Te dédie ce travail oh Dieu de miséricorde et de bonté. Tu as protégé mes pas et fais grandir la plante. Gloire à Ton Nom pour toujours.

Ce travail est la consécration de plusieurs années d'étude au cours desquelles désillusion, découragement, échec et succès ont été tour à tour au rendez-vous. Je mesure combien le temps a passé depuis ma première rentrée scolaire et j'ai la nostalgie du petit garçon avide de connaissance que j'étais. Au fil des années, cette impatience s'est quelque peu émoussée mais la soif de connaissance est demeurée intacte.

A mes grands-parents maternels et paternels

In memorium

A ma tante Justine

In memorium

A Dona Cédric Mauryl SOUDE mon grand frère

In memorium

A ma mère et à mon père

Vous n'avez jamais perdu confiance en mes capacités et même au creux de la tempête, vous avez toujours gardé la lueur d'espoir. Je pense à votre abnégation et aux sacrifices consentis pour que j'aie accès à la meilleure formation qui soit. Vous avez mis en terre et arrosez avec amour ; Dieu vous bénisse et vous garde encore longtemps près de nous.

Je vous aime.

A Emmanuelle

Tu es restée la grande sœur et tu n'as jamais failli à ton rôle. Nos rêves d'aujourd'hui seront réalités de demain.

A Nadège

Tu as assuré avec amour ton rôle de grande sœur. Reçois par ce travail, le témoignage de tout mon amour.

Que le Dieu d'amour te comble de toute sa grâce.

A Nina

Reçois par ces piètres mots tout mon amour, ma tendresse. Je n'ai pas souvent été le grand frère idéal mais je voudrais que tu saches qu'ensemble nous vaincrons.

Amour fraternel.

A Gérald

La lumière est au bout du tunnel. Nous aurons notre place au soleil. Courage et persévérance.

Amour fraternel.

A Ginette

Les mots ne sauraient être assez expressifs pour te dire la joie que j'éprouve de t'avoir à mes côtés. Reçois ici l'expression de mon amour.

Avec toi pour toujours.

A mes oncles Edouard, Guy, Basile et leurs familles

Vous n'avez jamais rechigné à m'apporter votre aide et votre soutien depuis mes premiers pas dans la vie. Ce travail est aussi le vôtre. Dieu bénisse vos entreprises.

A ma tante Joëlle et sa famille

Vous m'avez accompagné en tout temps malgré les distances, par vos prières et vos conseils ; ce travail est l'exaucement de vos vœux. Bonheur et grâce de la part de notre Seigneur.

A mon Oncle Ebénézer et ma tante Florentine.

Vous avez toujours pensé que la flamme qui devait guider ne saurait être à jamais éteinte. Ce travail est la révélation de vos souhaits. Dieu vous bénisse pour vos prières.

A mon Oncle Benjamin SOUDE et sa famille

Ce travail est le fruit de votre soutien permanent et de vos prières.

A mon Oncle Jean KOUTON et sa famille

Recevez ici l'expression de toute ma gratitude.

A mes tantes Isabelle et Céline

Recevez ici l'expression de mon affection.

A mon cousin Honoré

Tu n'as jamais ménagé tes efforts pour la concrétisation de ce travail. Ce travail est aussi le tien.

A tous mes autres cousins et cousines

C'est le lieu de vous remercier pour votre compréhension et votre soutien dans le chemin qui nous a été tracé. Courage et persévérance.

Aux familles SOUDE et AFFOGNON

Pour vos prières et vos conseils.

A tous les étudiants africains de l'université du Mali.

Afin qu'ils s'arment de courage et d'abnégation pour que notre continent prenne sa place dans l'échiquier mondiale.

A tout le peuple malien

Pour l'hospitalité et la sollicitude.

A la famille FOMBA du point G

Pour la sollicitude de tout instant. Grâce à vous je suis chez moi au MALI.

A Anna N'DIAYE

Tu as fait montre de patience et de beaucoup d'amour malgré mes inconstances. Ce travail est aussi le tien.

A Aïcha ,Carmelle, Nadine, Carène, Carolle, Lisette, Aurore, Raymonde

Pour tout le soutien et les conseils. Brillante carrière à vous

A Hermann, René, Maurice, Laïfoya, Franck, Achille, Wahid

Pour le soutien et l'amitié. Brillante carrière à vous.

A Yasfir, Angelo, Modeste, Wilfried

Beaucoup de persévérance pour le futur

A toute la communauté estudiantine béninoise au Mali

Pour le soutien et la fraternité.

A Josepha BATAKAO

Notre rencontre n'était pas le fruit du hasard car tu m'as ouvert les yeux sur ce qui était ma mission. Ce travail est le fruit de ton soutien indéfectible.

A Achille YABI, William GNAGNELI, Karim COULIBALY, Kodjo GBEGNEDJI

Pour tous les moments de galère que nous avons connus ensemble et pour l'amitié inconditionnelle. Brillante carrière à vous.

A Marie- Ange TANTCHOU

Tu a été en avant garde de la lutte. La motivation et l'abnégation que tu as su m'insufflées m'ont conduit à bon port. Reçois ici tout mon amour et mon amitié.

A Fatou FOFANA, Hamsatou DJERMAKOYE

Nous sommes restés ensemble durant ces dures moments de galère, vous êtes devenues mes sœurs. Courage et abnégation pour vos carrières.

A Dany MOYO, Sandrine NENGOM, Thierry LAMARE, Eudosie FOHOM, Géraldine, Sandrine SARR, Sylviane, Marie-Michèle

Pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble.

A Ilal MAMA DJIMAN

Tu n'as jamais ménagé tes efforts pour que ce travail aille à son terme. Ta générosité ne m'a jamais fait défaut. Beaucoup de courage et de réussite dans tes entreprises.

A Régis MADEGNAN et Serge YEHOUESSI

Pour l'amitié et le soutien moral en tout temps.

A Mme Rosalie SONON

Pour vos prières et votre amour.

A Josiane KAMYU CHATTUAIS

A tous les camarades de promotion

A Cornelia et Patrick GNANSOUNOU

A Madame Marguerite AGOSSOU LESSAR

A Thierry GLITHO

Pour tes conseils et ta disponibilité.

A Césaire AHANHANZO et à Carine

Pour votre amour du travail bien fait sans lequel ce travail ne serait pas réalité. Profonde gratitude.

Au Professeur Achille MASSOUGBODJI

Votre disponibilité et vos conseils m'ont poussé vers l'avant. Ce travail est avant tout le vôtre.

A tout le personnel du service de microbiologie du CNHU-HKM.

Pour l'assistance et les conseils en vue de la bonne réalisation de ce travail. Profonde gratitude.

Au personnel de la Pharmacie DONA

Pour le soutien, les conseils, les sacrifices consentis et vos prières. Profonde gratitude.

A tous ceux qui ont fait de moi l'homme que je suis, en participant de près ou de loin à mon éducation et ma formation.

Profonde reconnaissance.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

.A vous notre maître et président de jury

Pr Moussa Youssoufa MAIGA

Pr titulaire en Hépato-Gastro- Entérologie à la Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie.

Chef de service d'hépato-gastro- Entérologie au CHU gabriel Toure

C'est un honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury. Votre humanisme et votre simplicité nous ont fortement marqué. Qu'il nous soit permi ici de vous exprimer notre profonde gratitude.

. A notre maître et juge

Dr Souleymane Diallo

Maître assistant en bactériologie- virologie à la Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie.

Chef de service du laboratoire du CHU Gabriel Touré

Lieutenant-colonel des forces armées du Mali

C'est avec promptitude que vous avez accepté de juger notre travail. Votre sens du travail bien fait nous a profondément marqué. Recevez ici toute notre reconnaissance

. A notre maître et juge

Dr Daouda Kassoum MINTA

Assistant- chef de clinique à la Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie.

Spécialiste de Maladies infectieuses

Praticien hospitalier au service de maladies infectieuses de l'hôpital du pointG

C'est pour nous un honneur de vous avoir comme juge de notre travail. Malgré vos multiples occupations, vous vous êtes rendu disponible. Recevez ici l'expression de nos hommages respectueux . A notre maître et directeur de thèse Pr Flabou BOUGOUDOGO

Maître de conférence agrégé en bactériologie- virologie à la Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie.

Directeur de l'institut National de recherche en Santé publique

Nous avons apprécié vos qualités scientifiques et pédagogiques durant notre formation à la faculté. Vous avez accepté avec joie de dirigé ce travail. Pour la confiance en nous placée, pour permettre la réalisation de ce travail en dehors de notre cadre de formation, trouvez ici l'expression de notre gratitude.

. A notre maître et co- directeur de thèse Pr Sévérin Yéhouenou ANAGONOU Professeur titulaire de bactériologie-virologie à la faculté des sciences de santé de l'université d'Abomey- Calavi à Cotonou Praticien hospitalier au CNHU de Cotonou

Vous auriez pu être présent ce jour n'eut été vos nos nombreux engagements. Vous nous avez fait l'honneur de conduire ce travail. Grâce à votre accueil, votre disponibilité, vos conseils et votre bienveillance, nous sommes arrivés à bout. Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	2
OBJECTIFS	3
I- <u>GENERALITES</u>	
1- <u>RAPPELS CLINIQUES</u>	5-8
2- <u>HEMOCULTURE</u>	
2-1 <u>Définition</u>	8
2-2 Objectifs-Indications	9
2-3 Réalisation de l'hémoculture	9-17
2-4 Etude bactériologique	18-20
2-5 <u>Résultats- Interprétation</u>	21-23
3- <u>ANTIBIOGRAMME</u>	
3-1 <u>Définition</u>	24
3-2 Principe	24-32
3-3 Choix des antibiotiques en routine au laboratoire	32
3-4 Réalisation de l'antibiogramme	33-40

$\mathbf{II}\textbf{-}\underline{\mathbf{METHODOLOGIE}}$

1- <u>CADRE D'ETUDE</u>	42-45
2- MATERIEL D'ETUDE	45
3- METHODE D'ETUDE	46-51
III- <u>RESULTATS</u>	
1- DONNEES SUR LES PRELEVEMENTS	.53-55
2- FREQUENCE D'ISOLEMENT DES BACTERIES	56-61
3- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES	
LES PLUS ISOLEES	.62-67
IV- <u>COMMENTAIRES</u>	.69-86
CONCLUSION ET SUGGESTIONS	88-91
	02.105
BIBLIOGRAPHIE	.93-105
ANNEXES	

Liste des abréviations

° C degré Celsius

C3a Fraction C₃ du complément

C5a Fraction C₄ du complément

CA- SFM Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

C.N.H.U-HKM Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou MAGA

C.U.G.O Clinique Universitaire de Gynécologie-Obstétrique

E.C.B Examen cyto - bactériologique

g/l Gramme par litre

IL- 1 Interleukine 1

IL- 6 Interleukine 6

IL- 8 Interleukine 8

ml Millilitre

mm Millimètre

O.M.S Organisation Mondiale de la Santé

S.H.I.M.A.S Service d'Hématologie, d'Immunologie et des maladies du sang

TNF-α Tumor Necrosis Factor alpha

INTRODUCTION OBJECTIFS

INTRODUCTION

Les bactériémies, sont une préoccupation permanente pour le clinicien exerçant en milieu tropical. La découverte de la porte d'entrée des bactéries dans l'organisme, la multiplicité des bactéries rencontrées en infectiologie humaine, l'itinéraire thérapeutique des patients, sont des facteurs agravant les états bactériémiques en zone noire africaine; la conséquence immédiate de ces différentes contraintes est la mise en œuvre tardive d'un traitement approprié. La létalité des chocs toxiniques estimée à 40% [4] justifie l'urgence de la prise en charge de ces affections.

La recherche de la bactérie responsable de la bactériémie est le rôle imparti au microbiologiste dans le protocole de diagnostic de l'état bactériémique. L'hémoculture représente l'examen de choix pour le diagnostic étiologique de tout état bactériémique. Sa réalisation suivant un protocole bien codifié, impose souvent des délais de résultats inappropriés à l'urgence médicale que représentent les bactériémies. De plus, l'hémoculture demeure un examen peu demandé par les cliniciens du fait de la qualité du plateau technique, de leur fiabilité et de son coût élevé.[24]

Du fait de la gravité des états bactériémiques, la collaboration étroite entre le clinicien et le microbiologiste s'avère donc une nécessité pour une meilleure prise en charge des états bactériémiques. Nous nous sommes donc intéressés à l'apport du laboratoire de bactériologie- virologie du Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou MAGA de Cotonou dans le diagnostic étiologique des bactériémies.

OBJECTIFS

Les objectifs de cette étude étaient :

- Objectif général

Déterminer les isolats dans les hémocultures au Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou MAGA de Cotonou.

- Objectifs spécifiques

- ♦ Déterminer la fréquence d'isolement des bactéries dans les hémocultures.
- ◆ Préciser le profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées.
- ♦ Analyser les conditions de réalisation des hémocultures.

GENERALITES

1-1 Sang et bactérie

Le sang est un liquide stérile. Cependant, à partir de sites ou de foyers infectieux, différents germes tels que les bactéries, les champignons peuvent être relargués dans le sang.

La présence de bactéries dans le sang ou bactériémie, peut être accompagnée de manifestations cliniques d'une infection grave, notamment de frissons, de fièvre, de signes de toxicité et d'hypotension.

1-2- Physiopathologie

La présence de bactéries dans le système circulatoire déclenche un ensemble de mécanismes dont l'effet sera l'apparition de divers signes cliniques.

L'événement initiateur est la libération par l'agent causal :

- ➤ de débris de paroi : peptidoglycane, acide teïchoïque...
- > d'endotoxines produites par les bacilles à Gram négatif

Ce sont des lipopolysaccharides dont le noyau lipidique central (lipide A) est presque toujours identique d'une bactérie à une autre et constitue la partie toxique de ces molécules.

C'est pourquoi il a été envisagé la possibilité que des anticorps réagissant de façon croisée avec le noyau de l'endotoxine puissent conférer une protection vis à vis d'une grande variété de souches bactériennes.

d'exotoxines.

La cible est à la fois :

- humorale par l'activation du complément avec la libération de C3a et de C5a, et du facteur XII (facteur contact);
- cellulaire par l'activation des monocytes ,macrophages et libération de cytokines (TNF-α, IL1, IL6, IL8...)

Les conséquences biologiques sont :

- l'activation de la coagulation et donc la survenue d'une coagulation intravasculaire disséminée.(C.I.V.D)
- l'activation des neutrophiles qui adhèrent à la fois entre eux et aux endothéliums vasculaires. Ce processus est considéré comme responsable du syndrome de détresse respiratoire aiguë de l'adulte.
- la libération de dérivés de l'acide arachidonique, de radicaux libres, de l'oxygène et d'enzymes lysosomiaux qui suscitent une cytotoxicité au niveau des cellules endothéliales avec fuite capillaire et une vasodilatation. La conséquence clinique est une hypovolémie.
- les multiples médiateurs apparus sous l'action de l'endotoxine concourent à la survenue de lésions endothéliales qui vont ensuite provoquer la libération des mêmes médiateurs. L'intensité et la localisation préférentielle de ces réactions cellulaires à tel ou tel organe conditionnent le stade clinique, la symptomatologie et la réversibilité des lésions. (Figure 1)

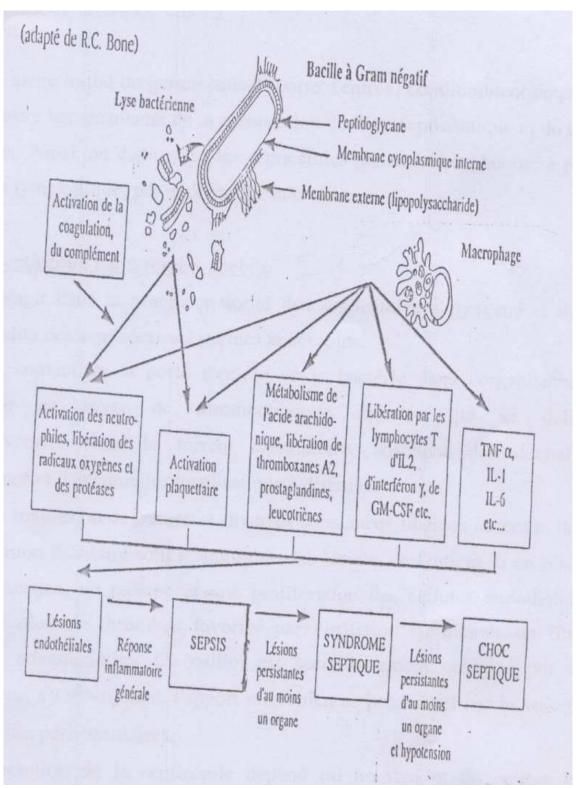


Figure N°1 :Physiopathologie de l'état infectieux[14]

La porte d'entrée du germe causal conditionne, dans une large mesure, le mécanisme de la constitution de l'état septicémique et du choc infectieux et suivant donc le siège initial du germe causal plusieurs types de septicémies sont à noter :

- septicémie thrombo-phlébitique;
- septicémie à point de départ lymphatique ;
- septicémie par endocardite et artérite.

Devant le problème médical que posent les états septicémiques, l'identification de l'agent causal et la recherche du foyer est une étape essentielle dans la prise en charge des états septicémiques. L'exploration diagnostique en laboratoire, devra être complétée par la recherche des sensibilités aux substances antibactériennes, et la surveillance de l'efficacité thérapeutique puisque la vraie maladie n'est pas la présence de bactéries dans le sang mais l'existence d'un foyer qu'il faudra stériliser pour guérir le sujet malade.

2- <u>HEMOCULTURE</u> [34 :48 ;66]

2-1 Définition

Le terme « hémoculture » peut revêtir deux aspects selon le contexte d'utilisation.

En règle générale, l'hémoculture est la technique microbiologique visant à déceler et à identifier des bactéries ou autres microorganismes cultivables sur des milieux appropriés, à partir d'un prélèvement sanguin. Une hémoculture, en langage usuel, correspond à une série de n flacons issus d'une même ponction veineuse.

2-2 Objectifs et indications

L'hémoculture aura deux objectifs :

- un objectif de diagnostic : toute fièvre non expliquée doit faire chercher un état septicémique ; que le tableau soit évocateur ou que la fièvre soit isolée .Une hypothermie majeure ; avec une température inférieure à 36,5° C, doit faire rechercher un état septicémique.
- un objectif thérapeutique : l'isolement et l'identification de la bactérie cliniquement significative, seront complétés par une étude de sa sensibilité à diverses substances antibactériennes pour un ajustement de l'antibiothérapie probabiliste préalablement instaurée par le clinicien, après ou avant le prélèvement sanguin, en fonction du tableau clinique du patient.

2-3 Réalisation de l'hémoculture

2-3-1 Paramètres pré-analytiques

Différents facteurs influent sur la positivité d'une hémoculture.

2-3-1-1 Faible densité bactérienne

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

Les répétitions des cultures permettent de :

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

Le volume de sang prélevé est la variable la plus importante. Plusieurs études révèlent une relation directe entre le volume de sang et le rendement de la technique. Le volume permet une augmentation significative du rendement technique :

- Pour un prélèvement de 20 ml à 40 ml : + 10% de positivité
- Pour un prélèvement de 40 ml à 60 ml : + 19% de positivité

Une augmentation de volume entraîne une augmentation de la sensibilité.

2-3-1-2 Vitalité bactérienne

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

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

La faible densité bactérienne, l'état lésé des corps bactériens, la phagocytose, expliquent que la mise en évidence de la positivité d'une hémoculture est très souvent retardée dans le temps par rapport à la rapidité d'obtention des cultures de repiquage au laboratoire.

2-3-2 Prélèvement sanguin

2-3-2-1 Moment du prélèvement

Le moment du prélèvement est capital. Pour une bactériémie discontinue, la recommandation internationale est en faveur du moment des frissons ou un clocher thermique pouvant correspondre à une décharge bactérienne. Au cours des états fébriles prolongés et inexpliqués, le moment du prélèvement importe peu.

Le prélèvement est effectué avant toute antibiothérapie dans la mesure du possible. Dans le cas contraire, une fenêtre thérapeutique est opérée pour effectuer les prélèvements.

Les prélèvements sont effectués à un intervalle d'environ une heure pour 2 à 3 hémocultures.

2-3-2-2 Volume sanguin

Le nombre de bactéries par ml de sang étant en général faible, il importe de prélever une quantité suffisante de sang.

• Pour l'adulte, 10 ml par ponction veineuse périphérique. La veine du pli du coude est la plus indiquée.

• Chez l'enfant ou le nouveau-né, le volume de sang à prélever doit être déterminé par le médecin traitant. Pour le nouveau-né, il est souvent difficile d'obtenir plus d'1 à 2 ml de sang. Chez l'enfant 2 à 5 ml de sang peuvent suffire.

2-3-2-3 <u>Technique de prélèvement</u>

Le prélèvement doit être effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Il constitue une étape essentielle pour diminuer les contaminations car il faut rappeler que 15 % environ des hémocultures positives sont contaminées lors du prélèvement ; la flore cutanée et environnementale est rendue responsable des contaminations. (Figure N°2)

L'interprétation des résultats devient alors problématique.

2-3-2-3-1 Mode de prélèvement

Les modes de prélèvement sont variables.

- * Des systèmes de prélèvement proposés dans le commerce sont largement utilisés de nos jours. Le système est constitué d'une tubulure munie à chaque extrémité d'une aiguille permettant l'une la ponction veineuse, l'autre l'inoculation des flacons.
- * D'autres utilisateurs emploient simplement une seringue stérile montée avec laquelle ils ensemencent les flacons au lit du malade.
 - * L'utilisation d'un "Veinotube" par certains centres peut être préjudiciable dans la mesure où elle retarde l'ensemencement du sang et augmente les risques de contamination par une manipulation supplémentaire nécessaire.

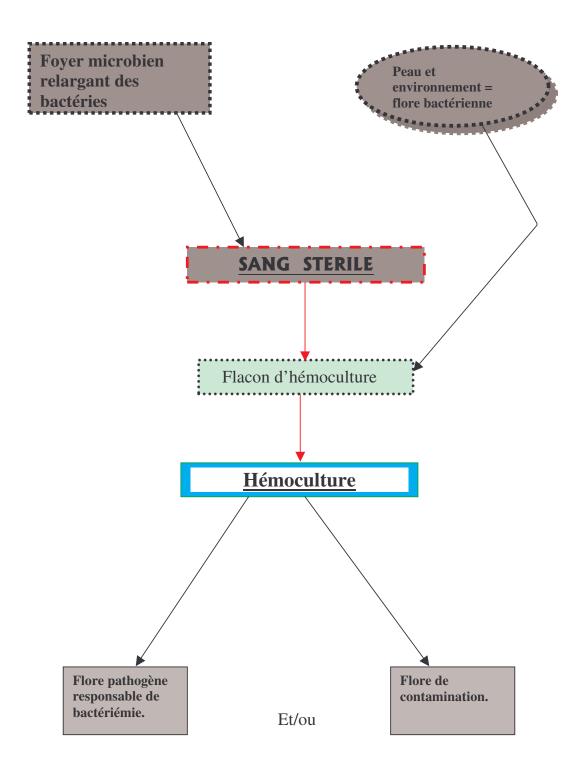


Figure $N^{\circ}2$: Agents bactériens attendus

2-3-2-3-2 Désinfection cutanée

Si les recommandations de l'O.M.S sont précises en matière de ponction veineuse, un accent particulier est mis sur l'antisepsie pour l'hémoculture. L'antisepsie de choix est la teinture d'iode qui est bactéricide.

Pour des sujets présentant une allergie connue à l'iode, l'utilisation du chlorehexidine alcoolique est recommandée. Le choix peut être aussi porté sur la Bétadine dermique® ou à défaut l'alcool iodé.

La peau de la zone de prélèvement ainsi que les doigts du préleveur doivent recevoir deux applications d'antiseptique séparées de deux à trois minutes.

2-3-3 Milieux d'hémoculture

De très nombreux milieux présentés en flacon sous pression réduite, permettant l'ensemencement direct à travers un opercule de caoutchouc, sont proposés par les fabricants.

Pour favoriser la multiplication des corps bactériens en faible densité, captés lors du prélèvement il est nécessaire de procéder à une primo culture.

2-3-3-1 Choix du bouillon

Le bouillon pour hémoculture doit favoriser la croissance des bactéries cliniquement importantes.

Plusieurs bouillons sont utilisés :

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

Un accent est mis sur la quantité de bouillon à ensemencer. Dans l'idéal, l'O.M.S recommande de mélanger le sang avec dix fois son volume de bouillon soit pour 5 ml de sang un équivalent de 50 ml de bouillon.

2-3-3-2 Facteurs de croissance

Certaines bactéries telles que les *Streptocoques* défectifs responsables de certaines endocardites ont des besoins spécifiques pour leur croissance. Aussi, les bouillons doivent être enrichis d'additifs ; ces facteurs sont le plus souvent présents dans le sang du prélèvement.

Quel que soit le milieu, plusieurs additifs sont proposés.

2-3-3-2-1 <u>Atmosphère</u>

La plupart des milieux commercialisés ont une atmosphère enrichie en CO2 et en N2. L'enrichissement en oxygène pour les germes aérobies se fait au moment du prélèvement.

2-3-3-2-2 Anticoagulant

Outre son rôle d'inhibition de la coagulation sanguine, il vise aussi à neutraliser les effets antibactériens du sérum et des phagocytes.

Une concentration à 0,025% limite son effet inhibiteur sur la croissance des *Neisseria* et des *Peptostreptococcus*..

L'anticoagulant habituellement utilisé est le S.P.S : Polyanéthol Sulfonate de Sodium. D'autres anticoagulants tels que le citrate, l'héparine sont aussi utilisés.

2-3-3-2-3 Saccharose

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

2-3-3-2-4Molécules à groupement « thiol » ou « pyridoxal »

Elles favorisent la croissance des bactéroïdes et de certains *Streptocoques* déficients

Le groupement thiol neutralise un certain nombre d'antibiotiques, notamment les aminosides.

2-3-3-2-5 Facteurs de croissance

L'hémine, la vitamine K3, favorisent le développement des bactéries exigeantes et des anaérobies.

2-3-3-2-6 Inhibiteurs d'antibactériens

La pénicillinase inactive les β-lactamines en occurrence les pénicillines. L'acide para-aminobenzoïque neutralise les sulfamides.

Si divers milieux sont proposés, leurs compositions sont le plus souvent l'objet de protection industrielle.

2-3-3-3 Flacons d'hémoculture

2-3-3-3-1 Constitution des flacons

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

2-3-3-2 Typologie des flacons

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

• Flacons aérobies

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

• Flacons anaérobies

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

• Flacons spéciaux

D'autres types de flacons sont proposés en fonction de la clinique du patient par les fabricants.

2-4 Etude bactériologique [66; 34; 48; 31]

Dès réception au laboratoire les flacons doivent être incubés à 35-37°C et inspectés régulièrement.

2-4-1 Détection manuelle

2-4-1-1 <u>Inspection journalière</u>

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

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

La durée d'observation varie de 10 jours à un mois surtout pour les bactéries à culture lente.

Toute positivité d'un flacon entraîne un examen microscopique.

2-4-1-2 Examen microscopique

Devant une croissance visible, le flacon est ouvert aseptiquement et une petite quantité de bouillon est prélevée à l'aide d'une anse stérile ou d'une pipette Pasteur. Un frottis coloré par la méthode de GRAM permet de repérer la présence de germes. Le prélèvement du bouillon peut être exécuté à l'aide d'une seringue montée après désinfection de l'opercule de caoutchouc.

Un examen microscopique est complété par des repiquages sur milieux solides.

2-4-1-3 Repiquage et isolement - Identification

La réalisation des repiquages se fait en ensemençant en stries le contenu d'une anse ou d'une goutte de bouillon prélevée à la seringue, sur des milieux solides appropriés. (Figure N°3)

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

Pour toute détection manuelle, plusieurs systèmes sont aussi utilisés.

- Systèmes Signal : détection de la surpression dans le flacon liée à la croissance bactérienne par passage du bouillon de culture à travers une aiguille fixée dans la partie supérieure du flacon.
- Systèmes Isolator: système de «lyse-centrifugation» permettant de recueillir et de concentrer les micro-organismes à partir du ganglion et des leucocytes. Ce système est performant pour les mycobactéries, les levures à croissance difficile et les champignons filamenteux, les bactéries exigeantes.

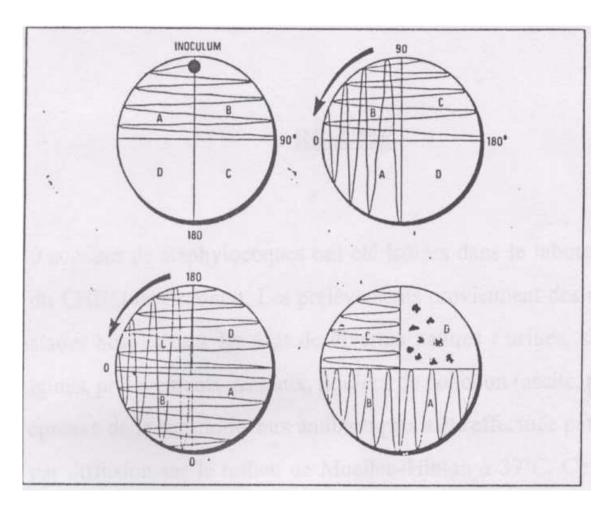


Figure N°3: Technique de l'ensemencement en cadrant [53]

2-4-2 Détection automatisée

Divers automates (Batec 9240, Bio Argos, Bact Alert, Organon Technica) permettent aujourd'hui de détecter les hémocultures positives par la mise en évidence de produits métaboliques générés par la croissance bactérienne.

Ces méthodes permettent un rendu beaucoup plus précoce des résultats. Leur seul inconvénient est le coût onéreux.

Différents systèmes plus sophistiqués sont proposés mais ils n'ont pas fait la preuve évidente d'une supériorité pour la détection de positivité des hémocultures.

2-5 Résultats - Interprétation [31; 41]

Les résultats d'une hémoculture peuvent revêtir deux aspects :

2-5-1 Résultats normaux

Pour confirmer le diagnostic d'une septicémie, il faut s'assurer que toutes les conditions techniques ont été réunies, à savoir : milieux nutritifs stériles, absence d'antibiothérapie, prélèvements effectués au bon moment et de manière rigoureuse, milieux de culture de qualité, atmosphère de CO2, condition d'aérobiose et/ou d'anaérobie.

Par ailleurs, un résultat positif isolé peut être dû à une simple bactériémie physiologique ou encore la traduction d'une contamination exogène du prélèvement par les bactéries de la peau ou de l'air.

2-5-2 Résultats pathologiques

L'interprétation des résultats est parfois délicate et nécessite une étroite collaboration entre le clinicien et le microbiologiste.

Schématiquement, on peut distinguer trois types de résultats :

+ Premier cas

Plusieurs hémocultures pratiquées chez un même patient sont positives et contiennent la même espèce bactérienne. L'interprétation est aisée, le diagnostic de bactériémie pathologique peut être posé et la bactérie considérée comme responsable même si elle n'est pas reconnue comme une bactérie pathogène opportuniste.

Cependant dans certains cas, en fonction de la porte d'entrée, les hémocultures positives peuvent être polymicrobiennes chez un même sujet.

L'interprétation est plus difficile. La localisation du foyer infectieux permet de régler en général le problème. Ils sont surtout observés en cas de cathéters longtemps maintenus en place ou chez les patients immunodéprimés et très souvent chez les agonisants.

+ Deuxième cas

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

- S'il s'agit d'une bactérie pathogène spécifique (B.P.S.), elle peut être considérée comme responsable.
- S'il s'agit au contraire d'une bactérie peu fréquemment retrouvée comme germe de souillure, en l'occurrence les *Enterobactéries*, les *Streptocoques*, elle peut être considérée comme responsable surtout si le foyer infectieux est évocateur ou si le contexte clinique est en faveur de sa responsabilité.
- La bactérie est fréquemment responsable de contamination. Sa responsabilité ne sera admise que si le même germe est découvert au niveau du foyer infectieux ou de la porte d'entrée.

+ Troisième cas

Toutes les hémocultures réalisées sont négatives. Un tel résultat est un bon argument pour éliminer une septicémie, à condition bien sûr que les conditions de réalisation aient été scrupuleusement observées.

Cependant, plusieurs hémocultures peuvent être négatives malgré une clinique évocatrice. Plusieurs causes d'échec peuvent expliquer l'obtention de faux négatifs : prélèvement effectué au mauvais moment ou tardivement, prélèvement fait sous antibiothérapie, quantité insuffisante de sang ensemencé, milieux ou conditions de culture inappropriés, temps d'observation trop court, mauvaise observation des flacons, mauvais choix des conditions de subcultures.

Pratiquée avant toute antibiothérapie, et suivant un protocole rigoureux devant maintenir continuellement une asepsie totale, l'hémoculture constitue l'élément capital du diagnostic d'une bactériémie physiologique ou pathologique. Les résultats de l'hémoculture en cas de positivité doivent cependant être complétés par l'étude de l'activité des substances antibactériennes en vue d'une antibiothérapie en rapport avec la clinique du patient. La confrontation entre les résultats en laboratoire et la clinique s'avère donc indispensable à toutes les étapes du diagnostic.

3- ANTIBIOGRAMME

Dans le processus de diagnostic étiologique d'un état infectieux, l'identification de l'espèce responsable de l'infection est suivie de l'étude de son comportement vis- à -vis des antimicrobiens.

3-1 <u>Définition</u>

L'antibiogramme, se définit comme, l'étude in vitro de la sensibilité d'une bactérie responsable d'une infection, aux substances antibactériennes.

3-2 Principe de l'antibiogramme [66]

L'étude de la sensibilité aux substances antibactériennes, permet de mesurer leur capacité à inhiber la croissance bactérienne ou microbienne in vitro. Cette capacité peut être estimée à l'aide de deux méthodes.

3-2-1 Méthode par dilution

Les méthodes par dilution sont effectuées en milieu liquide ou solide. Des dilutions croissantes de l'antibiotique; selon une progression géométrique de raison 2, sont mises en contact avec un inoculum standardisé de la bactérie identifiée et ensuite incorporées dans du bouillon ou de la gélose.

En milieu liquide comme en milieu solide, l'estimation quantitative de l'activité antibiotique passe par la détermination, après incubation de 24 heures, de la concentration la plus faible empêchant toute croissance bactérienne ou microbienne. Cette concentration est connue sous le nom de Concentration Minimale Inhibitrice du médicament (C. M. I).

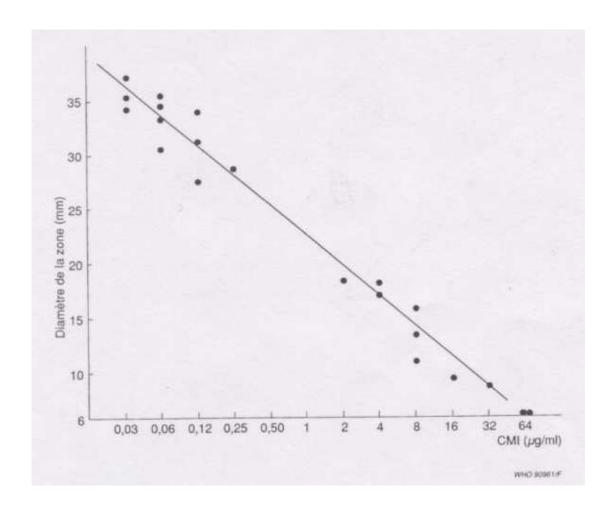
Cette C. M. I est ensuite comparée avec des concentrations connues du médicament mesurées dans le sérum et les autres liquides organiques, afin d'estimer la réponse clinique probable. Dans la pratique, ces méthodes sont de mise en œuvre délicate et/ ou onéreuse. Elles sont réservées à des laboratoires spécialisés.

3-2-2 Méthode par diffusion

Les méthodes par diffusion ou antibiogramme standard, sont les plus utilisées par les laboratoires cliniques. Elles consistent à disposer des disques de papier buvard imprégnés de concentration déterminée d'antibiotiques à la surface d'un milieu gélosé, lequel aura été préalablement ensemencé de manière uniforme avec une culture pure du germe à tester. Dès l'application des disques, l'antibiotique diffuse à partir du disque de manière uniforme dans la gélose.

Après incubation à 37°C, durant 18 à 24 heures, les disques s'entourent ou non de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture.

En effet, la culture est inhibée lorsqu'elle rencontre dans la gélose, une concentration égale à la C.M.I mesurée par la méthode par dilution. Cependant, il existe une relation approximativement linéaire, entre le log de la C.M.I et le diamètre de la zone d'inhibition observé dans la méthode par diffusion. (Figure N°4)



<u>Figure N°4</u>: Graphic representation of the relationship between log₂MIC and the inhibition zone diameter obtained by the diffusion test using discs containing a single concentration of antimicrobial [66]

3-2-2-1 Loi de la diffusion en gélose [31]

Tout agent antimicrobien déposé au contact d'une gélose, s'y diffuse spontanément en créant un gradient de concentration.

Il apparaît intuitivement que ce phénomène dépend d'un certain nombre de paramètres intrinsèques dont la charge de la source, la diffusibilité de la molécule dans le milieu, le temps écoulé et la distance à l'origine.

Cooper et Woodman ont établi une équation traduisant cette relation :

$$X^2 = 4 DT (Log C_0 - Log C)$$

Avec:

• X : distance de progression depuis l'origine ;

• D : constante de diffusion de la molécule d'antibiotique ;

• T : temps d'observation;

• C_0 : concentration de la source;

• C : concentration à la distance x.

Expérimentalement, Cooper et Woodman ont montré comment le gradient de concentration tend progressivement au cours du temps à trouver un profil d'équilibre.

Pour une étude de sensibilité, C est l'inconnue que la mesure de X permet d'apprécier selon la formule :

$$X^2 = 4 DT (log C_0 - log C)$$

D, T et C₀ sont des constantes dans les conditions de l'expérience.

3-2-2-2 Dynamique de la formation de la zone d'inhibition

L'antibiogramme par la méthode de diffusion peut être considéré comme une compétition de vitesse entre la diffusion de l'antibiotique et le développement bactérien. Une bordure de zone d'inhibition se forme lorsqu'une concentration particulière d'antibiotique (juste suffisante pour inhiber la pousse bactérienne dans les conditions de l'expérience) atteint pour la première fois un développement microbien déjà trop important pour être entravé.

La formule de Cooper et Woodman permet de cerner quelques aspects remarquables.

- La concentration critique est définie par la plus petite concentration en bordure de source n'entraînant aucune zone d'inhibition. Ceci est réalisé lorsque C = C₀, soit expérimentalement pour une valeur de deux à quatre fois la C.M.I en milieu liquide.
 - La notion de temps critique désigne le temps minimum de pré incubation des bactéries qui annule toute activité secondaire de l'antibiotique. Le calcul prouve que le temps est indépendant de la souche bactérienne. Mutants résistants et population sensible ont un même temps critique.
 - La notion de population critique traduit la concentration de l'inoculum bactérien à partir de laquelle ne se forme plus de plage d'inhibition. La valeur de l'inoculum, tant sur le plan quantitatif que qualitatif liée à l'état physiologique des cellules microbiennes, joue un rôle déterminant. Le paramètre quantité, que traduit l'effet inoculum est plus facile à mettre en évidence. (Figure N°5)

Ces constatations révèlent le rôle primordial de la standardisation de l'inoculum et les conditions de multiplication bactérienne ultérieure à la surface de la gélose.

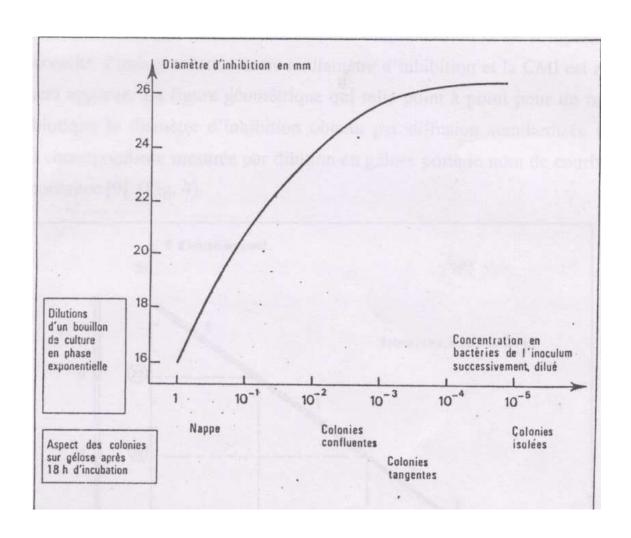


Figure N°5 : Effet inoculum [53]

3-2-2-3 Corrélation diamètre, C.M.I, courbe de concordance

Les résultats de l'antibiogramme par la méthode de diffusion devraient être exprimés en mm sous forme de diamètre de la plage d'inhibition. Pour des raisons évidentes de compréhension et de comparaison, la nécessité d'une corrélation entre le diamètre d'inhibition et la C.M.I est rapidement apparue.

Une courbe de concordance permet pour chaque antibiotique de relier le diamètre de la zone d'inhibition et la C.M.I correspondante. (Figure $N^{\circ}6$)

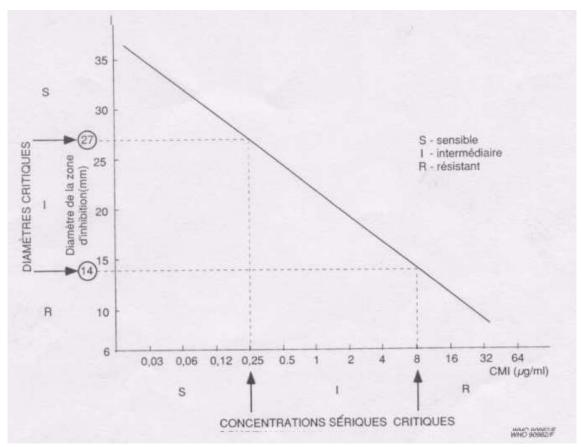


Figure $N^{\circ}6$: Interpretation of zone sizes as susceptible, intermediate and resistant by their relationship to the MIC [66]

Cette courbe est construite pour chaque antibiotique selon la charge du disque à partir d'échantillons représentatifs des espèces bactériennes regroupant une centaine de souches en se plaçant délibérément dans des conditions favorables d'étude :

- excellente diffusibilité de l'antibiotique testé ;
- bactérie en croissance rapide;
- lecture de diamètre à 18 heures d'incubation ;
- plages d'inhibition comprises entre 10 et 35 mm et en supposant que la concentration antibiotique à la limite de la zone d'inhibition est égale à la C.M.I de la souche étudiée, la courbe de concordance devient linéaire en coordonnées semi-logarithmiques. Elle porte alors le nom de courbe de régression.

Une traduction mathématique de cette approximation est possible. L'équation générale de la fonction linéaire : y =ax + b peut s'écrire en l'occurrence :

$$y (d) = -K \log CMI + Y_0$$

Avec:

- y (d) diamètre d'inhibition.
- ullet K et Y_0 des constantes expérimentales calculables.

Malgré le soin apporté à leur élaboration, des divergences de pente demeurent, d'un laboratoire à l'autre, si bien qu'à ce jour, il n'est pas possible d'adopter des droites de régression universellement acceptées.

3-3 Choix des antibiotiques en routine au laboratoire

Une étude de sensibilité est menée au laboratoire clinique pour deux motifs principaux :

- guider le clinicien dans le choix du meilleur antimicrobien pour un malade donné ;
- accumuler les données épidémiologiques sur la résistance des germes importants en santé publique au sein de la communauté.

Le choix des antibiotiques au laboratoire, dans un antibiogramme de routine, est gouverné par des considérations telles que le spectre antibactérien du médicament, ses propriétés pharmaceutiques, sa toxicité, son efficacité, sa disponibilité ainsi que son coût pour le patient comme pour la communauté. Des critères épidémiologiques et écologiques sont aussi pris en compte.

L'O.M.S a édité une liste non exhaustive de médicaments de base pour les tests de sensibilité de routine au laboratoire clinique. La série 1 comprend les médicaments disponibles dans la plupart des officines et pour lesquels les tests de routine doivent être pratiqués sur chaque source. Les tests pratiqués avec les médicaments de la série 2 ne doivent l'être que sur demande spéciale du médecin, ou lorsque le germe en cause est résistant aux médicaments de premier choix, ou encore lorsque d'autres raisons justifient des tests plus poussés.

3-4 Réalisation de l'antibiogramme

3-4-1 <u>Standardisation des techniques</u> [66]

La fiabilité des résultats d'un antibiogramme est influencée par de nombreux paramètres qui doivent être rigoureusement contrôlés. Pour des raisons d'uniformité, il est nécessaire de respecter une technique identique à celle utilisée pour l'établissement de courbes de concordance.

La standardisation est régie par des documents émanant de l'O.M.S et de divers comités nationaux car en fonction des pays il peut exister des variations techniques. Parmi les principales recommandations, on peut citer les points suivants :

3-4-1-1 Milieu de culture

Il doit permettre la croissance de nombreuses bactéries, et ne doit pas contenir d'inhibiteurs d'antibiotiques. Il doit permettre d'obtenir des zones d'inhibition ayant des dimensions comprises dans les limites publiées. Le milieu retenu pour la majorité des espèces bactériennes est celui de Muëller - Hinton. La gélose peut être enrichie de 5% de sang de mouton pour les streptocoques ou de 5% de sang de cheval hémolysé pour l'étude de la sensibilité des *Streptocoques* vis-à-vis d'une association Sulfamide – Triméthoprime. On préparera le milieu conformément aux recommandations du fabricant.

Les teneurs en calcium et en magnésium doivent être contrôlées car des concentrations trop élevées inhibent l'action des aminosides par réduction de la fixation sur la membrane externe de certaines bactéries à Gram négatif ; des tétracyclines par chélation et des polymyxines.

La teneur en thymidine et thymine doit être fixée car elle nuit à l'activité des sulfamides dont le cotrimoxazole; les diamètres des zones seront ainsi fiables.

Le pH influence l'activité de plusieurs antibiotiques ; les aminosides et les macrolides seront plus actifs en milieu alcalin alors que les tétracyclines sont plus actives en milieu acide. Le pH doit être compris entre 7, 2 et 7, 4 ; intervalle favorisant une bonne croissance bactérienne et qui réalise un compromis pour l'activité des antibiotiques.

Chaque nouveau lot de milieu de Muëller – Hinton doit être testé avec une souche de référence de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212 ou 33186) et un disque imprégné de cotrimoxazole. Un lot de milieu satisfaisant donnera une zone d'inhibition distincte d'au moins 20 mm, parfaitement vide de toute croissance trouble ou colonie fine.

Pour les méthodes de diffusion, la source d'antibiotique est en fait constituée par le disque et le cylindre de gélose sous – jacente. L'épaisseur de la gélose va donc conditionner la concentration de la source d'antibiotique et elle doit être de 4mm.

3-4-1-2 <u>Disques d'antibiotiques</u>

Les disques ainsi que les antibiotiques sont standardisés par les fabricants et n'importe quel disque ayant le diamètre et l'activité appropriée peut être utilisé.

Le laboratoire a pour unique responsabilité de stocker les disques dans des conditions optimales. La conservation doit être faite de préférence à -20°C ; le compartiment congélateur d'un réfrigérateur domestique convient parfaitement.

Les disques peuvent être conservés ainsi un mois. Une fois retirés du réfrigérateur, les disques sont amenés à température ambiante pendant une heure environ ; cela permet un rééquilibrage de leur température et favorise ainsi la diminution de la condensation qui se produit lorsque l'air chaud entre en contact avec le récipient froid.

Cependant, si un distributeur de disques est utilisé, il doit être muni d'un couvercle fermé hermétiquement et conservé au réfrigérateur. Une phase de prédiffusion des antibiotiques peut conduire à l'obtention de zones d'inhibition plus importantes. Selon les pays, elle est ou non préconisée.

3-4-1-3 <u>Inoculum bactérien</u>

La densité de l'inoculum bactérien est un élément primordial et elle doit être ajustée à l'aide d'un photomètre ou par comparaison avec un étalon d'opacité ou étalon de turbidité. L'étalon recommandé est celui de Mc Farland.

L'O.M.S recommande pour la préparation de l'étalon, le mélange dans une éprouvette graduée de 100ml ; de 0, 6 ml de solution de chlorure de baryum dihydratée à 1 % avec de l'acide sulfurique à 1%. Cet étalon doit être conservé dans un tube identique à celui utilisé pour l'inoculum bactérien. Il peut être conservé dans l'obscurité à température ambiante pendant 6 mois à condition de le sceller de manière à éviter toute évaporation.

La suspension bactérienne est réalisée avec environ 10 bactéries par ml. Pour certaines bactéries, elle peut atteindre 100 par ml.

3-4-1-4 Conditions d'incubation

La température et la durée d'incubation doivent être fixes. Pour la majorité des bactéries, l'incubation est effectuée à 35 – 37 °C durant 18 à 24 heures dans une atmosphère normale. Pour les Streptocoques, l'incubation est réalisée dans une atmosphère renfermant 5% de CO₂.

3-4-2 <u>Technique de l'antibiogramme par diffusion</u>

3-4-2-1 <u>Mode opératoire</u> [66; 56]

La technique de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé est la méthode de référence pouvant être utilisée en technique de routine en laboratoire clinique. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes ou microbiennes, de fournir en plus des résultats bruts des données sur l'interaction des différents antibiotiques entre eux et d'avoir été évaluée par plus de 30 ans d'utilisation mondiale.

Cette technique requiert cependant un protocole bien précis, pouvant être résumé en quelques points :

- utilisation d'un milieu de Muëller Hinton 2 gélosé, de 4mm d'épaisseur;
- inoculum bactérien ajusté pour obtenir après 18 heures d'incubation des colonies semi confluentes ;
- ensemencement par inondation;
- séchage de 15 minutes à température ambiante ;
- application des disques à la pince flambée ou au distributeur ou à l'aide d'une aiguille stérile;

- pré diffusion de 30 minutes à température ambiante ;
- incubation de 18 à 24 heures à 35°C couvercle en dessous ;
- lecture par mesure des diamètres de zones d'inhibition ;
- interprétation et catégorisation des souches en S, I, R.

3-4-2-2 <u>Lecture interprétative</u> [66; 31]

Les différentes méthodes d'étude de sensibilité aux antimicrobiens expriment leurs résultats soit en mg/ml pour la lecture d'une C.M.I, soit en mm dans le cas de la mesure d'un diamètre d'inhibition, et même en C.M.I approchée après corrélation. En microbiologie médicale, l'usage veut que le microbiologiste interprète ses données et fournisse au clinicien une réponse en termes de probabilité d'activités.

La distinction est donc faite entre les bactéries dites sensibles dont les infections ont toute chance d'être normalement guéries par une antibiothérapie à posologie moyenne, et les bactéries dites résistantes pour lesquelles l'utilisation du même antibiotique conduirait inévitablement à un échec thérapeutique.

La classification des résultats de l'étude de sensibilité en deux catégories, bien qu'elle offre de nombreux avantages sur le plan statistique et épidémiologique, est trop rigide pour un usage clinique. Une classification en trois catégories de sensibilité est souvent adoptée :

Souches catégorisées "sensible" (S)

La probabilité de succès thérapeutique pour ces souches est forte dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandable dans le résumé des caractéristiques du produit.

Souches catégorisées "intermédiaire" (I)

Ce sont des souches pour les quelles le succès thérapeutique est imprévisible. Cette catégorie recouvre deux situations. Elle s'applique aux :

- souches "*modérément sensible*" à un antimicrobien que l'on peut employer pour le traitement à une posologie plus forte en raison de sa faible toxicité ou parce qu'il est concentré dans le foyer d'infection.
 - souches de "sensibilité intermédiaire" à un antimicrobien plus toxique ne pouvant être employé à plus forte dose. Dans ce cas, la catégorie intermédiaire sert de zone tampon entre la sensibilité et la résistance. La plupart des cliniciens n'étant pas familiarisés avec cette distinction subtile, mais cliniquement importante entre sensibilité intermédiaire et modérée, bon nombre de laboratoires utilisent l'appellation "intermédiaire" dans leurs rapports.

Souches catégorisées "résistant" (R)

Ce sont celles pour les quelles la probabilité d'un échec thérapeutique est forte quelles que soient la dose employée et la localisation de l'infection. En l'absence d'accord international, sur les bases permettant de délimiter les différentes catégories, le rapport n° 610 du Comité de Standardisation en confie le soin à une autorité nationale.

En France, le Comité de l'Antibiogramme, émanation de la Société Française de Microbiologie (CA – SFM), a arrêté les valeurs critiques des principaux agents antibactériens.

Les catégories sont ainsi définies le plus souvent par deux concentrations critiques traduites au besoin en diamètre d'inhibition grâce aux courbes de concordances. Deux concentrations critiques délimitent trois domaines d'activité : sensible (S), Résistant (R) et intermédiaire (I).

3-4-3 Limites et causes d'erreurs [66 ; 41]

3-4-3-1 Les Limites

Une étude comparative de quatre techniques de mesure de la sensibilité, par rapport à la méthode de référence de diffusion en gélose, démontre une concordance de 79% pour la méthode des disques avec 3% de discordance majeure.

Seule, cette méthode permet de contrôler immédiatement la pureté de la source étudiée, de déceler la présence d'un mutant ou d'une résistance inductible, de distinguer l'effet antagoniste ou synergique d'une association de deux antibiotiques.

La souplesse d'utilisation de la méthode rend possible l'antibiogramme à la carte et l'introduction rapide de nouvelles molécules dont l'étude peut se révéler intéressante. De plus, le grand nombre de produits testés autorise à dresser des antibiotypes complets permettant un premier contrôle épidémiologique facile de telle espèce microbienne et même avec prudence à rechercher les phénotypes de résistance aux substances antibactériennes.

Malgré les nombreux avantages ci dessus exprimés, il n'en demeure pas moins que l'antibiogramme par la méthode des disques ne mesure qu'une C.M.I approchée et ne se prête que peu ou pas à l'étude d'antibiotique des germes exigeants à croissance lente et des anaérobies.

La mauvaise diffusibilité en gélose de certains antibiotiques dont les polypeptides, ne plaide pas en sa faveur. Le problème de stabilité de la charge antibiotique de disque du groupe des bêta – Lactamines, malgré des précautions draconiennes rend parfois difficile l'interprétation de certains diamètres d'inhibition.

Au moindre doute, on n'hésitera pas à contrôler ou à préciser ces résultats au moyen des autres techniques d'étude in vitro de sensibilité aux antibiotiques.

3-4-3-2 <u>Les causes d'erreurs</u> [66 ; 31 ; 30 ;53]

La validation des résultats d'un antibiogramme par la méthode des disques peut être affectée par certaines erreurs. Les causes d'erreurs englobent l'ensemble des processus de réalisation de l'antibiogramme. On peut citer :

- étude de sensibilité directe ;
- utilisation d'un milieu autre que celui recommandé;
- préparation incorrecte du milieu de Muëller Hinton ;
- utilisation de milieux ou de disques périmés ou mal conservés ;
- standardisation inadéquate de la densité de l'inoculum ;
- excédent d'inoculum non reaspiré lors de l'inondation des boîtes ;
- durée d'exécution des différentes étapes de manipulation non respectée;
- incubation à température différente de $35^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$;
- utilisation d'atmosphère particulière ;
- lecture prématurée ou retardée des résultats ;
- lecture d'un antibiogramme manifestement souillé ;
- erreur de mesure de diamètre d'inhibition ;
- erreur d'interprétation ou de transmission des résultats ;
- absence de contrôle de qualité au moyen des sources de référence.

METHODOLOGIE

1- CADRE D'ETUDE

1-1 <u>Le Centre National Hospitalier et Universitaire</u>

Petit Etat de l'Afrique de l'Ouest, le Bénin avec ses 112 622 km² de territoire, compte un peu plus de six millions d'habitants. Limité au nord-est par le Niger, au nord-ouest par le Burkina-Faso, à l'est par le Nigéria, à l'Ouest par le Togo et au Sud par l'océan Atlantique, la République du Bénin est découpée en douze départements. Les principales villes sont du nord au sud : Natitingou, Parakou, Abomey, Ouidah, Lokossa, Cotonou et Porto-Novo.

Le Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou MAGA de Cotonou, situé entre le ministère des finances et l'ambassade de France(confère annexe 6), occupe une place centrale dans le système national de santé de la République du Bénin. C'est l'hôpital de référence du pays. Il regroupe sous une direction générale, trente quatre services hospitaliers classés en trois grandes catégories :

- Les services chirurgicaux ;
- Les services médicaux :
- Les services techniques dont les laboratoires dont fait partie le service de microbiologie.

Le service de microbiologie se subdivise en deux laboratoires à savoir :

- Le laboratoire de Bactériologie-Virologie ;
- le laboratoire de Parasitologie Mycologie.

Le laboratoire de Bactériologie-Virologie a servi de cadre de travail pour notre étude.

1-2 Présentation du laboratoire de bactériologie-virologie

1-2-1 <u>Description</u>

Le laboratoire de bactériologie est constitué de :

*un espace de réception et de traitement des échantillons ;

*une salle de préparation et de conservation des milieux de culture ;

*une laverie pour la stérilisation du matériel de travail.

Le laboratoire dispose aussi en dehors de ses locaux propres, d'une salle de prélèvement uro-génital, d'une salle de garde et d'un bureau pour le chef de service.

1-2-2 Matériel de travail

La salle de réception et de traitement des échantillons dispose de :

- -une étuve de marque JOUAN
- -un four poupinel de marque JOUAN
- -une centrifugeuse de marque KOKUSAN
- -Deux réfrigérateurs dont l'un sert à la conservation des réactifs et l'autre à la conservation des milieux de culture préparés.
- -deux microscopes optiques de marque NIXON

La laverie dispose de :

- -deux autoclaves de marque LEQUEUX
- -un autoclave de marque SAKURA pour la stérilisation de la verrerie.

1-2-3 Ressources Humaines

Le personnel du laboratoire, sous la conduite d'un Professeur agrégé de bactériologie-virologie, est constitué de :

- -un médecin hygiéniste;
- -une surveillante;
- -quatre ingénieurs de travaux en analyse bio-médicale ;
- -quatre techniciens de laboratoire de niveau B;
- -deux aides-soignants;
- -une secrétaire.

1-2-4 Activités du laboratoire

Les activités du laboratoire de Bactériologie-Virologie du CNHU H.K.M sont variées. Elles revêtent des aspects techniques, de recherche et de formation.

1-2-4-1 <u>Activités techniques</u>

Divers examens de diagnostic clinique sont réalisés au laboratoire de Bactériologie-Virologie du CNHU H.K.M

- -E. C.B des urines
- -E. C. B des prélèvements uro-génitaux
- -E. C. B des pus de diverses origines
- -E. C. B des liquides de ponction :
 - .liquide céphalo-rachidien
 - .liquide pleural
 - .liquide d'ascite et autres.
- -Coproculture
- -Spermocytogramme
- -Hémoculture

1-2-4-2 Activités de recherche

Des travaux pour la rédaction de thèses de doctorat d'état en médecine et en pharmacie, des mémoires en analyses biomédicales, des publications scientifiques ; sont fréquemment réalisés au sein du laboratoire.

1-2-4-3 Activités de formation

Le laboratoire de Bactériologie-Virologie sert de cadre pour les stages pratiques des étudiants en Pharmacie et en Médecine, des étudiants et élèves techniciens en analyses biomédicales.

2-MATERIEL D'ETUDE

2-1 Les souches bactériennes

Les souches bactériennes ayant fait l'objet de notre étude ont été isolées des divers prélèvements pour hémoculture adressés au laboratoire de bactériologie au cours de notre période d'étude. Ces prélèvements proviennent aussi bien des malades hospitalisés dans les divers services que des différentes structures sanitaires extérieures au CNHU H.K.M.

2-2 Milieux de culture

Confère annexe 1

2-3 Réactifs

Confère annexe 2

2-4 <u>Disques d'antibiotiques</u>

Confère annexe 3

3- METHODE D' ETUDE

3-1 Nature et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective et descriptive réalisée au sein du laboratoire de bactériologie-virologie du CNHU H.K.M de Cotonou, allant de mars 2004 à décembre 2004.

3-2 Echantillonnage

Tous les échantillons pour hémoculture adressés au laboratoire durant notre période d'étude ont été éligibles pour l'enquête.

3-3 Collecte des données

La collecte des données relatives à notre étude s'est faite sur la base de :

- -Interview individuel des patients ou des personnes les accompagnant à l'aide d'un questionnaire (confère annexe 4).
- -Résultats de l'exploration diagnostique.
- -Résultats de l'antibiogramme effectué sur les bactéries isolées.

(confère annexe 5)

3-4 Réalisation de l'hémoculture

3-4-1 Prélèvement

Les prélèvements pour les différentes hémocultures ont été effectués au chevet du lit des patients. Nous avons pu suivre au cours de notre étude, les prélèvements réalisés en majeure partie sur les patients hospitalisés dans les différents services du centre hospitalier. Le mode de prélèvement en vigueur est l'utilisation de la seringue stérile montée sur une aiguille.

Pour les prélèvements adressés au laboratoire à titre externe, nous nous sommes contentés des informations fournies par les accompagnateurs et les bulletins de demande d'examen.

Deux types de milieux pour primoculture ont été fournis aux cliniciens durant la période d'étude :

- -le bouillon cœur-cervelle (confère annexe 1)
- -le milieu Hémoline Diphasique de Bio-Mérieux® (confère annexe 1)

3-4-2 Réception des échantillons

Les échantillons provenant du CNHU-HKM et ceux provenant des divers centres de santé en dehors de l'hôpital sont réceptionnés au laboratoire et enregistrés. Une attention particulière est portée sur les renseignements cliniques fournis par le service demandeur. Les noms, prénoms, service de provenance, le motif de prélèvement et éventuellement l'antibiothérapie mis en place sont notés.

Les prélèvements enregistrés et soigneusement numérotés sont placés à l'étuve à 37°C durant 24 heures. Il ne sont ressortis que pour les repiquages sur milieux solides de culture et le "mirage" quotidien.

3-4-3 Culture, Isolement, Identification

Après 24 heures d'incubation, nous avons procédé comme suit :

3-4-3-1 Examen macroscopique

Il a permis de noter tout signe de positivité d'une hémoculture, à savoir :

- -milieu trouble;
- -bulles de gaz à la surface du bouillon ;
- -sang hémolysé, noir ou coagulé;
- -colonies apparaissant sur la gélose.

Tout flacon suspect a été ensuite l'objet d'une étude microscopique.

3-4-3-2 Repiquage systématique

Pour minimiser les risques de souillure des échantillons, nous avons opté pour une subculture "à l'aveugle" de tous les échantillons.

Le repiquage systématique sur milieux de culture solides des bouillons contenus dans les flacons d'hémoculture a été réalisé sur une dizaine de jours, avec une fréquence de repiquage de deux jours sur des milieux solides de culture.

Deux milieux solides de culture ont été utilisés au cours de notre étude suivant le protocole en place au niveau du laboratoire.

➤ Gélose enrichie au sang de mouton (confère annexe 1)

Cette gélose nutritive de base est enrichie au sang de mouton et permet l'isolement de tous les germes, sans interférer avec les réactions d'hémolyse.

➤ Milieu EMB (Eosine – Bleu de méthylène) cf. annexe 1

La gélose lactée et galactosée à l'éosine et au bleu de méthylène est utilisée pour l'isolement des entérobactéries.

Les milieux ont été ensemencés par la méthode en cadran avec une goutte du bouillon incubé. Après 24 heures d'incubation, nous avons procédé à la lecture des milieux ensemencés en vue de l'identification de chaque germe isolé.

3-4-3-3 Identification formelle

L'identification de chaque bactérie isolée s'est faite sur la base des caractères culturaux, biochimiques et antigéniques propres à chaque bactérie.

Pour les colonies observées uniquement sur la gélose au sang, il a été effectué un examen microscopique après coloration par la technique de GRAM.

-test de la catalase pour différencier les *Staphylocoques* et les *Streptocoques*.

- *Staphylocoques*: nous avons effectué un réisolement sur milieu CHAPMAN mannité puis procédé aux tests de staphylocoagulase et de staphylodésoxyribonucléase pour différencier les espèces.
- Streptocoques : un test d'agglutination pour le sérotypage des Streptocoques a permis la différenciation des différentes espèces.

Pour les colonies observées sur le milieu EMB, l'identification des bactéries isolées s'est faite avec la galerie API 20 E après confirmation par la coloration de GRAM. Cette galerie permet l'identification des *Enterobacteriacae* sur la base de leurs caractères chimiques.

La souche d'*Enterocoque* a été isolée sur milieu D- cocosel de BioMérieux[®]

3-5 Antibiogramme

Une étude de la sensibilité in vitro des bactéries aux antibiotiques a été conduite sur chaque bactérie isolée.

3-5-1 Méthode

- Nous avons utilisé la méthode de KIRBY-BAUER 2 ou méthode de diffusion en milieu gélosé pour la réalisation de l'antibiogramme.
- Le milieu de culture utilisé est celui de Muëller-Hinton 2. Pour les bactéries hémophiles, ce milieu a été additionné de sang. Pour l'étude de la résistance hétérogène de *Staphylococcus aureus* aux β-lactamines, le milieu a été additionné de 5% de NaCl.

• Pour réaliser l'inoculum bactérien, nous avons mis en suspension dans 10 ml d'eau distillée une colonie bactérienne parfaitement isolée à partir d'une culture pure. Pour les Coques à Gram positif, 4 à 5 colonies strictement identiques sont prélevées à l'aide d'une pipette pasteur ou d'une anse de Hensley et triturées dans 5 ml d'eau distillée.

• L'ensemencement de l'inoculum

Il a été réalisé par inondation. Quelques millilitres de l'inoculum ont été déversés de façon à recouvrir entièrement la surface gélosée. Des mouvements de rotation dans les deux axes imprimés par la main ont permis d'accélérer le recouvrement. L'aspiration du liquide en excès est faite ensuite après l'inclinaison de la boîte à la pipette Pasteur munie d'une tétine. Les boîtes ainsi ensemencées ont été mises à sécher 15 minutes avant l'application des disques.

• Choix des antibiotiques à tester

La bactérie en cause, les résistances fréquemment observées, les habitudes de prescription ont été autant de paramètres pris en compte pour le choix des antibiotiques à tester.

Application des disques d'antibiotiques

Ils ont été posés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince flambée, sans glissement et parfaitement à plat.

Chaque disque est distant du bord de la boîte de Pétri d'une longueur de 15 mm au minimum et la distance entre deux disques est de 30 mm au minimum, pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition.

• Prédiffusion et incubation

Nous avons observé une période de prédiffusion de 15 minutes à température ambiante avant de porter les boîtes de Pétri à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures. Les boîtes sont déposées avec couvercle en dessous pour éviter la buée provenant de l'inondation du milieu.

3-5-2 <u>Lecture et interprétation</u>

Avant de procéder à la mesure des différents diamètres des zones d'inhibition, nous avons vérifié la pureté de la souche pour éliminer toute souillure visible. Des contrôles réguliers des milieux pour antibigramme et la mise en œuvre stricte du protocole de réalisation de l'antibiogramme nous ont permis de valider les résultats des différents tests. L'interprétation s'est faite en fonction des critères du CA-SFM.

Les résultats ont été classés en Sensible (S), intermédiaire (I), Résistant (R)

RESULTATS

1- DONNEES SUR LES PRELEVEMENTS

Durant la période de notre étude, 361 prélèvements pour hémoculture provenant de divers services ont été analysés au laboratoire de bactériologie-virologie du C.N.H.U-H.K.M de Cotonou.

1-1 Provenance des prélèvements

<u>TABLEAU I</u>: Répartition des échantillons selon les services de provenance

Services de provenance	Fréquence	Pourcentage
Externes	29	8,0
CUGO	18	5,0
PEDIATRIE	156	43,2
MEDECINE INTERNE	20	5,5
RHUMATOLOGIE	4	1,1
NEPHROLOGIE	21	5,8
DIALYSE	22	6,1
NEUROLOGIE	4	1,1
GASTRO-ENTEROLOGIE	7	1,9
ENDOCRINOLOGIE	5	1,4
S.H.I.M.A.S	30	8,3
C.U.T.O-C.R	8	2,2
CHIRURGIE VISCERALE	1	0,3
UROLOGIE	4	1,1
REANIMATION	11	3,0
CARDIOLOGIE	21	5,8
TOTAL	361	100%

Sur les 361 échantillons analysés, 332 provenaient de malades hospitalisés dans différents services du C.N.H.U soit un pourcentage de 92% avec une prédominance du service de pédiatrie qui a cumulé 156 prélèvements soit 43,2% sur l'ensemble des prélèvements.

De différentes formations sanitaires des villes de Cotonou et de Porto-Novo, provenaient 29 prélèvements soit 8% des échantillons analysés.

1-2 Motifs des prélèvements

<u>TABLEAU II</u>: Motifs des prélèvements selon les formulaires de demande

Indication du prélèvement	Fréquence	Pourcentage
Hyperthermie	191	52,9
Septicémie	100	27,7
Autres	70	19,4
Total	361	100%

Sur 361 échantillons adressés au laboratoire, 191 bulletins d'examen ont notifié l'hyperthermie comme indication pour l'hémoculture soit un pourcentage de 52,9%. Dans 19,4% des cas, le bulletin ne mentionnait pas d'indication. La suspicion de septicémie, a fait recourir à une hémoculture dans 27,7% des cas.

1-3 Consommation d'antibiotiques avant le prélèvement

<u>TABLEAU III</u>: Consommation d'antibiotiques

Prise d'antibiotiques avant le prélèvement	Fréquence	Pourcentage
Non	116	32,1
Oui	95	26,3
Pas d'info	150	41,6
Total	361	100,0%

Dans 32,1% des cas, le prélèvement s'est effectué avant toute antibiothérapie. Un pourcentage non négligeable de 26,3% des prélèvements ont été effectués après le début d'une antibiothérapie probabiliste.

2- FREQUENCE D'ISOLEMENT DES BACTERIES

Sur 361 prélèvements analysés, 108 se sont révélés positifs soit un taux d'isolement de 29,9%. Seules les hémocultures monomicrobiennes ont été prises en compte dans notre étude.

2-1 Isolement des bactéries dans les divers services

<u>TABLEAU IV</u>: Positivité des hémocultures selon les services de provenance

Services de provenance	Nombre d'hémocultures	Nombre de bactéries isolées	% d'isolats
C.U.G.O	18	9	50,0%
Dialyse	22	8	36,4%
Pédiatrie	156	56	35,9%
Externes	29	10	34,5%
S.H.I.M.A.S	30	7	23,3%
Cardiologie	21	4	19,0%
Réanimation	11	2	18,2%
Médecine	61	11	18,0%
Services chirurgicaux	13	1	7,7%
TOTAL	361	108	29,9%

Sur 108 hémocultures positives, le taux d'isolement le plus élevé a été recensé dans le service de gynéco-obstétrique avec un taux d'isolement de 50%.

Dans le service de pédiatrie, le pourcentage d'isolement a été de 35,9%. Le service de médecine a réalise un taux d'isolement moyen avec 18,2%. Les services externes ont totalisé quand à eux, pour 29 prélèvements adressés au laboratoire, 10 isolements soit un taux d'isolement de 34,5%.

2-2 Répartition des bactéries isolées tous services confondus

TABLEAU V: Répartition bactérienne

Bactéries isolées	Fréquence	Pourcentage
Entérobactéries	80	74,1%
Cocci à Gram positif	13	12,0%
BGN non entérobactéries	15	13,9%
TOTAL	108	100%

Sur un total de 108 hémocultures positives, nous avons noté:

- 80 Entérobactéries soit 74,1% des isolats
- 13 Cocci à Gram positif soit 12% des isolats
- 15 Bacilles à Gram négatif non entérobactéries soit 13,9% des isolats.

2-2-1 Répartition des bacilles à Gram négatif

TABLEAU VI: Répartition des bacilles à Gram négatif

BACTERIES ISOLEES	Fréquence	Pourcentage
Klebsiella pneumoniae	39	36,1
Escherichia coli	16	14,8
SalmonellaTyphi	16	14,8
Salmonella spp	4	3,7
Enterobacter agglomerans	2	1,9
Enterobacter cloaceae	1	0,9
Proteüs mirabilis	2	1,9
Autres bacilles à Gram négatif*	15	13,9
TOTAL	95	88,0%

^{*} Chryseomonas luteola, Acinetobacter spp, Pseudomonas aeruginosa Pseudomonas cepacia, Pseudomonas spp, BGN à identification difficile

Les bacilles à Gram négatif sont venus en tête des isolats avec un taux de 88% des isolats. Les souches de *Klebsiella pneumoniae* ont été les plus isolées avec 36,1% des isolats. *Escherichia coli* et *Salmonella Typhi* ont constitué chacun d'eux 14,8% des isolements.

2-2-2 Répartition des cocci à Gram positif

TABLEAU VII : Répartition des cocci à Gram positif

BACTERIES ISOLEES	Fréquence	Pourcentage
Staphylococcus aureus	11	10,2%
Streptocoque ß - hémolytique	1	0,9%
Enterocoque	1	0,9%
TOTAL	13	12,0%

Les cocci à Gram positif ont constitué avec 13 souches isolées 12% des isolats; l'espèce *Staphylococcus aureus* a occupé le premier rang avec 10,2% des isolats pour 11 souches isolées. Les autres cocci GRAM positif sont constitués par une souche de *Streptocoque* β-hémolytique et une souche d' *Enterocoque*.

2-2-3 Répartition des isolats dans les divers services de provenance

<u>TABLEAU VIII</u>: Répartition des isolats dans les divers services

Bactéries isolées	Médecine	Pédiatrie	C.U.G.O Services chirurgicaux	Autres services	TOTAL
Klebsiella pneumoniae	3	22	8	6	39
Escherichia coli	4	10	1	1	16
Salmonella Typhi	2	11	-	3	16
Staphylococcus aureus	-	2	-	9	11
Pseudomonas aeruginosa	-	-	1	4	5
Autres cocci à Gram positif	1	-	-	1	2
Autres bacilles à Gram négatif	1	11	-	7	19
TOTAL	11	56	10	31	108

Sur l'ensemble des services, les bacilles à Gram négatif sont venus en tête des isolements dans les bactériémies au C.N.H.U de Cotonou et dans certaines formations sanitaires des villes de Cotonou et de Porto-Novo.

Dans le service de pédiatrie qui a été le plus gros demandeur en hémoculture, les infections à *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de 39,3% ont été les plus courantes. Les salmonelloses ont été peu fréquentes avec un taux de 25%.

Dans le service de médecine, les infections à *Escherichia coli* ont eté les plus rencontrées avec un taux de 36,4%; les salmonelloses ont été par contre peu fréquentes avec un taux de 18,2%.

Les staphylococcémies et les infections par le bacille pyocyanique ont été recensées dans les autres services du C.N.H.U et les services externes.

2-3 Répartition des isolats suivant l'âge et le sexe

2-3-1 Répartition selon l'âge

<u>TABLEAU IX</u>: Fréquence des isolats selon l'âge

Tranches d'âges	Fréquence	Pourcentage
< 1 an	22	20,4%
2-14 ans	41	38,0%
15-30 ans	19	17,6%
31-50 ans	14	13,0%
51 ans et plus	12	11%
TOTAL	108	100%

Sur les 108 hémocultures positives, la tranche d'âge la plus concernée a été celle de 2 à 14 ans avec 38% d'isolements. Un taux de 20,4% d'isolement a été noté pour les enfants de moins de 1 an.

Le tableau X présente la répartition des isolats suivant l'âge des patients.

TABLEAU X: Répartition des isolats selon les tranches d'âges

BACTERIES ISOLEES -		< 1	2_	_14	15	5_30	31_	50	51 e	t plus	ТО	TAL
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbr	e %	Nbre	%	Nbre	%
Klebsiella pneumoniae	12	11,1	15	13,9	4	3,7	6	5,6	2	1,9	39	36,1
Escherichia coli	3	2,8	5	4,6	3	2,8	3	2,8	2	1,9	16	14,8
Salmonella Typhi	-	-	11	10,2	3	2,8	2	1,9	-	-	16	14,8
Staphylococcus aureus	-	-	2	1,9	4	3,7	1	0,9	4	3,7	11	10,2
Pseudomonas aeruginosa	2	1,9	-	-	3	2,8	-	-	-	-	5	4,6
Autres cocci à Gram positif	-	-	-	-	-	-	1	0,9	1	0,9	2	1,9
Autres bacilles à Gram négatif	5	4,6	8	7,4	2	1,9	1	0,9	3	2,8	19	17,6
TOTAL	22	20,4%	41	38%	19	17,6%	14	13%	12	11,1%	108	100%

Dans la tranche d'âge de 2-14 ans, les infections à *Klebsiella pneumoniae*, à *Escherichia coli* et les salmonelloses ont été les plus fréquentes. Les staphylococcémies ont été rencontrées à partir de 15 ans.

2-3-2 Répartition des isolats selon le sexe

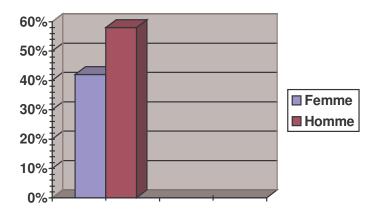


Figure N°7 : Répartition des isolats selon le sexe

Tous germes confondus, le sex-ratio a été de 1,4 hommes pour une femme. Une fréquence de 58,3% des cas de bactériémies a été noté chez les hommes.

Le Tableau XI présente la répartition des différentes bactéries isolées suivant le sexe.

TABLEAU XI : Répartition des isolats selon le sexe

BACTERIES ISOLEES	HOM	HOMME		FEMME		ΓAL
DACTERIES ISOLEES	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
Klebsiella pneumoniae	20	18,5	19	17,6	39	36,1
Escherichia coli	9	8,3	7	6,5	16	14,8
Salmonella Typhi	10	9,2	6	5,6	16	14,8
Staphylococcus aureus	9	8, 3	2	1,9	11	10,2
Pseudomonas aeruginosa	1	0,9	4	3,7	5	4,6
Autres cocci à Gram positif	1	0,9	1	0,9	2	1,8
Autres bacilles à Gram négatif	13	12,0	6	5,6	19	17,6
TOTAL	63	58,3	45	41,7	108	100

Cette prédominance masculine a été confirmée pour *Klebsiella* pneumoniae, Escherichia coli, Staphylococcus aureus et Salmonella Typhi.

3- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES LES PLUS ISOLEES

3-1 Sensibilité des souches de Klebsiella pneumoniae

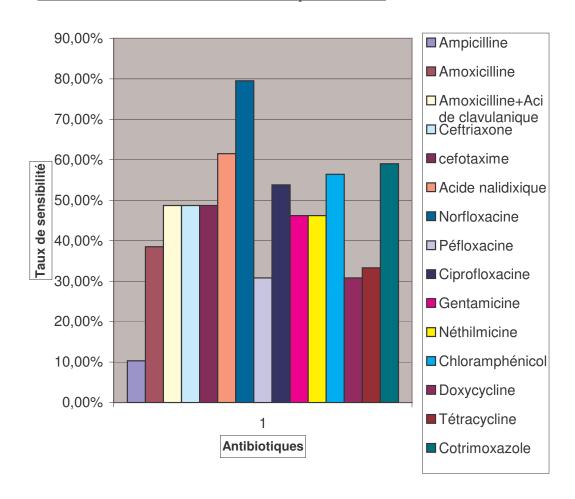


Figure N°8 : Pourcentage de sensibilité des souches de Klebsiella pneumoniae

Les 39 souches testées, étaient moyennement sensibles aux antibiotiques. Le taux de sensibilité le plus élevé a été de 79,5% pour la ciprofloxacine, suivie de l'acide nalidixique avec 61,5% de souches sensibles. La sensibilité aux aminosides etait peu élevée avec 33,3% de souches sensibles à la tétracycline et de 30,8% pour la doxycycline. La sensibilité aux β- lactamines a été moyenne avec un taux de sensibilité de 48,7% pour le ceftriaxone et la céfotaxime et l'association amoxicilline + acide clavulanique. Il est à noter que 10,3% seulement des souches étaient sensibles à l'ampicilline.

3-2 Sensibilité des souches d' Escherichia coli

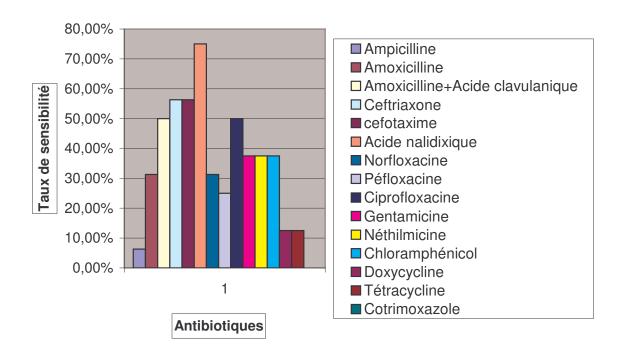


Figure N°9: Pourcentage de sensibilité des souches d'Escherichia coli

Les 16 souches isolées dans notre étude, étaient peu sensibles au chloramphénicol avec un taux à 37,5% identique à celui des aminosides. La sensibilité aux quinolones a été moyenne avec 50% de souches sensibles à la ciprofloxacine; 33,3% pour la norfloxacine;25% pour la péfloxacine, un taux maximal de sensibilité de 75% pour l'acide nalidixique. Les souches isolées ont eu une sensibilité moyenne de 56, 3% pour les céphalosporines. L'ampicilline a eu un pouvoir inhibiteur faible sur l'ensemble des souches avec un taux de 6,3%. Il est à noter qu'aucune des souches n'était sensible au cotrimoxazole.

3-3 Sensibilité des souches de Salmonella Typhi

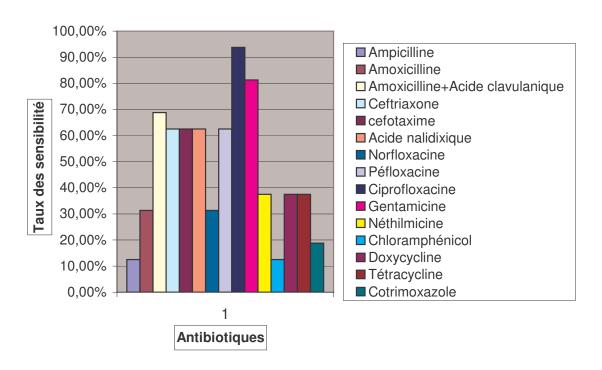


Figure N° 10 : Sensibilité des souches de Salmonella Typhi

Il est ressorti de notre étude que la ciprofloxacine était l'antibiotique le plus efficace vis-à-vis des souches isolées. Les aminosides ont totalisé un taux de sensibilité de 81,3%. La sensibilité au ceftriaxone et à l'acide nalidixique a été de 62,5%. La sensibilité au chloramphénicol a été faible avec un taux de 12,5% ainsi que celui de l'ampicilline. La sensibilité aux cyclines a été de 37,5%. Il faut noter un taux de sensibilité de 18,8% au cotrimoxazole.

3-4 Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus

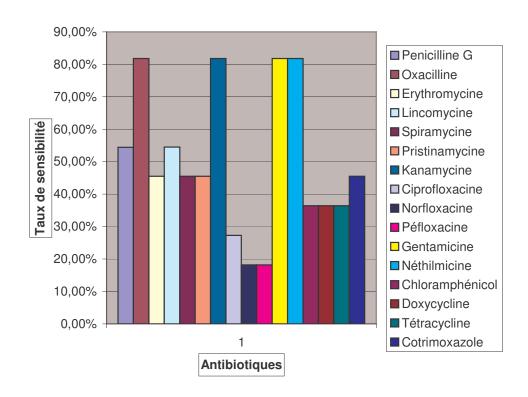


Figure N°11: Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus

Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans notre étude, étaient moyennement sensibles aux macrolides et apparentés, au chloramphénicol, aux cyclines, au cotrimoxazole, et à la pénicilline G. La grande majorité des souches, était sensible à l'oxacilline et la kanamycine avec un taux de sensibilité de 81,8% pour chacun des deux antibiotiques. Le taux de sensibilité aux aminosides était aussi élevé que celui de l'oxacilline et de la kanamycine. Une faible sensibilité aux quinolones a été noté.

3-5 Sensibilité des souches de Pseudomonas aeruginosa

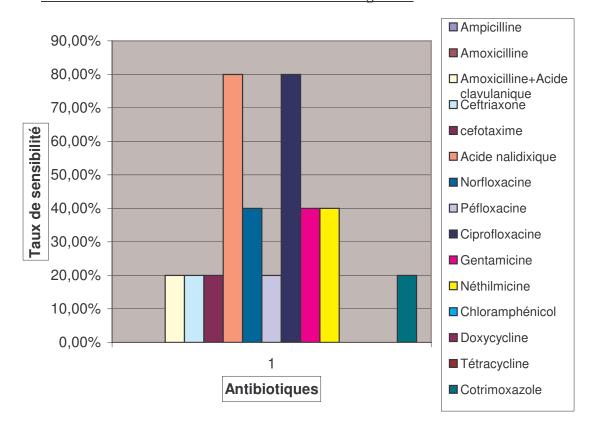


Figure N°12: Sensibilité des souches de Pseudomonas aeruginosa

Les souches isolées ont été peu sensibles aux antibiotiques ;avec un taux de 20% aux β - lactamines, à la péfloxacine et au cotrimoxazole. La sensibilité aux aminosides était de 40%. Les souches bactériennes ont été en grande majorité, sensibles à la ciprofloxacine et à l'acide nalidixique avec un pourcentage de 80%.

COMMENTAIRES DISCUSSIONS

1- CONDITIONS DE PRELEVEMENT

1-1 Mode de prélèvement

Les investigations menées auprès des agents de santé en charge des prélèvements dans les différents services et/ou auprès des personnes ayant acheminés les échantillons au laboratoire, nous ont permis de noter que le mode de prélèvement veineux était la seringue. Ce mode de prélèvement, homologué par la littérature [7;48;56], présente tout de même un inconvénient majeur; il ne favorise pas un enrichissement suffisant en air pour l'ensemencement des flacons aérobies. Cette pauvreté en air influencerait les résultats de l'analyse au laboratoire. [48]

Il est à noter que dans l'environnement de travail de nos pays en développement, les risques de souillure sont très élevés.

1-2 <u>Indications des prélèvements</u>

L'analyse des résultats de notre étude ne permet pas de donner des précisions sur les différentes indications des hémocultures. Néanmoins, les formulaires de demande d'examen adressés avec les échantillons au laboratoire, ont mentionné l'hyperthermie comme motif de prélèvement dans 52,9% des cas.

Cette prédominance est rapportée par les études de KI-ZERBO et coll. [42], WANG et coll. [67] et de DIDJA et coll. [23]. L'hyperthermie peut être le symptôme inaugural d'un syndrome infectieux. En fonction du terrain et de la clinique, il peut alors faire recourir à une hémoculture.

1-3 Consommation d'antibiotiques

Les prélèvements pour examen bactériologique sont en règle générale, effectués avant toute antibiothérapie. Dans notre étude, le traitement antibiotique de première intention a été mis en route dans 26,3% des cas avant le prélèvement. Dans 32,1% des cas les prélèvements ont été effectués avant toute antibiothérapie. Toutefois, PODIE MAGNE N.K.[58] souligne que 40,5% des prélèvements adressés au laboratoire de bactériologie du C.N.H.U, sont effectués après antibiothérapie de première intention.

Il est important de noter que certaines difficultés et contraintes liées à notre étude, ne nous ont pas permis d'étendre notre enquête sur la prise d'antibiotiques avant le prélèvement, à tous les patients prélevés,.

2- ISOLEMENT DES BACTERIES DANS LES HEMOCULTURES

2-1 Fréquence d'isolement toutes bactéries confondues

Sur un total de 361 prélèvements pour hémoculture analysés, 108 se sont révélés positifs soit un taux de positivité de 29,9%.

Ce pourcentage de positivité est supérieur à celui de 28,3%, retrouvé par l'équipe de ANAGONOU S. Y. [2], dans leur étude dans le même cadre en 1990 sur 371 prélèvements ; un pourcentage pratiquement équivalent est retrouvé par DOSSO ET coll [27] à Abidjan en 1986 sur 4624 prélèvements. A Dakar, plusieurs études révèlent des taux de :

- 19,8% pour KI-ZERBO en 1987
- 14,7% pour DIDJA en 1980

Cette augmentation dans les taux de positivité dans divers environnements africains trouverait sa justification dans l'amélioration de la qualité du plateau technique. [2 ;37 ;42]

2-2 Fréquence d'isolement selon les services de provenance

Les échantillons analysés durant notre période d'étude, provenaient aussi bien de divers services du C.N.H.U que d'autres unités de soins externes au centre hospitalier.

Les plus grands demandeurs d'hémocultures sont les services de pédiatrie et de médecine. Ce même constat a été fait par l'équipe de ANAGONOU S. Y. avec cependant une augmentation des demandes des services externes. Ce regain d'intérêt des services externes pourrait s'expliquer par la qualité des milieux de culture pour hémoculture, utilisés dans le laboratoire.

Le taux de positivité dans les différents services est en contraste avec la fréquence des demandes ; les services les moins demandeurs réalisent pour la plupart les pourcentages d'isolement les plus élevés. La C.U.G.O reflète cette situation avec 50% de positivité.

Dans les services de médecine, le taux de positivité de 18% est inférieur aux 73,6% obtenus par DJEDJE D.C. [24] dans une étude rétrospective sur 53 prélèvements. Cette baisse de la positivité s'explique par la rapidité de la prise en charge des épisodes de bactériémies comme le révèle la même étude avec une antibiothérapie probabiliste dans 85% des cas et adaptée dans 12% des cas.

Le service de pédiatrie réalise un taux de positivité de 35,9%. Ce taux est inférieur à celui de 38,2% de AYOOLA O.O. et coll. [5] dans une étude portant sur 102 enfants âgés de 1 à 12 mois. Il est cependant supérieur à ceux obtenus par :

- SHARMA M. et coll. [61] ; soit 22,9% sur 4368 prélèvements chez des enfants de 0 à 14ans en Inde
- BYINGTON C.L. et coll. [18]; 16% pour 104 enfants de 2 à 82 jours aux Etats-Unis.

2-3 Fréquence d'isolement selon le sexe et l'âge

Dans notre étude, le sex-ratio est en faveur des hommes ; soit 1,4 hommes pour une femme.

Cette prédominance masculine est largement confirmée pour les bactériémies à *Salmonella*, à *Staphylococcus aureus*. [6 ;19 ;43 ;56]

Le ratio est par contre en faveur des bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* pour les femmes contrairement aux résultats des travaux de HILF M. et coll [50].

Le bacille pyocyanique est une bactérie opportuniste et invasive. Chez de jeunes femmes ayant subi des infections urinaires avec des antibiothérapies itératives, le bacille pyocyanique peut être sélectionné dans la flore urétrovaginale et de ce point de départ, passé dans la circulation et être responsable de bactériémies pathologiques.

La tranche d'âges la plus affectée par les bactériémies dans notre étude est celle de moins de 14 ans. Cette sensibilité des enfants s'explique par :

- la fragilité des nouveau-nés dont la réponse immunitaire est faible et retardée,
- un état nutritionnel des jeunes enfants en phase de croissance, quantitativement et qualitativement pauvre. [8;11;15;20;45;51;64]

2-4 Fréquence d'isolement des bactéries selon l'espèce

Sur 108 hémocultures positives, les bacilles à Gram négatif viennent en tête des isolements avec une fréquence de 88%. Aussi bien dans notre étude que dans d'autres travaux, les bacilles à Gram négatif sont les plus isolés dans les hémocultures. [2;18;23;25;42;61]

Les cocci à Gram positif constituent 12% des isolats.

2-4-1 Fréquence d'isolement des bacilles à Gram négatif

Dans la répartition des bacilles à Gram négatif isolés à Cotonou, les entérobactéries viennent largement en tête avec une fréquence de 74,1%.

• Les souches de *Klebsiella pneumoniae* sont les plus fréquentes avec un pourcentage de 36,1%. La majorité des souches isolées proviennent du service de pédiatrie. Cette fréquence des bactériémies dans les services de pédiatrie est rapportée par les équipes de ANAGONOU S.Y. et de SHARMA M.

L'équipe de MOKUOLU A.O.[52] rapporte cependant que les services de néonatologies enregistrent le plus de cas de bactériémies surtout dans les premières 48 heures de vie.

Dans d'autres environnements africains ; notamment Dakar et Abidjan, le premier rang est occupé par les bactériémies à Salmonelles. [27 ;42]

Les souches de *Escherichia coli* viennent au second rang avec une fréquence de 14,8%. Elles sont le plus souvent fréquentes dans le service de pédiatrie.

Dans l'étude de ANAGONOU S.Y. et coll., elles occupent le troisième rang. La fréquence des bactériémies à *Escherichia coli* est diversement appréciée selon l'environnement d'étude et la spécialisation du service. En effet, elles occupent le premier rang pour :

- L'équipe de AYOOLA O.O. dans le service de pédiatrie à Ibadan.
- L'équipe de HADZIYANNIS A.S. [37] dans le service de gériatrie à Athènes.
- L'équipe de STAHL J.P. [60] à Paris.
- Les souches de *Salmonella* viennent au troisième rang avec un taux de 18,5%; *Salmonella Typhi* prédomine avec une fréquence de 14,8%. La majorité des souches se retrouve dans le service de pédiatrie et la tranche d'âges de prédilection est celle de 2-14 ans.

La fréquence des souches de *Salmonella Typhi* dans les bactériémies est diversement rapportée par plusieurs travaux. Ainsi, ANAGONOU S.Y. et coll. retrouvent une fréquence de 2,9%; KI-ZERBO G.A. et coll. retrouvent *Salmonella Typhi* à un taux de 68,5% dans la tranche d'âges de 15-24 ans; OLODO F. [54] rapporte un taux de 15,8% dans la tranche d'âges de 1-2 ans; SEGUENI A. [63] retrouve ses 67,3% après 20 ans.

La fièvre typhoïde est une pathologie de l'adolescent et de l'adulte comme le rappelle de nombreuses études. [32 ; 33 ;36]

Son diagnostic biologique repose sur la coproculture positive à partir de la 2^{ème} semaine de maladie; le sérodiagnostic de VIDAL et FELIX positif à 20-50% les deux premières semaines et 80% la 4^{ème} semaine; l'hémoculture positive à 90 ou 100% la 1^{ère} semaine,50 à 80% la 2^{ème} semaine et une contribution presque nulle à partir de la 4^{ème} semaine de l'histoire naturelle de la maladie [10;32;54]. Cependant à Cotonou, HAZOUME et coll. [38] rapportent que le recours au sérodiagnostic de VIDAL et FELIX n'est que secondaire et fait suite à un échec thérapeutique face au paludisme dans le service de pédiatrie du C.N.H.U de Cotonou. Ainsi donc, l'instauration systématique du traitement anti-palustre chez tout malade fébrile sans le moindre frottis sanguin, réduit le taux d'isolement des salmonelles dans les hémocultures. Il est à noter que le faible pouvoir d'achat des patients conduit le plus souvent le clinicien à recourir à l'hémoculture qu'en cas de grande nécessité.

Malgré son caractère contributif dans le diagnostic biologique de la fièvre typhoïde, l'hémoculture demeure tout de même fiable dans le diagnostic de la fièvre typhoïde.

Les bacilles à Gram négatif non entérobactéries sont isolés dans notre étude à une fréquence de 13,9%; avec une prédominance de 4,6% pour le bacille pyocyanique. Cette fréquence de *Pseudomonas aeruginosa* supérieure à celle de 2% rapportée par les travaux de ANAGONOU S.Y. et ses collaborateurs.

2-4-2 Répartition des cocci à Gram positif

•La fréquence des cocci à Gram positif a été de 12% dans notre étude. Staphylococcus aureus vient en tête des isolements avec un taux de 10,2%. Cette fréquence est comparable à celle de, 11,5% ;obtenu par ANAGONOU S.Y. et coll. Dans une étude multicentrique, NYAMBISSI et coll. [53] rapportent un taux d'isolement de Staphylococcus aureus de 6,4% sur 203 prélèvements en 1997, à Cotonou.

L'isolement de *Staphylococcus aureus* est très faible dans les hémocultures. En effet, la présence à l'état commensal sur la peau et les muqueuses rend difficile le diagnostic des infections à staphylocoques. La multiplication des prélèvements pour l'isolement à plusieurs reprises de la bactérie, permettra de rendre le diagnostic de staphylococcémie.

•Les autres souches de cocci à Gram positif, sont constituées par une souche de *Streptocoque* β-hémolytique et une souche d'*Enterocoque*.

3-SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DES ESPECES LES PLUS FREQUEMMENT ISOLEES.

3-1 Sensibilité des souches de Klebsiella pneumoniae

3-1-1 Les <u>β-lactamines</u>

L'espèce est productrice d'une pénicillinase chromosomique sensible aux inhibiteurs de β- lactamase [12;29;39;58]. La taille de notre échantillon ne nous permet ici, d'apprécier la sensibilité de *Klebsiella pneumoniae* à l'ampicilline et l'amoxicilline en rapport avec les données de la littérature. Néanmoins, la sensibilité à l'association amoxicilline+ acide clavulanique retrouvée dans notre étude est moyenne et équivaut à 48,7%.

La sensibilité aux céphalosporines de troisième génération ;en l'occurrence Ceftriaxone et Céfotaxime, est moyenne avec un fréquence de 48,7%. Cette fréquence est inférieure à celle de :

- 86,4% de sensibilité au Céftriaxone pour MOKUOLU A.O. et coll. A Ilorin en 1996
- 71,1% de sensibilité au Céfotaxime pour LEBRETON F. et coll à Tours en 1988 [46]

3-1-2 Les aminosides

Le pouvoir inhibiteur de la gentamicine et de la néthilmicine est moyen. Le taux de sensibilité dans notre étude est de 46,2% pour chacune des molécules. Ce pourcentage est inférieure à celle de :

- 50% de DJEDJE D.C. en 2001, à Cotonou.
- 85,7% de l'équipe de MOKUOLU A.O.
- 85% de JUPPEAU-VESSIERES A.-M.[39]

3-1-3 Les quinolones

La sensibilité aux quinolones est variable suivant la molécule.

- La ciprofloxacine est la plus active sur les souches isolées dans notre étude avec un taux de sensibilité de 79,5%. Ce taux est inférieure à celui de :
 - 83% de BLAHOVA J. et coll. [13] en Slovaquie
 - 94,7% de l'équipe de LEBRETON F.
- L'acide nalidixique vient au second rang avec 61,5%. DJEDJE D.C. rapporte une sensibilité de 100% des souches isolées.
- La péfloxacine connaît un taux de sensibilité moyen avec 53,8% de souches sensibles. Ce taux est nettement inférieur aux 100% de DJEDJE D.C. L'équipe de JUPPEAU-VESSIERES rapportent en outre une fréquence de 80%.

3-1-4 <u>Autres classes d'antibiotiques</u>

- Le chloramphénicol et le cotrimoxazole sont peu efficaces face aux souches de *Klebsiella pneumoniae* car seulement 56,4% des souches sont sensibles au chloramphénicol et 59% au cotrimoxazole.
- Les cyclines sont de loin, les antibiotiques les moins actifs avec une sensibilité de 30,8% pour la doxycycline et 33,3% pour la tétracycline.

3-2- Sensibilité des souches de Escherichia coli

La taille de notre échantillon d'étude et l'isolement de six (6) souches multi-résistantes, ne permettront pas une comparaison significative avec les données de l a littérature. Néanmoins, il est possible de retrouver dans notre étude, la sensibilité des souches à certains antibiotiques.

3-2-1 Les β- lactamines

La littérature rapporte une nette augmentation de souches productrices d'une pénénicillinase leur conférant une résistance aux amino-pénicillines [28;39;58]. Dans notre échantillon d'étude, seules 6,3% des souches sont sensibles à l'ampicilline et 31,3% à l'amoxicilline. Dans d'autres études africaines, le même constat est fait. Cependant, la comparaison des données africaines à celles d'auteurs européens révèle une plus grande sensibilité aux amino-pénicillines.

Cette disparité de la sensibilité, pourrait trouver une justification dans l'automédication et les erreurs de prescription souvent rencontrées dans nos pays. De plus, le commerce illicite et libre des médicaments dans nos marchés, est un facteur agravant pour la multiplication des résistances aux antibiotiques.

La sensibilité de 50% à l'association amoxicilline + acide clavulanique retrouvé dans notre étude, est superposable à celle rapportée par la littérature qui révèle un taux de résistance de 50% des souches de *Escherichia coli*[39 ;46].

Les céphalosporines de troisième génération sont les plus actives des β -lactamines dans notre étude avec 56,3% de souches sensibles au céfotaxime et au céftriaxone. Ce taux est inférieur à celui de 92% de PODIE N.K. en 2000 dans une étude multicentrique à Cotonou. Cette efficacité des céphalosporines de troisième génération, est rapportée aussi bien en Afrique , qu'en Europe par :

- ANAGONOU S. Y. et coll [3] en 1994 à Cotonou
- ESLAHPAZIRE J. [30] en 1993 à Cotonou
- KOUMARE B. et coll. [43] en 1993 à Bamako
- KI-ZERBO G.A. et coll en 1988 à Dakar
- KA S.A. [39] en 1986 toujours à Dakar
- BOUKADIDA J . et coll [14] en 1996 en Tunisie
- BOURDAIS A. et coll [16] en 1971 à Lyon
- BLAHOVA J. et coll en Slovaquie
- ALLOUCH P.Y. et coll [1] en 1994

3-2-2 Les aminosides

Dans notre étude, seulement 37,5% des souches sont sensibles à la gentamicine et à la néthilmicine. Cette fréquence est inférieure aux résultats de plusieurs auteurs [16;24;39;49;57;58].

3-2-3 <u>Autres classes d'antibiotiques</u>

- Le faible taux de résistance aux quinolones rapporté par la littérature n'a pas été retrouvé dans notre étude. Cependant il est à noter un taux de sensibilité de 75% des souches à l'acide nalidixique.
- Parmi les autres antibiotiques, nous pouvons noter une faible sensibilité au chloramphénicol (37,5%), à la doxycycline et au tétracycline (12,5%), et une résistance totale des souches isolées au cotrimoxazole.

3-3- Sensibilité des souches de Salmonella Typhi

3-3-1 Les β - lactamines

- Les amino-pénicillines sont très peu actives sur les souches isolées;
 avec :
 - 12,5% pour l'ampicilline
 - 31,3% pour l'amoxicilline

Ces fréquences sont faibles en comparaison à celle de 66,7% rapportée en 1996 par OLODO F. à Cotonou. L'équipe de PETIT P. L. [55] rapporte dans leur étude, une sensibilité de 69% de souches provenant du Ghana et du Kenya.

L'amoxicilline demeure l'amino-pénicilline la plus active vis-à-vis des souches de *Salmonella* comme le rapportent plusieurs auteurs [32 ;54 ;56]

Les souches isolées sont sensibles dans 68,8% des cas à l'association amoxicilline+ acide clavulanique. La sensibilité de la pénicillinase ;produite par les salmonelles ;aux inhibiteurs de β - lactamase justifie ce pouvoir inhibiteur élevé.

• Les céphalosporines de troisième génération sont actives in vitro sur les souches isolées. Dans 62,5% des cas, le céftriaxone et la céfotaxime sont actives. Cependant, OLODO F. rapporte un taux de sensibilité de 100% à la céfotaxime et 33,3% au céftriaxone. L'équipe de KI-ZERBO G.A. a retrouvé une sensibilité de 97,18% au céftriaxone

3-3-2 Les aminosides

Les souches isolées sont sensibles à la gentamicine (81,3%) et à la néthilmicine dans le même pourcentage. Les données de la littérature rapportent très peu de tests de sensibilité aux aminosides. Néanmoins, l'équipe de KIZERBO G.A. a noté dans son étude, un taux de sensibilité de 100% à la néthilmicine. OLODO F. rapporte cependant un taux de sensibilité de 33,3%.

3-3-3 <u>Autres classes d'antibiotiques</u>

- Le chloramphénicol, molécule de traitement de première intention des fièvres typhoïdes, n'est active que sur 12,5% des souches isolées. Cette baisse de sensibilité peut s'expliquer par les phénomènes de résistance découlant d'une large utilisation de cette molécule.
- Parmi les quinolones, la ciprofloxacine est l'antibiotique la plus active avec 93,8% de souches sensibles. L'acide nalidixique et la péfloxacine sont aussi actives mais à des taux nettement inférieurs ; soit 62,5% de sensibilité. La norfloxacine reste le fluoruquinolone le moins efficace avec 31,3% de souches sensibles.
- La doxycycline et la tétracycline sont peu actives sur les souches de notre étude ; soit un taux de sensibilité de 37,5%
- Le cotrimoxazole est très peu efficace contre les souches de notre étude. Son taux de sensibilité de 18,8% peut se justifier par son utilisation vaine et abusive dans les infections bactériennes.

3-4 Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus

• La résistance des souches de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline G est largement rapportée par les données de la littérature ; 90 à 95% des souches sont résistantes à la pénicilline G [12;29;39;62]. Les 54,5% de notre étude, viennent en contradiction des résultats de la littérature.

La taille réduite de notre échantillon justifierait cette sensibilité de *Staphylococcus aureus* retrouvée dans notre étude.

- La sensibilité à l'oxacilline est élevée avec 81,8% de souches sensibles. Ce pourcentage est comparable à celle de 83,3% rapportée par NYAMBISSI DOUMBE A. et coll en 1997 à Cotonou dans une étude multicentrique. PODIE MAGNE N.K.rapporte par contre un taux de sensibilité de 39,3% en 1999 toujours à Cotonou. L'oxacilline garde toujours un pouvoir inhibiteur considérable sur *Staphylococcus aureus*.
 - La sensibilité aux macrolides et apparentés est moyenne avec :
 - 45,5% pour l'érythromycine, la spiramycine et la pristinamycine
 - 54,5% pour la lincomycine

Nos fréquences de sensibilité son inférieures à celles de :

- 63,3% de NYAMBISSI DOUMBE A. et KINSICLOUNON G.E. pour l'érythromycine ;
- 62,1% de PODIE MAGNE N.K. pour l'érythromycine ;
- 50% de DJEDJE D.C. pour l'érythromicine ;
- 88,7% de KI-ZERBO G.A. et coll pour l'érythromicine .

L'érythromicine est de plus en plus touché par les phénomènes de résistance des souches de *Staphylococcus aureus*.

- Les aminosides ont un pouvoir inhibiteur encore élevé sur les souches isolées. Ainsi, dans 81,8% des cas , on note une sensibilité à la gentamicine ;à la néthilmicine ;à la kanamycine.
 - DJEDJE D.C. rapporte une sensibilité élevée des souches isolées au cours de son étude ;soit 100% à la néthilmicine.
 - PODIE MAGNE N.K. rapporte 67,3% de souches sensibles à la gentamicine et 78,7% à la néthilmicine
 - NYAMBISSI et coll rapportent 84,9% de souches sensibles à la gentamicine et 94,4% à la néthilmicine

Ainsi, les aminosides sont très peu touchés par les phénomènes de résistance.

• Les quinolones, les cyclines, le chloramphénicol et le cotrimoxazole sont très peu efficaces contre les souches de notre échantillon d'étude. Le taux de sensibilité à la ciprofloxacine est de 27,3%. Le pourcentage de souches sensibles aux cyclines est de 36,4%.

3-5 Sensibilité des souches de Pseudomonas aeruginosa

Espèce au pouvoir pathogène faible ne s'exprimant la plupart du temps que chez les patients aux défenses immunitaires amoindries, *Pseudomonas aeruginosa* possède une résistance naturelle vis-à-vis d'un grand nombre d'antibiotiques.

Malgré la taille réduite de notre échantillon d'étude, nous avons pu noter la large résistance aux antibiotiques. Les amino-pénicillines, les cyclines, le chloramphénicol sont inactives sur les souches isolées. Les quinolones, en l'occurrence la ciprofloxacine et l'acide nalidixique sont les plus actives avec des taux de 80% de sensibilité. Les aminosides sont aussi actives sur les souches isolées ; 40% des souches isolées sont sensibles à la gentamicine et à la nétilmicine.

Les données de la littérature rapportent la haute réactivité des souches aux quinolones et aux aminosides [40;46;50;59]. Cependant, les taux de sensibilité aux aminosides retrouvés dans notre étude, sont inférieurs à ceux de :71% pour la gentamicine et 77,4% pour la néthimicine, rapportés par PODIE MAGNE N.K. en 1999 d'une part, et les 81,3% pour la nétilmicine,, rapportés en 1993 par ESLAHPAZIRE d'autre part. Néanmoins, les taux de sensibilité de notre étude sont supérieurs à ceux de : 35% de souches sensibles à la gentamicine retrouvés par KOUMARE et coll en 1991.

CONCLUSION SUGGESTIONS

CONCLUSION

Notre étude prospective et descriptive effectuée au laboratoire de bactériologie- virologie du C.N.H.U de Cotonou de mars en décembre 2004, a colligé 108 bactéries isolées de 361 prélèvements pour hémoculture.

Au terme de ce travail, nous aboutissons aux conclusions suivantes :

- Le taux de positivité des hémocultures est de 29,9%.
- Les bacilles à Gram négatif viennent en tête des isolements avec un taux de 88,8% et seulement 12% pour les cocci à Gram positif.
- Sur les 108 bactéries isolées, les espèces bactériennes les plus fréquentes sont :
 - Klebsiella pneumoniae (36,1%)
 - Escherichia coli (14,8%)
 - Salmonella Typhi (14,8%)
 - Staphylococcus aureus (10,2%)
 - Pseudomonas aeruginosa (4,6%)
- La tranche d'âge de moins de 14 ans est la plus affectée par les bactériémies. Elle cumule à elle seule 58,4% des isolats.
- Le sexe masculin est le plus sujet aux bactériémies avec un ratio de 1,4 hommes pour une femme.

• Concernant la sensibilité des souches fréquemment isolées, nous notons que :

-Klebsiella pneumoniae est peu sensible aux amino-pénicillines. Seules 48,7% des souches sont sensibles à l'association amoxicilline + acide clavulanique. Les céphalosporines de 3ème génération sont peu actives; seulement 48,7% des souches son sensibles au céftriaxone et au céfotaxime. Parmi les quinolones, la ciprofloxacine et l'acide nalidixique sont très actives, avec respectivement 79,5% et 61,5% de souches sensibles. Le chloramphénicol et le cotrimoxazole sont moyennement actives, avec respectivement 56,4% et 59% de souches sensibles.

-Escherichia coli est peu sensible aux antibiotiques. Elle demeure encore sensible aux céphalosporines de 3^{ème} génération ;56,3% des souches sont sensibles au céftriaxone et au céfotaxime. L'acide nalidixique est la molécule la plus active, avec 75% de souches sensibles.

-Les antibiotiques les plus sensibles sur *Salmonella typhi* sont les fluoroquinolones (ciprofloxacine:93,8%), les aminosides (gentamicine et néthilmicine:81,3%), l'association amoxicilline + acide clavulanique (68,8%). Le chloramphénicol est peu actif dans notre étude (12,5%).

-Les souches de *Staphylococcus aureus* sont encore très sensibles à l'oxacilline (81,8%). Les aminosides sont très actives sur les souches isolées dans notre étude ;81,8% pour la kanamycine, la gentamicine et la néthilmicine. L'érythromycine est peu active avec seulement 45,5% de souches sensibles.

Il ressort de notre étude que le protocole de réalisation des hémocultures au C.N.H.U. de Cotonou est encore mal assimilé par les agents de santé ;notamment en ce qui concerne les prélèvements. Les bactéries souvent mis en cause développent de plus en plus des phénomènes de résistance.

SUGGESTIONS

Au terme de notre étude, nous nous permettons de formuler quelques suggestions :

A notre endroit

Nous nous emploierons à assurer par les moyens les plus adéquats la diffusion de ces résultats auprès :

- Des autorités politiques et administratives notamment celle de la santé.
- Du personnel de santé.
- De la population pour son éducation et sa sensibilisation sur l'impact de la consommation abusive des antibiotiques.

A l'endroit des autorités politico-administratives (Ministère de la santé)

Des dispositions administratives et financières doivent être prises pour :

- Doter les laboratoires de diagnostic clinique, du matériel adéquat de travail ;
- organiser des ateliers pour le recyclage du personnel de santé en vue d'une meilleure qualité des prestations;
- lutter plus efficacement contre la vente illicite et libre des médicaments sur les marchés;
- organiser à l'endroit des populations des séances d'I.E.C
 sur les règles d'utilisation des antibiotiques ;
- définir à cours terme une politique de subvention des soins de santé au profit des populations.

A l'endroit des directeurs des structures sanitaires

- La mise en place d'une politique réelle d'hygiène hospitalière en actualisant les procédures d'hygiène.

A l'endroit du personnel de santé

- Respecter les règles de prescription des antibiotiques ;
- respecter les règles de prélèvement pour examen bactériologique ;
- s'enquérir régulièrement des fréquences d'isolement des bactéries pour une meilleure orientation de l'antibiothérapie probabiliste.

A l'endroit des bactériologistes

- L'organisation de journées de l'hémoculture en association avec les cliniciens pour redéfinir le protocole de réalisation de l'hémoculture et faire le point sur les niveaux de résistance bactérienne aux antibiotiques ;
- la mise en place d'un Comité de Prescription et de Surveillance des résistances bactériennes.

BIBLIOGRAPHIE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1- ALLOUCH P.Y., LABIA R., PINA P. et Coll.

Observations hospitalières de la sensibilité de *Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* à l'association amoxicilline- acide clavulanique en 1994.

Med Mal Infect 1995;25:934-9

2-ANAGONOU S.Y., AKPONA S., JOSSE R., MASSOUGBODJI A., SADELER D.C.

Les isolements de bactéries dans les hémocultures au laboratoire de bactériologie du C.N.H.U.- Cotonou (1987- 1990).

Médecine d'Afrique Noire : 1993, 40(10) : 614-19

3- ANAGONOU S.Y., MAKOUTODE M., MASSOUGBODJI A. et Coll.

Sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli* en milieu hospitalier, à propos de 1468 souches isolées au C.N.H.U. de Cotonou.

Publications Médicales Africaines 1994; 27(131): 8-11

4- APPIT

Bactériémie, Sepsis et Choc septique, 15^{ème} édition.

E. PILLY, Montmorency: 2M2; 1996: 19-25

5- AYOOLA O.O., ADEYEMO A.A., OSINUSI K.

Concurrent bacteremia and malaria in febrile Nigerian infants (Ibadan).

Tropical Doct -2005; 35(1): 34-6

6-BARABE P.

Les septicémies à Staphylocoques à Alger: A propos de 140 observations.

Médecine Tropicale, 1978; 38(1): 13-8

7- BARTLLET R.C., ELLNER P.D., WASHINGTON J.A.

Blood cultures.

Cumitech 1, A Am Soc Microbiol, Ed Washington, 1984.

8- BEAUFILS F.

Infections néonatales bactériennes. Pour la pratique.... On retiendra Revue du praticien (Paris), 1991 ; 41(15) : 1371-72.

9- BEBEAR C. et Coll.

L'infection pneumococcique en milieu hospitalier adulte. Bordeaux. Méd.1982 ; 15(7) : 297-300.

10-BEGUE P.

Typhoïde et paratyphoïdes. Pathologies infectieuses de l'enfant Médecine- Sciences, Flammarion ; Paris, 1989 ; 131-7.

11- BERCHE P., GAILLARD J.-L., SIMONET M.

Bactériologie des infections humaines. Médecine- Sciences, Flammarion; 1988.

12- BERGOGNE, BEREZIN E., DELLAMONICA P.

Antibiothérapie en pratique clinique.

Paris: Masson, 1995: 486 p.

13- BLAHOVA J., KRALIKOVA K., BABALOVA M. et Coll.

Monitoring of antibiotic resistance in bacterial isolates from bacteremic patients.

J Chemother, -2004; 16(3): 269-72.

14- BOUKADIDA J., MONASTIRI K., LAMOURI N. et Coll.

Aspects épidémiologiques de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération en Tunisie centrale (Etude rétrospective sur 3 ans).

Med Mal Infect 1996; 26:1155-8

15-BORDERON J.C., LAUGIER J.

Infections à Streptocoques B. Médecine Périnatale, Flammarion ;22 :165-67

16- BOURDAIS A., MATHIEU H., MATHE P., GILLY R., JOLY R.

Les septicémies et bactériémies à colibacilles en réanimation : à propos de 20 observations.

Lyon. Méd., 1971, 225(9):815-29.

17- BURUCOA C., FAUCHERE J.-L.

Antibiogramme In: Bactériofiches, J.L. Faucchère

Edition Ellipses; 1997: 30-50

18- BYINGTON C.L., RITTICHIER K.K., BASSET K.E., CASTILLO H., GLASGOW T.S., DALY J., PAVIA A.T.

Serious bacterial infection in febrile infants younger than 90 days of age: the importance of ampicillin-resistant pathogens(UTAH) Pediatrics, -2003;111(5 pt 1): 964-68

19- CHIRON J. P., DENIS F., SAMB A., PRINCE-DAVID M., SOW A., DIOP MARI I.

Bilan de 717 souches de salmonella isolées en milieu hospitalier dakarois.

Bull Soc Med Afr Nre Glue Frse 1997; 22: 65-71

20- CLAVEY D.

Infections bactériennes materno-fœtales: Aspects cliniques, bactériologiques et thérapeutiques; étude rétrospective sur trois ans C.H.G. Jean Monnet, Epinal.

Thèse Pharmacie, 1998, Epinal. Microbiologie, Bactériologie.

21- DENIS F., SOW A.

Epidémiologie des méningites purulentes en Afrique. Les formes non méningococciques.

Médecine d'Afrique Noire, 1979 ; 26(7) : 561-77

22- Diagnostics Pasteur

Milieux et réactifs de laboratoire Pasteur. Microbiologie et Immunologie, 3^{ème} édition

23- DIDJA M.

Les isolements de bactéries dans les hémocultures à l'hôpital d'enfants ALBERT ROYER (H.E.A.R) du CHU de Fann : A propos de 1629 flacons étudiés sur une période de cinq ans.

Thèse Pharmacie, Dakar, 1980, N°20.

24- DJEDJE D.C.

Les septicémies en Médecine Interne au CNHU de Cotonou: Aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques à propos de 100 cas.

Thèse Médecine, Cotonou, 2001, N°935, 121p.

25- DJOFFON

Bilan des prélèvements bactériens en milieu hospitalier universitaire dakarois de 1972 à 1979 : Etude de 19000 souches.

Thèse Médecine, Dakar, 1980, N°33

26- DORCHE G., DENIS M., AUBERT G., RABY N.

Incidence dans un C.H.R, des bactéries et levures isolées dans les hémocultures : Evolution pendant 3 ans.

Premières Journées de l'hémoculture, Paris, 26-27 février 1988.

27- DOSSO M., FAYE H., AISSI H. et coll.

Les hémocultures au CHU de Cocody (Abidjan) de 1982 à 1986. Publications médicales africaines. N°90

28- DUVAL J.

Evolution des résistances In : Le Minor L, Veron M.eds. Bactériologie médicale (2^{ème} édition. Flammarion) Médecine et Sciences. Paris. 1990 : 356-69

29- DUVAL J., SOUSSY C.-J.

Antibiothérapie.

4ème édition, Paris: Masson, 1990: 188p.

30- ESLAHPAZIRE J.

Etude prospective de l'antibiorésistance des bacilles à Gram négatif en milieu tropical : A propos de 1194 souches isolées au laboratoire de bactériologie du CNHU de Cotonou.

Thèse Médecine, Cotonou, 1993, N°534, 131p.

31- FAUCHERE J.-L.

Bactériofiches: Techniques en bactériologie clinique.

Editions Ellipses, 1997: 77-85

32- GENDREL D.

Salmonelloses de l'enfant

Encycl. Med. Chir.(Elsevier; Paris), Pédiatrie, 8-018-A-10, 1997,8p

33- GENDREL D., RICHARD-LENOBLE D., VALETTE H.

Salmonella infections and hemoglobins.

J. Pediatrics 1982;101:68-9

34- GOULON M.

Etat de choc et réanimation cardio-vasculaire.

Abrégés de réanimation Médicale, Masson, Paris, 1985 : 194-204

35- GREEN N.E. ,BRUNO J.

Pseudomonas infections of the foot after puncture wounds. South Med J, 1980; 73:146-49

36- GRIMON P.A. ,BOUVET P.

Les Salmonelles et Shigelles en France en 1991. Bull Epidemiol Hebd 1992 : 32 :155-56

37- HADZIYANNIS A.S., STEPHANNOU I. , DIMAROGONA K., PANTAZATOU A., FOURKAS D., FILIAGOURIDIS D., AVLAMI A.

Blood culture results during the period 1995-2002 in a Greek tertiary care hospital.

Clin Microbiol Infect, -2004;10(7):667-70

38- HAZOUME F.A., WENEAU J.L., FOURN L., TAKPARA I.

Les fièvres typhoïdes et leur mode de révélation. Etudes médicales, 1977 ; 4 :225-31

39- JUPEAU-VESSIERES A.-M., SCAVIZZI M.-R.

Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Edition Techniques. Encycl. Méd. Chir. (Paris-France), Maladies infectieuses, 8-006-O-10, 1994, 16p.

40- KA A.S.

Septicémies et bactériémies en milieu hospitalier à Dakar. Etude épidémiologique à propos de 165 cas recueillis à l'hôpital A. Le Dantec (CHU de Dakar) de 1983 à 1986.

Thèse Médecine Dakar, 1986, N°71

41- KAMOUN P., FREJAVILLE J.P.

Guide des examens de laboratoire, 3^{ème} édition. Médecine Sciences Flammarion ; 473-505

42- KI-ZERBO G.A., THIOUB B., DIOP B.M., BADIANE S., COLL SECK A.M., SAMB A.

Etude des hémocultures positives au C. H. U. de Fann à Dakar : Bilan de trois années du laboratoire de bactériologie.

Médecine d'Afrique Noire : 1996,43(6) : 322-29

43- KOUMARE B., BOUGOUDOGO F.

Résistance aux antibiotiques de 2187 souches bactériennes isolées au Mali.

Publications Médicales Africaines, 1993; 26(125): 26-9

44- El KOURI D., POTTIER M.A., TREWICK D., Le GALLOU F., BARON D., POTEL G.

Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. Encycl. Med. Chir. ,(Elsevier, Paris), Maladies infectieuses, 8-007-A-10,1998 ; 8p

45- LAUGIER J., BORDERON J.C.

Pathologie bactérienne du nouveau-né. Médecine Périnatale, Flammarion ; 21 :159-64

46- LEBRETON F., SCHIOTTERER M., WASSERMANN D.

Etude rétrospective sur les problèmes septiques posés par les brûlés transférés d'Afrique.

Annals of the MBC- Vol 4- N°2, June 1991

47- Professeur LEJEUNE C.

Infections bactériennes du nouveau-né. Critères diagnostiques, traitement, prévention.

Revue du praticien.(Paris), 1995,45;93-9

48- LOULERGUE J., AVRIL J.L., OMWANGA D.

Etude des produits pathologiques : Hémocultures Editions SIMEP, 1987, 41-5

49- MAURIN M., MUSSO D., CHARREL R. et coll.

Trois types de surveillances épidémiologiques des infections nosocomiales au CHU de Toulouse (Hôpitaux Rangueil et LaGrave. Med Mal Infect 1995 : 25 :508-14

50- MICHEL-BRIAND Y.

Infections à bacille pyocyanique.

Encycl. Med. Chir. (Paris- France), Maladies Infectieuses, 8-025-B-50, 1993; 14p.

51- MOCTAR née SEÏBOU R.

Les infections bactériennes materno-fœtales : validité des critères anamnésiques chez les nouveau-nés à terme. Etude retrospective sur deux ans.

Mémoire CES, Cotonou, 2001; 42p

52- MOKUOLU A.O., JIYA N., ADESIYUN O.O.

Neonatal septicemia in Ilorin: bacterial pathogens and antibiotics sensitivity pattern.

Afr J Med Sci, -2002; 31(2): 127-30

53- NYAMBISSI DOUMBE A., KINSICLOUNON G.E.

L'antibiogramme : principe, technique et interprétation des résultats (A propos de 240 souches de staphylocoques isolées au laboratoire de microbiologie du CNHU de Cotonou)

Mémoire CPU 1997, N°310; 72p.

54- OLODO F.

Contribution à l'étude des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes chez l'enfant au CNHU et au centre médical St Luc de Cotonou : Aspects épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques.

Thèse Médecine Cotonou 1996, N°666; 81p.

55- PETIT P.L. ,HAARLEM J.V. , POELMAN M. , HAVERKAMP M.C. , WAMOLA I.A

Bacteremia in patients presenting with fever.

East Afr Med J, 1995; 72(2): 116-20

56- PILLY E.

Maladies infectieuses et tropicales.

E.PILLY 2000, 17^{ème} édition; 17-30

57- PINCHON T.M., PINKAS M.

Prescription des antibiotiques dans un secteur minier du Nord-Pasde Calais.

Med Mal Infect 1992; 22:1199-200

58- PODIE MAGNE N.K.

Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des germes les plus fréquemment isolés au laboratoire de bactériologie du CNHU de Cotonou (A propos de 896 souches bactériennes isolées du 1^{er} Mars au 30 Juin 1999).

Thèse Médecine, 1999, N°853, 128p.

59- Ben REDJEB S., Ben HASSEN A., HAMMAN A., KECHRID A.

Epidémiologie des résistances bactériennes en Tunisie. (Etude multiculturelle).

Premier congrès Franco- Maghrébin de Médecine interne,-2003.

60- SAMB A., MBOUP S., CISSE M.F., PRINCE-DAVID M.

Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à Dakar.

Annales de microbiologie, Institut Pasteur, 1982, 133A:43

61- SHARMA M., GOEL N., CHANDHARY U., AGGARVAL R., ARORA D.R.

Bacteremia in children.

Indian J Pediatric, -2002 Dec; 69(12): 1029-32

62- SOW A.I., FALL M.I., BOYE C.S. et Coll

Surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées en situation pathogène au CHU de Dakar :sécrétion de pénicillinase, résistance hétérogène.

Médecine d'Afrique Noire 1993 ;40(6) :407-13

63- STAHL J.P., MOUTON Y., MICOU M. et groupe S.E.S

Système expert et épidémiologie des septicémies.

Premières Journées de l'hémoculture, Paris, 26-27 Février 1988.

64-STEKERS G.

Défenses immunitaires du nouveau-né.

Revue du praticien (Paris), 1999, 41(15);1341-44.

65-TRAORE H.

Sérogroupage et étude de la sensibilité aux antibiotiques des Streptocoques hémolytiques isolés au CHU de Dakar.

Thèse pharmacie, Dakar, 1983, N°42.

66- VANDEPITTE J., VERHAEGEN J. et Coll.

Basic laboratory procedures in clinical bacteriology.

World Health Organisation. Geneva. Edition 2003; 20-120

67- WANG L.S., LEE F.Y., CHENG D.L., LIU C.Y., HINTHORN D.R., JOST P.M.

Klebsiella pneumoniae bacteremia: analysis of 100 episodes.

J Formos Med Assoc, 1990; 89(9): 756-63



$\underline{ANNEXE\ N^{\circ}I}: \quad \textbf{Milieux\ de\ culture}$

• Milieux d'isolement

HEMOLINE PERFORMANCE DIPHASIQUE (HEMOLINE DIPH-F)

Composition: Formule en g/l d'eau purifiée

*Bouillon:	
Peptone de caséine (bovin)	10
Peptone de gélatine (bovin ou porcin)	
Extrait de levure	
Glucose	3
Chlorure de sodium	5
L-Arginine	1
Pyruvate de sodium	1
Hémine (porcin)	
Ménadione (Vit K3)	0,0005
Chlorhydrate de pyridoxal (Vit B6)	•
Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD)	0,01
SPS	
Bicarbonate de sodium	0,2
Tris (hydroxyméthyl) aminométhane	1,7
pH: 7,3	
*Gélose:	
Peptone de caséine (bovin)	10
Peptone de gélatine (bovin ou porcin)	10
Extrait de levure	
Glucose	1
Chlorure de sodium	5
L-Arginine	1
Pyruvate de sodium	1
Hémine (porcin)	0,005
Ménadone (Vit K3)	0,0005
	19

pH:7,3

Présentation : Milieu prêt à l'emploi.

Flacon à capsule verte contenant 40 ml de bouillon et une gélose.

Bouillon cœur-cervelle

Composition: Formule en g/l d'eau distillée

Protéose peptone	10
Infusion de cervelle de veau	12,5
Infusion de cœur de bœuf	5
Chlorure de sodium	5
Phosphate disodique	2,5
Glucose	2

pH:7,4(environ)

Additionné de 0,05g d'acide para-amino-benzoïque et 1g de gélose par litre d'eau distillée.

Présentation: Gélose déshydratée.

Gélose au sang frais

Composition: Formule en g/l d'eau distillée

Pastlevone	20
Extrait de viande	2
Chlorure de sodium	2,5
Phosphate monopotassique	0,7
Phosphate disodique	/
Pastagar B	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·

pH final: 7,4±0,2

Additionné de 5% de sang de mouton pendant la préparation du milieu.

Présentation: Gélose déshydratée.

Milieu Müeller-Hinton 2

Composition: Formule en g/l d'eau distillée

Infusion de viande de bœuf déshydratrée	300
Hydrolisat acide de caséine	
Amidon de maïs	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
Agar	10

pH final : 7,4

Gélose de tonicité normale. Milieu solide utilisé pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques. Milieu parfaitement standardisé et s'appuyant sur les normes O.M.S.Additionné de 5% de sang de mouton, il est utilisé pour l'antibiogramme des *Streptocoques*. Pour une étude de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylocoques* résistantes hétérogènes aux ß-lactamines, le milieu est additionné de 5% de chlorure de sodium.

Présentation: Gélose déshydratée

Milieu de Chapman mannité

Composition: Formule en g/l d'eau distillée

Peptone bactériologique	10
Extrait de viande de bœuf	
Chlorure de sodium	75
Mannitol	10
Rouge de phénol	0,025
Agar	-

pH final: $7,4 \pm 0,2$

Présentation: Gélose déshydratée

• Milieux d'identification

Gélose à l'A.D.N

Composition : formule en g/l d'eau distillée

Hydrolysat trypsique de caséine	20
A.D.N	
Chlorure de sodium	5
Agar	12

pH final: $7,3 \pm 0,2$

Présentation: Gélose déshydratée

Galerie API 20 E

La galerie API 20 E est un système d'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif. Il comporte 20 microtubes contenant les substrats suivants :

- $. Or tho\text{-}nitro\text{-}ph\'{e}nyl\text{-}\beta\text{-}D\text{-}galactopyranoside} \ (ONPG)$
- .Arginine (ADH)
- .Lysine (LDC)
- .Ornithine (ODC)
- .Citrate de sodium (CIT)
- . Thio sulfate de sodium (H_2S)
- .Urée (URE)
- .Tryptophane (TDA), (IND)
- .Créatine et Pyruvate de sodium (VP)
- .Gélatine de Kohn (GEL)
- .Sucres: glucose, mannitol, inositol, sorbitol, rhamnose, saccharose, melibiose, arabinose, amygdaline.

Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux.

ANNEXE N°2 : Réactifs

REACTIFS	ROLE	MARQUE
Eau oxygénée	Mise en évidence de la catalase chez les coques	Gifrer Barbezat®
	à Gram positif	
Plasma de lapin	Recherche de la	Diagnostics Pasteur®
•	staphylocoagulase	
Strepto- Kit	Latex sensibilisé pour le	BioMérieux®
-	groupage des	
	Streptocoques β-	
	hémolytiques A, B, D	
Acide chlorhydrique	Révélateur de la	
	désoxyribonucléase des	
	Staphylocoques	
Violet de gentiane	Colore toutes les	
	bactéries en violet	
Solution de Lugol	Fixe plus ou moins	
	nettement le violet dans	
	la paroi des bactéries	
Solution de safranine	Recolore en rose toutes	
	les bactéries décolorées	
	par l'alcool à 95°C	
Réactif TDA	Tryptophane	BioMérieux®
	désaminase	
Réactif de Kovacs	Mise en évidence de la	BioMérieux®
	production d'indole par	
	les BGN	
Réactifs VP1 et VP2	Mise en évidence de la	BioMérieux®
	production d'acétoïne	
	par les BGN	

$\underline{ANNEXE\ N^{\circ}5}: \textbf{Fiche\ d'antibiogramme}$

C.N.H.U.C	LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE
Nom	.Prélèvement
Prénoms	Germes
Age	Service

ANTIBIOTIQUE	SIGLE	S	Ι	R	ANTIBIOTIQUE	SIGLE	S	Ι	R
PENICILLINE	PEN				GENTAMICINE Gentalline	GEN			
AMPICILLINE	AMP				TOBRAMYCINE	TM			
AMOXICILLINE	AMX				KANAMYCINE	K			
AMOXICILLINE+ Acide clavulanique	AMC				NETHILMICINE Nétromicine	NET			
OXACILLINE	OXA				CHLORAMPHENICOL Tifomycine-solnicol	С			
CEFALOTINE Keflin	CF				TETRACYCLINE	TET			
CEFOTAXIME Claforan	CTX				DOXYCYCLINE	DOT			
CEFTRIAZONE Rocephine	CRO				ERYTHROMYCINE Propicine	ERY			
ACIDE NALIDIXIQUE Negram	NAL				SPIRAMYCINE Rovamycine	SPÏ			
NORFLOXACINE Noroxine	NOR				LINCOMYCINE Lincocine	LIN			
PEFLOXACINE	PEF				PRISTINAMYCINE Pyotatine	PR			
CIPROFLOXACINE	CIP				COTRIMOXAZOLE Bactrim	COT			

DATE SIGNATURE

ANNEXE N°4: FICHE D'ENQUETE

Identification du patient

I-

<u>·Nom</u>: .Prénoms: .<u>Sexe</u> : .Age: .Niveau d'instruction: 1-Analphabète 2-Niveau primaire 3-Niveau secondaire 4-Niveau supérieur II-Provenance de l'échantillon .Service d'origine 1-C.N.H.U 2-EXTERNE Si C.N.H.U, quel service: 1-C.U.G.O 2-Pédiatrie 3-Médecine interne 4-Rhumatologie 5-Néphrologie **6-Dialyse** 7-Endocrinologie 8-Gastro-entérologie 9-Neurologie 10-S.H.I.M.A.S 11-C.U.T.O-C.R

12-Chiru	rgie Pé	diatrique	
13-Chiru	rgie Vi	scérale	
14-Urolo	gie		
15-Réani	mation		
16-Cardi	ologie		
III- <u>Echantillon</u>			
.Nombre de prélèvements adressés a	<u>u labor</u>	atoire:	
. <u>Prélèvement assuré par</u> :	1-Mé	édecin	
	2-Inf	ïrmier	
	3-Te	chnicien de laboratoire	
.Délai d'acheminement au laboratoir	<u>re</u> :	1-Inférieur à 1heure	
		2-Entre 1-4 heures	
		3-Supérieur à 4 heures	
.Lieu de prélèvement :		1-Service	
		2-Laboratoire	
		3-Autre	
.Etiologie suspectée	• • • • • • • • •	•••••	

IV- Consommation d'antibiotiques

.Prise d'antibiotiques avant le prélèvement :	: 1-Oui	
	2-Non	
Si oui, lesquels		
. <u>Prescripteur</u> :	1-Médecin	
	2Autre agent de santé	
	3-Auto- médication	
. <u>Forme pharmaceutique</u>	1-Générique	
	2-Spécialité	
	3-Pas d'information	
. <u>Durée de prise</u>	1-Inferieure à 5 jours	
	2-Entre 5-10 jours	
	3- Supérieure à 10 jours	
. <u>Lieu d'achat d'antibiotiques</u>	1-Hôpital	
	2-Centre de santé	
	3-Officine	
	4-Etalage	
	5-Autre.	

$\underline{ANNEXE\ N^{\circ}3}$: Echelle de concordance des antibiotiques utilisés

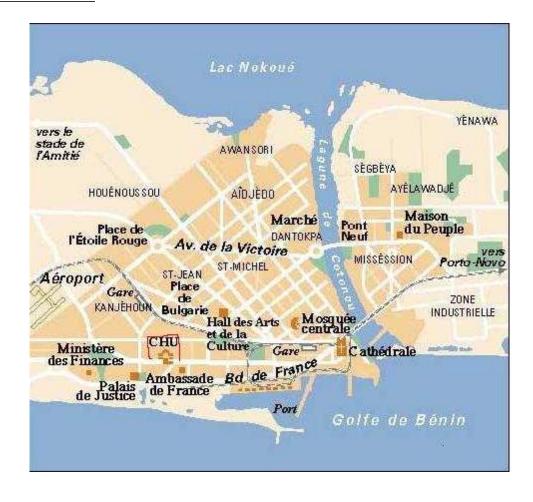
		Antibiotiques (DCI)	Nom de Spécialité (liste indicative)	Charge du disque*	Sigle du disque	Concentration critique (mg/l)	zone	nibitio	
							R	Ι	S
B	PenicillinesG	Pénicilline G	Penicilline G Ospen®	6μg (10UI)	P	0,25 - 16	<8	48- 28	≥29
E	P	Ampicilline	Totapen®	10μg	AM	4-16	<11	11-	≥17
$\begin{bmatrix} L \\ T \\ A \end{bmatrix}$	E N I C	Amoxicilline	Clamoxyl®	25µg	AMX	4-16	<14	14-	≥21
L A C	L L I N E		Bristamox®					20	
T	S	Amoxicilline+		20μg +					
A M	A	Acide clavulanique	Augmentin®	10μg	AMC	4-16	<14	14- 20	≥20
$\mid I \mid$	PénicillinesM	Oxacilline	Bristopen®	5μg	OX	2	<2		≥20
$\begin{bmatrix} I \\ N \\ E \end{bmatrix}$	C E P	Céfalotine	Kéflin®	30µg	CF	8-32	<12	12- 17	≥18
S	H A L O	Céfotaxime	Claforan®	30µg	СТХ	4-32	<15	15	≥21
	S P O R							15- 20	
	I N E S	Ceftriaxone	Rocéphine®	30µg	CRO	4-32	<15	15-	≥21
								20	

A	Kanamycine	Kamycine®	3Оµд	K	8-16	<15	15-16	≥17
M								
I								
N	Tobramycine		10µg	TM	4-8	<14	14-15	≥16
0	100101111			11.1	- 0			
S			10 UI			14	1415	.16
I	Gentamicine	Gentalline®	(15µg)	GM	4-8	<14	14-15	≥16
D								
E			30µg					
S	Nétilmicine	Nátromioino®	Зорд	NET	4-8	<14	17-18	≥19
	reminicine	Nétromicine®		NET	4-8			
\overline{M}	Erythromycine	Propiocine®	15UI	Е	1-4	<17	17-21	≥22
		Erythrocine®						
A								
C								
R	Spiramycine	Rovamycine®	100μg (333UI)	SP	1-4	<16	16-21	≥22
0								
L			15ua					≥19
I	Pristinamycine	Pyostatine®	15µg	PT	2			219
D								
E			15µg			<17	17-21	≥22
S	T	1	10,45	т	2.0	71/		
	Lincomycine	Lincocine®		L	2-8			

P H E N I C O L E S	Choramphénicol	Tifomycine® Cébénicol®	30µg	С	8- 16	<19	19-22	≥23
T E T R A	Tétracycline	Hexacycline® Tétracycline®	30 U.I.	TE	4-8	<17	17- 18	≥19
C Y L I N E S	Doxycycline	Doxycycline® Vibramycine® Spanor®	30 U.I.	DO	4- 8	<17	17- 18	≥19
SULFAMIDES ET ASSOCIATIONS	Triméthoprime + Sulfaméthoxazole	Bactrim® Eusaprim® Bactékod®	1,25 µg + 23,75µg	SXT	2- 8 38- 152	<10	10- 15	≥16

^{*}Les valeurs mentionnées en unités internationales correspondent approximativement à la valeur pondérale en μg à l'exception de quelques antibiotiques pour lesquels la correspondance est indiquée. Tous les disques utilisés sont de marque SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR.

ANNEXE N°6: Plan d'accès au C.N.H.U- HKM



FICHE SIGNALETIQUE

Nom: SOUDE

Prénoms: Séna Gbénou Adébola Arnaud

Année académique : 2004-2005

Pays d'origine : Bénin

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de Médecine, Pharmacie et

d'Odonto-Stomatologie

Secteur d'intérêt: Bactériologie, Maladies infectieuses.

<u>Résumé</u>

Notre étude qui porte sur l'isolement des bactéries dans les hémocultures au CNHU-HKM de cotonou, s'est étalée sur une période de neuf (09) mois allant de Mars 2004 à Décembre 2004.

Durant notre période d'étude, 361 prélèvements pour hémoculture ont été analysés au laboratoire de l'hôpital et ont conduit à l'isolement de 108 souches bactériennes. Les indications pour l'hémoculture étaient variables mais l'hyperthermie constitue le motif de demande d'hémoculture le plus fréquent (52,9%). Dans 26,3% des cas, les prélèvements ont été effectués après le début d'une antibiothérapie probabiliste.

Les entérobactéries viennent en tête des isolements avec 36,1% pour *Klebsiella pneumoniae*, 14,8% pour *Escherichia coli* et *Salmonella Typhi*. *Staphylococcus aureus* est le plus isolé des cocci à gram positif ; il représente 10,2% des isolats. Les bacilles à Gram négatif non entérobactéries représentent 13,9% des isolements avec en tête *Pseudomonas aeruginosa* qui constitue 4,6% des isolats.

La tranche d'âges la plus affectée par les bactériémies est celle des moins de 14 ans. Le sex- ratio de 1,4 est en faveur des hommes.

La sensibilité des souches bactériennes les plus isolées est variable. On note cependant une grande sensibilité des entérobactéries aux quinolones en l'occurrence l'acide nalidixique (61,5% pour *Klebsiella pneumoniae*, 75% pour *Escherichia coli*, 62,5% pour *Salmonella Typhi*) et la ciprofloxacine (79,5% pour *Klebsiella pneumoniae*, 50% pour *Escherichia coli*, 93,8% pour *Salmonelmla typhi*). Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées sont sensibles à 81,8% à l'oxacilline, la gentamicine, la néthimicine et la kanamycine. Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées sont sensibles à l'acide nalidixique et la ciprofloxacine.

L'hémoculture constitue l'examen de choix pour le diagnostic des bactériémies. Le suivi d'un protocole rigoureux, la collaboration entre le clinicien et le bactériologiste permettront une prise en charge plus efficace des états bactériémiques.

Mots clés: Bactérie, hémoculture, antibiotiques, Cotonou, Bénin.

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !