



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE SIDIMOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE
FES



BACTERIEMIES NEONATALES : PROFIL BACTERIOLOGIQUE ET ANTIBIO-RESISTANCE

Mémoire présenté par

Docteur EL-KHIYAT MAJDOULINE

Née le 12 Février 1987 à El Hoceima

Pour l'obtention du

Diplôme Médical de Spécialité

Option : biologie médicale

Sous la direction du Professeur Mahmoud Mustapha

Membre associé Professeur Yahyaoui Ghita

Session : 2017

Sommaire

INTRODUCTION.....	6
MATERIEL ET METHODES	9
1. Présentation de l'étude	10
2. Critères d'inclusion	10
3. Critères d'exclusion	10
4. Recueil des données	10
5. Analyses bactériologiques des Hémocultures	11
a. Recueil des hémocultures	11
b. Culture	12
c. Identification.....	12
d. Antibiogramme	12
I. Incidence	14
II. Les caractéristiques des patients	15
1. Répartition des hémocultures positives selon le sexe	15
2. L'anamnèse infectieuse	16
3. La voie d'accouchement	16
4. Le motif d'hospitalisation du nouveau-né	17
III. Répartition des bactéries selon les espèces	18
1. Répartition globale des germes.....	18
2. Répartition des différentes souches bactériennes isolées dans les hémocultures :.....	19
3. Répartition des Entérobactéries selon les espèces bactériennes :.....	20
4. Répartition des CGP selon les espèces bactériennes :.....	21
IV. Etude de la résistance aux antibiotiques :.....	22
1. Les entérobactéries :.....	22
a. Profil de résistance de Klebsiella pneumoniae :	23

b. Profil de résistance de l'Escherichia coli.....	24
2. Les Cocci à Gram Positifs :	25
a. Profil de résistance du Streptococcus bêta-hémolytique (agalactiae):	25
b. Profil de résistance du Staphylococcus aureus.....	26
c. Profil de résistance de Staphylococcus à coagulase négative:.....	27
DISCUSSION.....	28
I. Epidémiologie et Rappel	29
II. Profil Bactériologique :	34
III. Profil de résistance des bactéries isolées	37
IV. Mesures préventives :.....	41
CONCLUSION.....	45
RESUME	47
REFERENCES	50

Abréviations :

- INN : Infections néonatales.
- BGN : Bacille Gram Négatif
- CGP : Cocci Gram Positif
- KP : *Klebsiella pneumoniae*
- E.Coli : *Escherichia coli*
- SCN : *Staphylococcus* à coagulase négative
- AP : Aminopénicillines
- AMC : Amoxicilline+ Acide clavulanique
- OXA : Oxacilline
- IMP : Imipénème
- KF : Céphalosporines de 1ère génération C1G : Céfalotine
- FOX : Céphalosporines de 2ème génération C2G : cefoxitine
- C3G : Céphalosporines de 3ème génération C3G : Ceftazidime (CAZ), Cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CRO)
- GN : Gentamycine
- GN 500 : Gentamicine 500
- AK : Amikacine
- NOR : Norfloxacilline
- CIP : Ciprofloxacine
- LEV : Levofloxacine
- SXT : Sulfaméthoxazole-triméthoprime
- CT : Colistine
- VA : Vancomycine

- TEIC : Teicoplanine
- E : Erythromycine
- MY : Lincomycine
- FD : Acide fusidique

Liste des tableaux :

- **Tableau 1** : Répartition des prélèvements d'hémocultures analysés durant notre période d'étude
- **Tableau 2** : Répartition des nouveau-nés selon le sexe
- **Tableau 3** : Profil de résistance des 3 cas de *Streptococcus béta-hémolytique*
- **Tableau 4** : comparaison du sex-ratio avec les autres études
- **Tableau 5** : tableau de comparaison des profils bactériologiques avec les autres études

Liste des figures :

- **Figure 1:** répartition selon le sexe
- **Figure 2 :** Répartition selon la voie d'accouchement
- **Figure 3:** Le motif d'hospitalisation du nouveau-né
- **Figure 4 :** Répartition globale des germes
- **Figure 5:** Répartition des différentes souches bactériennes isolées
- **Figure 6:** Répartition des Entérobactéries selon les espèces bactériennes
- **Figure 7 :** Répartition des CGP selon les espèces bactériennes
- **Figure 8 :** profil de résistance des entérobactéries
- **Figure 9:** pourcentage des entérobactéries BLSE
- **Figure 10:**Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae*
- **Figure 11:**Profil de résistance de *Escherichia coli*
- **Figure 12 :** Profil de résistance du *Staphylococcus aureus*
- **Figure 13 :** Profil de résistance du *Staphylococcus à coagulase négative*

INTRODUCTION

La bactériémie est définie par la présence dans le sang de bactéries viables. Elle peut être transitoire, asymptomatique, ou, au contraire s'accompagner de manifestations cliniques majeures [1]. Elle peut être primaire si le germe pathogène isolé dans l'hémoculture n'est pas impliqué dans l'infection d'un autre site [2], ou secondaire à un foyer, si le micro-organisme isolé dans l'hémoculture est déjà impliqué dans l'infection d'un autre site de l'organisme.

La bactériémie acquise en réanimation se définit comme une hémoculture positive documentée plus de 48h après l'admission du patient associée à la présence de signes cliniques évocateurs d'un état septique tel que l'hyperthermie $>38^{\circ}\text{C}$ ou l'hypothermie, les frissons ou carrément un état de choc septique, elle constitue le deuxième site d'infection nosocomiale en réanimation après les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique [3-4]. Ce sont des infections dont le profil bactériologique a beaucoup varié ces dernières années. L'émergence de souches multirésistantes, et les difficultés thérapeutiques qui en découlent, participent à l'aggravation du pronostic de ces infections [5].

En réanimation néonatale, qui est un service classé comme une unité de très haut risque, les nouveau-nés sont considérés comme des patients à haut risque d'infection nosocomiale corrélée surtout à l'âge gestationnel et le faible poids, plus sévères chez les prématurés dont la survie est largement associée à de longues périodes d'hospitalisation. L'usage de dispositifs invasifs (sondes d'intubation ; cathéter veineux central) responsable de l'effraction de la barrière muqueuse et l'usage

abusif et irrationnel d'antibiotiques à large spectre est responsable d'un déséquilibre de l'écosystème bactérien avec émergence de souches multirésistantes [6,7]. En effet, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime la survenue globale de décès néonatal à 2,8 millions en 2015 et 47,6% sont dues à l'INN [8].

Seuls un diagnostic précoce et une antibiothérapie probabiliste, basée sur une écologie bactérienne connue, permettent de diminuer les complications telles que: le choc septique, la coagulation intravasculaire disséminée ou l'insuffisance rénale aiguë, à l'origine d'un taux élevé de mortalité.

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects épidémiologiques et les profils bactériologiques des bactériémies acquises au service de réanimation néonatale du centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès

MATERIEL ET METHODES

1. Présentation de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive, effectuée au laboratoire de Microbiologie du CHU Hassan II de Fès, durant une période d'une année, allant du 1er Janvier au 31 décembre 2016, portant sur 186 hémocultures positives par rapport à 896 hémocultures reçus.

2. Critères d'inclusion :

Notre étude a porté sur tout échantillon d'hémoculture provenant du service de réanimation néonatale dont les patients sont les nouveaux nés d'âge compris entre 0 et 28 jours hospitalisés et pour qui un examen cyto bactériologique d'hémoculture est positif.

3. Critères d'exclusion :

Ont été exclus de l'étude :

- Les Doublons
- Toute hémoculture jugée contaminée après confrontation clinique et biologique.

4. Recueil des données :

Nous avons fait appel à une fiche d'exploitation comportant :

- Numéro de demande, IP, sexe.
- L'anamnèse infectieuse de la maman,
- Le motif d'hospitalisation du nouveau-né.
- les caractères bactériologiques de l'hémoculture.
- L'antibiogramme.

Fiche d'exploitation	
Numéro d'échantillon	
IP	
Nom et prénom	
Sexe	F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/>
Anamnèse infectieuse de la maman	Négative <input type="checkbox"/> Positive <input type="checkbox"/>
Voie d'accouchement	Haute <input type="checkbox"/> Basse <input type="checkbox"/>
Motif d'hospitalisation du nouveau-né.	
Germe isolé	
Antibiogramme	Sensible à : Résistant à :

5. Analyses bactériologiques des Hémocultures :

a. Recueil des hémocultures :

Les hémocultures étaient réalisées par ponction veineuse périphérique ou de la veine fémorale et parfois au niveau du cathéter veineux central. Une quantité de 2 à 5 ml de sang prélevée est ensuite injectée dans un flacon d'hémoculture pédiatrique.

Les hémocultures étaient réalisées chaque fois qu'une bactériémie est suspectée chez les patients présentant un syndrome infectieux.

b. Culture :

Les flacons sont ensuite incubés dans le BACTEC 9240 jusqu'à signalement de la positivité et maximum pendant 07 jours pour les faire sortir négatives.

Les flacons positifs sont ensemencés sur des géloses de sang (COS) et chocolat (PVX) après réalisation d'un examen direct avec coloration de Gram à partir du flacon.

Le Gram permet de choisir le milieu de culture en fonction de la catégorie du germe responsable de la bactériémie et permet après la pousse de choisir les galeries d'identification et également les antibiotiques à tester.

c. Identification

- Identification des différents caractères biochimiques en utilisant des galeries Api.
- Identification sur automate : Phoenix BD (Becton Dickinson)

d. Antibiogramme

- Lecture et interprétation des tests d'antibiotiques automatisée : Phoenix BD (Becton Dickinson)
- Méthodes de diffusion en milieu gélosé : ensemencement d'une surface gélosée de Muller Hinton. Puis dépôt, à la surface du milieu gélosé, de disques de papier buvard imprégnés d'antibiotiques à tester. Incubation pendant 24h à 37°C.

Apparition de zones d'inhibition circulaires entourant les disques et qui correspondent à l'absence de culture. La lecture et l'interprétation des résultats ont été réalisées en comparant les diamètres des zones

d'inhibition obtenus à ceux du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie /European society of antimicrobial susceptibility testing (CA-SFM/EUCAST)

Les antibiotiques testés dans cette étude sont choisis en fonction du germe isolé.

I. Incidence :

Durant la période d'étude, 896 prélèvements d'hémocultures ont été reçus dans notre service de microbiologie en provenance du service de néonatalogie, dont 186 étaient retenues comme témoins d'une bactériémie vraie, donnant un taux de positivité des hémocultures à 21%.

Tableau 1 : Répartition des prélèvements d'hémocultures analysés
durant notre période d'étude

Prélèvements	Nombre	Fréquence
Prélèvements à culture négative	710	79%
Prélèvements à culture positive	186	21%
Prélèvements total testé	896	100%

II. Les caractéristiques des patients :

1. Répartition des hémocultures positives selon le sexe:

La répartition selon le sexe était presque équitable avec une légère prédominance du sexe masculin, soit 99 garçons (53%), et 87 filles (47%), avec une sex-ratio de 1,13 (tableau :2)(figure :2).

Tableau 2 : Répartition des nouveau-nés selon le sexe

SEXE	NOMBRE	%
Garçons	99	53%
Filles	87	47%

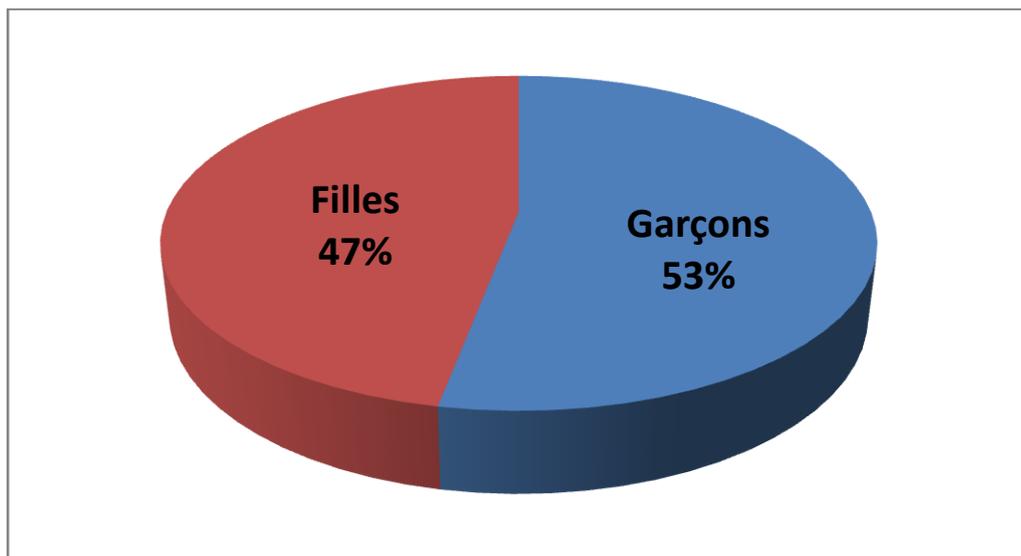


Figure 2: répartition selon le Sexe

2. L'anamnèse infectieuse :

L'anamnèse infectieuse chez la maman était positive dans 30% des cas.

3. La voie d'accouchement :

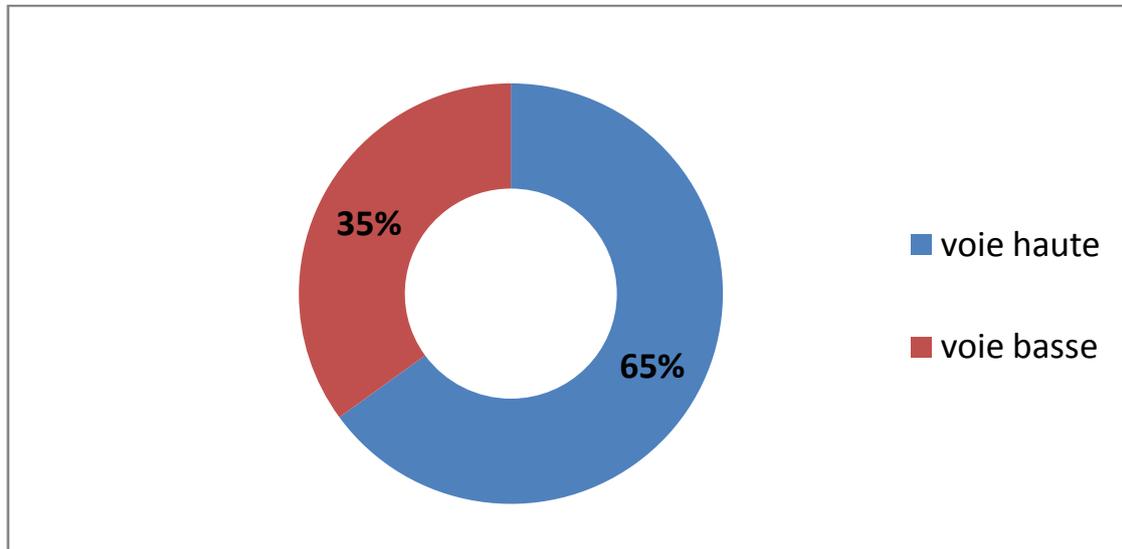


Figure 3 : Répartition selon la voie d'accouchement

65% des nouveau-nés présentant une bactériémie étaient accouchés par césarienne face à 35% par voie basse (figure :3).

4. Le motif d'hospitalisation du nouveau-né : (Figure 4)

56% des cas le motif d'hospitalisation était une détresse respiratoire.

23% des cas : une occlusion néonatale.

5% des cas : une fièvre.

5% des cas : un syndrome hémorragique.

2% des cas : une déshydratation.

2% des cas : un état de mort apparente.

7% des cas : autres motifs.

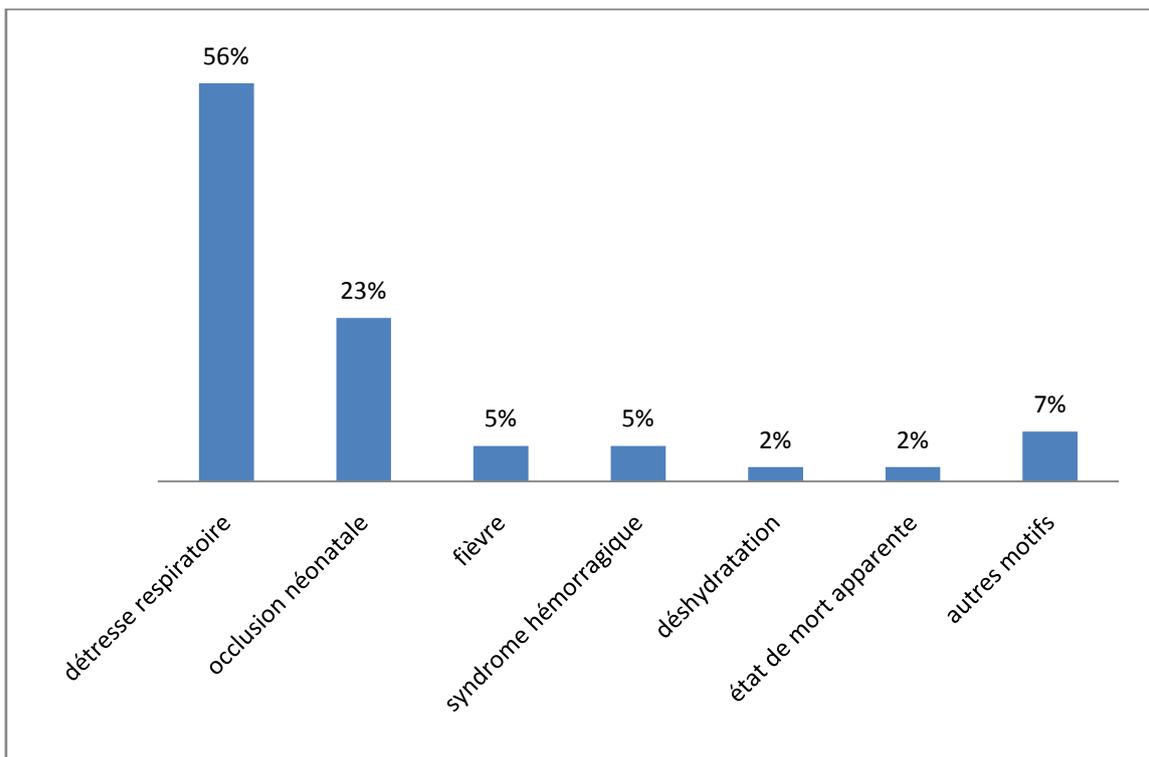


Figure4: Le motif d'hospitalisation du nouveau-né

III. Répartition des bactéries selon les espèces :

1. Répartition globale des germes

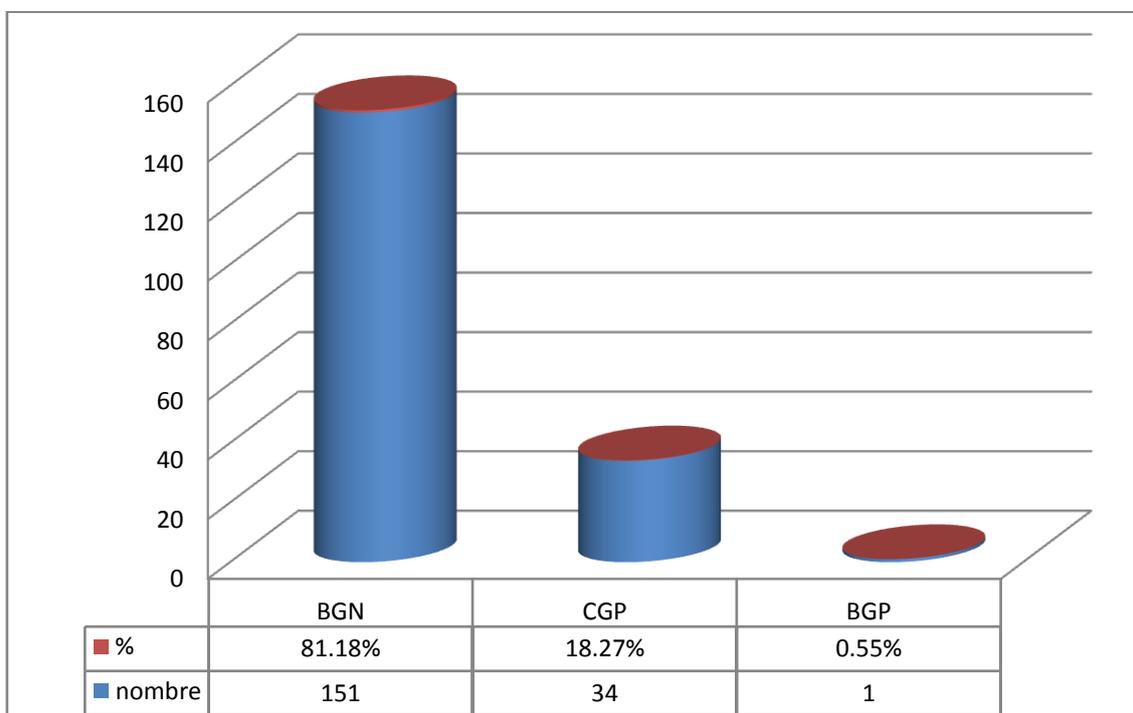


Figure 5 : Répartition globale des germes

Dans notre étude on a remarqué une prédominance des Bacilles à Gram Négatif (BGN) au sein des germes isolés dans les prélèvements des hémocultures avec un pourcentage de 81.18%, alors que les cocci à Gram positif (CGP) n'ont été isolés que dans 18.27% des cas. Un cas de Bacille à Gram Positif (*Listeria monocytogenes*) a été retrouvé durant cette année (figure :5).

2. Répartition des différentes souches bactériennes

isolées dans les hémocultures :

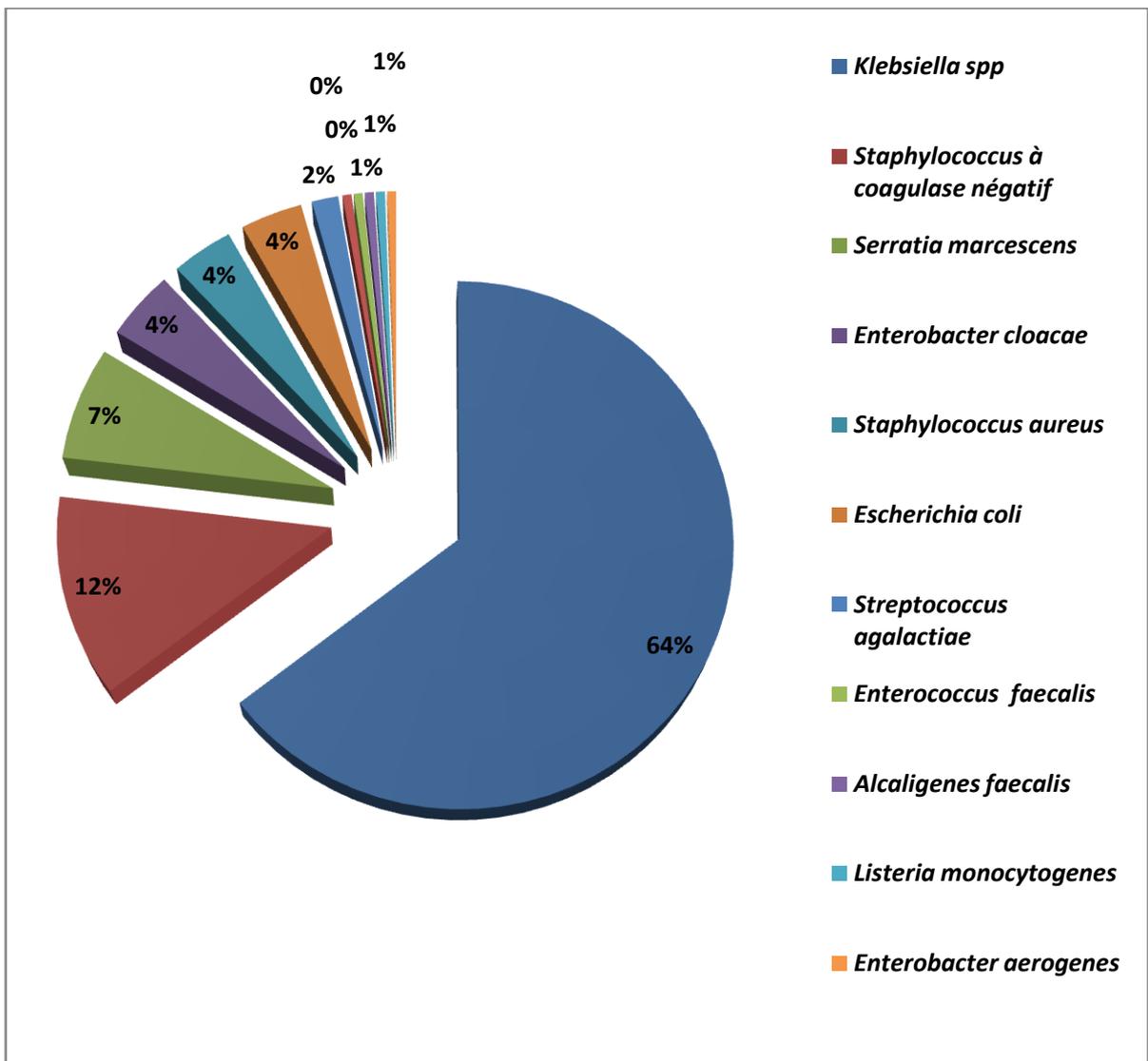


Figure6: Répartition des souches bactériennes isolées

La *Klebsiella sp* était le principal germe isolé au cours de notre étude avec un pourcentage de 64%.

3. Répartition des Entérobactéries selon les espèces bactériennes :

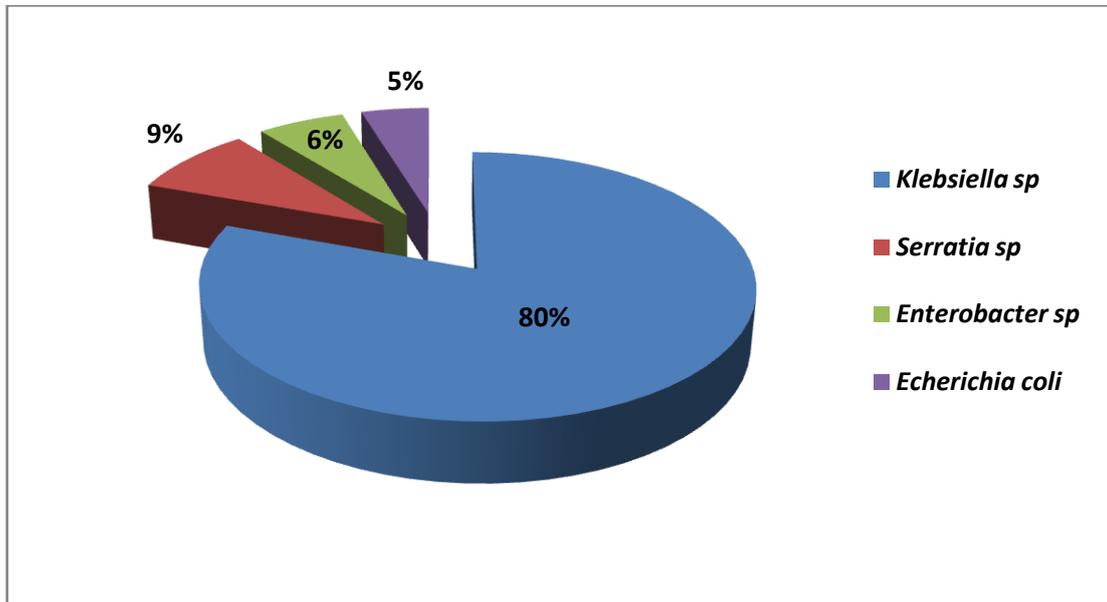


Figure7: Répartition des Entérobactéries selon les espèces bactériennes

Les entérobactéries isolées étaient prédominées par l'espèce *Klebsiella sp* avec un pourcentage de 80%.

4. Répartition des CGP selon les espèces bactériennes :

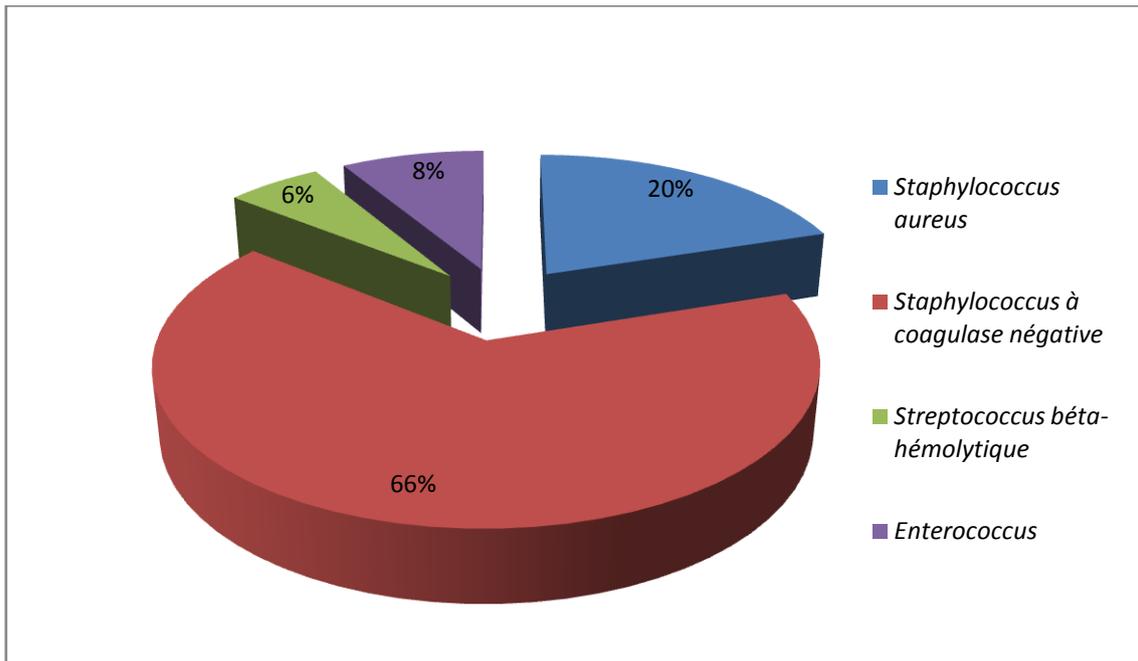


Figure 8 : Répartition des CGP selon les espèces bactériennes

Les CGP constituent 18.27% des germes responsables des bactériémies de notre étude, répartis entre le SCN qui occupe la majeure partie avec un pourcentage de 66% suivie du *Staphylococcus aureus* avec un pourcentage de 20%, le *Streptococcus bêta-hémolytique* n'était isolé que dans 8% des cas, l'*Enterococcus* également dans 6% des cas (figure :8).

IV. Etude de la résistance aux antibiotiques :

1. Les entérobactéries :

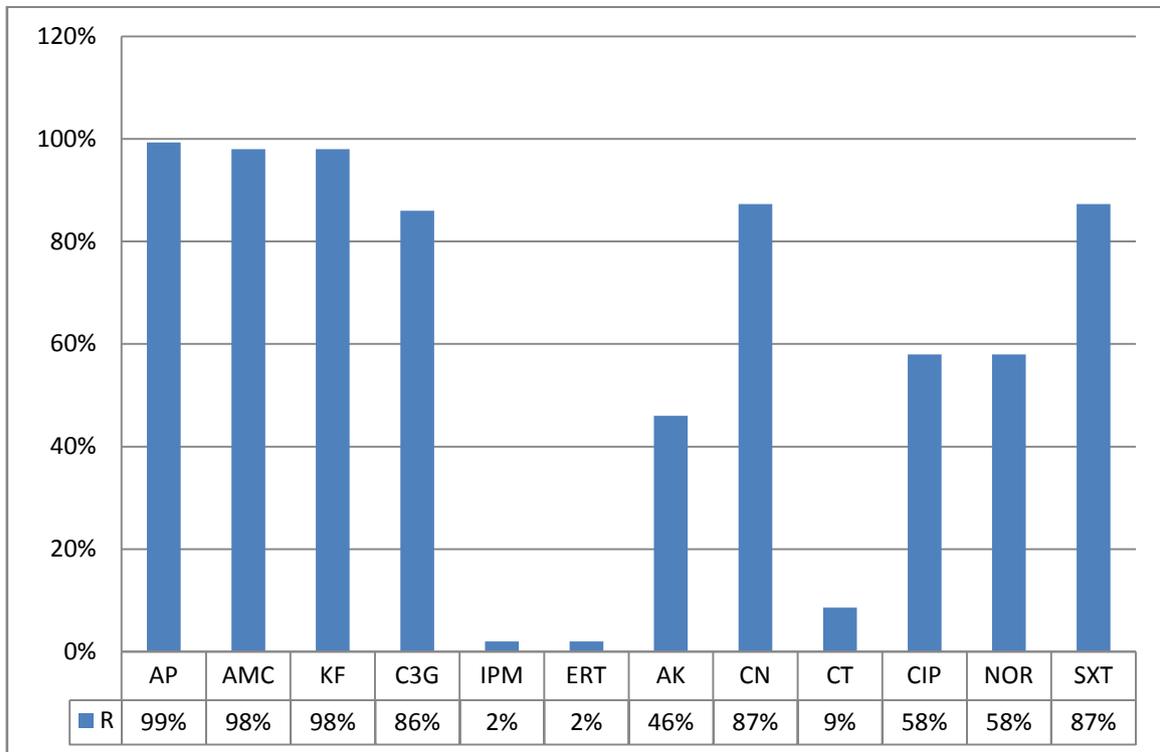


Figure 9 : profil de résistance des entérobactéries

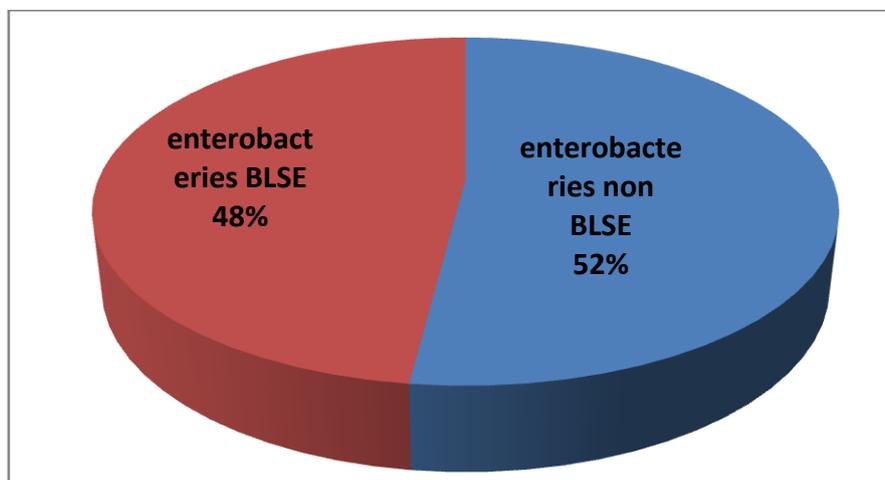


Figure 10: pourcentage des entérobactéries productrices de BLSE

Au cours de notre étude on a noté que 48% des entérobactéries étaient productrices de BLSE (bêtalactamase à spectre élargi) avec 3 cas de *Klebsiella pneumoniae* sécrétrice de carbapénémase.

a. Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* :

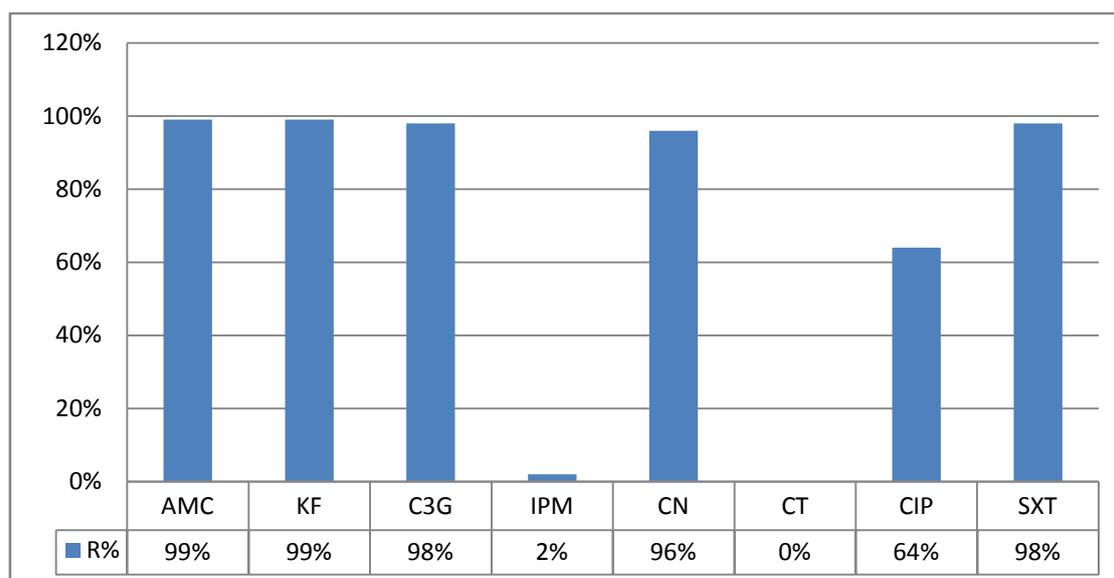


Figure 11: Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae*

Au cours de notre étude, *Klebsiella pneumoniae* présentait une résistance à l'Amoxicilline Acide Clavulanique et la Céfalotine avec le même pourcentage (99%) aux Céphalosporines de 3^{ème} génération et au Triméthoprime Sulfaméthoxazole avec le même pourcentage (98%), à la Gentamycine et la Ciprofloxacine avec des pourcentages respectifs de (96%), (64%). Par ailleurs, la quasi-totalité des souches isolées étaient sensibles à l'Imipénème (98%).

b. Profil de résistance de *Escherichia coli*

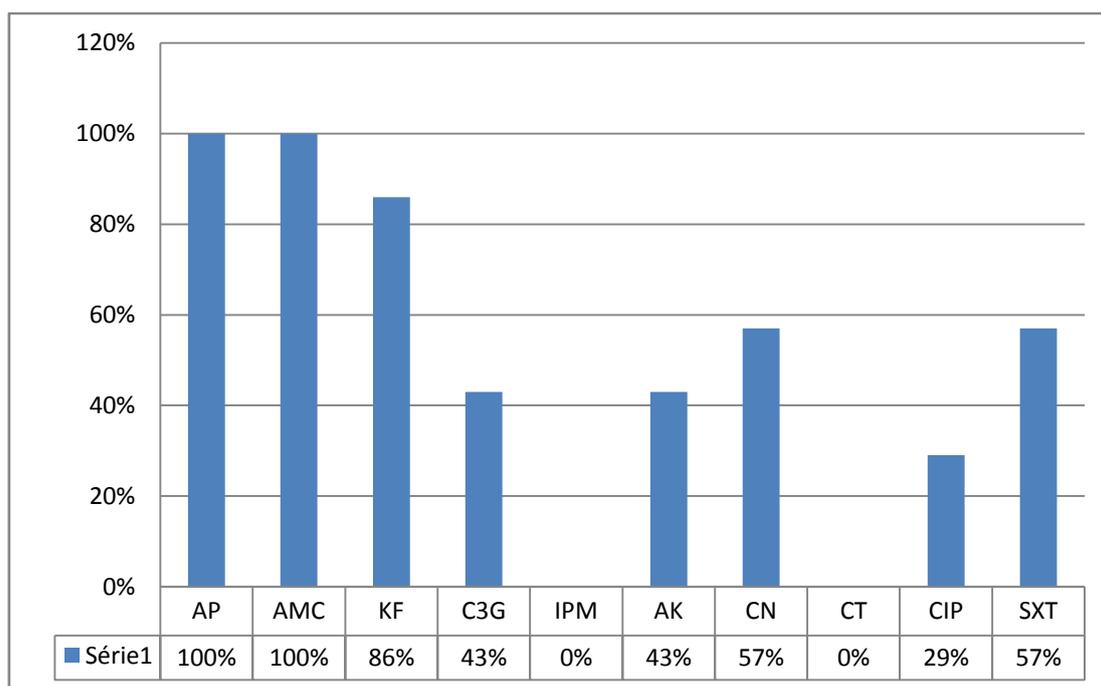


Figure 14: Profil de résistance de *Escherichia coli*

Les souches isolées de *Escherichia coli* avaient une résistance totale aux Aminopénicillines et l'Amoxicilline Acide Clavulanique, leur pourcentage de résistance à la Céfalotine était de (86%). Pour le Triméthoprime Sulfaméthoxazole et la Gentamycine cette souche était résistante dans (57%).

L'Amikacine et les céphalosporines de 3^{ème} génération étaient résistants dans (43%), tandis que les quinolones (29%).

Toutes les souches d'*Escherichia coli* isolées étaient sensibles à l'Imipénème.

2. Les Cocci à Gram Positifs :

a. Profil de résistance du *Streptococcus* *béta-hémolytique (agalactiae)*:

Tableau 3 : Profil de résistance des 3 cas de *streptococcus* *béta-hémolytique (agalactiae)*

	P	AP	AMC	OXA	CN500	VA	TEIC	LEV	E	SP	My	SXT	C3G
1 ^{er} cas	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	S
2 ^{ème} cas	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S
3 ^{ème} cas	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S

Au cours de notre étude on a isolé 3 souches de *Streptococcus* *beta-hémolytique (Agalactiae)*, les 3 souches étaient résistantes à la Lévofloxacine, la Lincomycine et le sulfaméthoxazole + Triméthoprime, 2 souches étaient résistantes à la Spiramycine, 1 souche était résistante à la Gentamicine 500 et les 3 souches étaient sensibles à la Penicillines A et G, à l'Oxacilline, la Vancomycine, la Teicoplanine, l'Erythromycine, et les cephalosporines de 3^{ème} génération.

b. Profil de résistance du *Staphylococcus aureus*

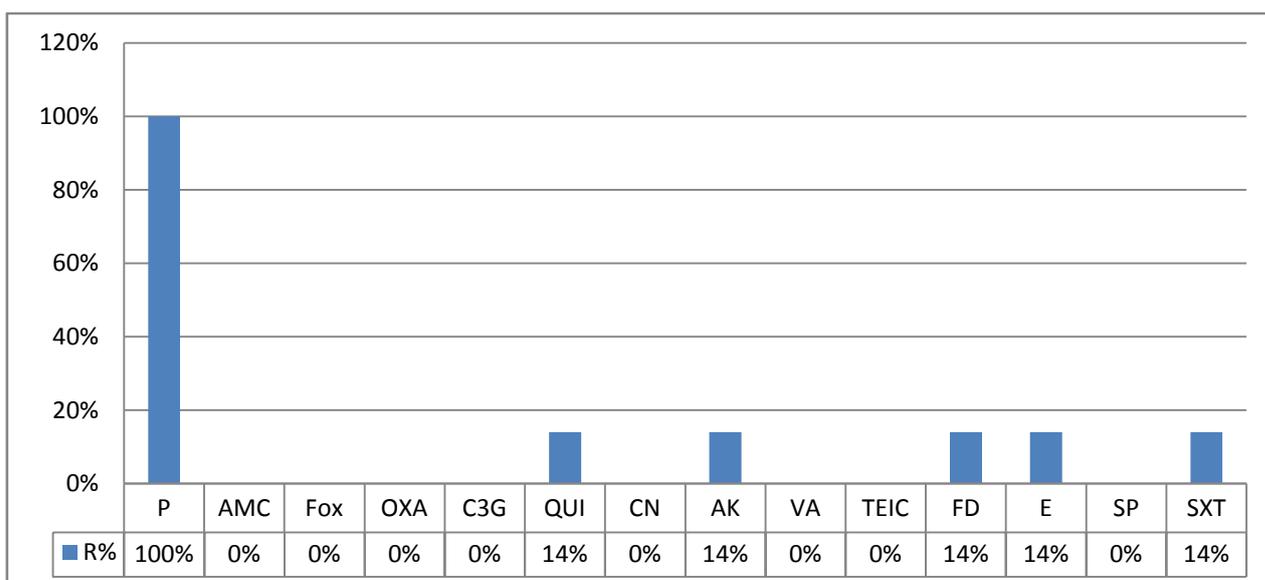


Figure 15 : Profil de résistance du *Staphylococcus aureus*

Pour le *Staphylococcus aureus*, nous n'avons pas noté de résistance à la Mécilline, les Glycopeptides, les Céphalosporines 3^{ème} génération et la Spiramycine , toutes les souches présentaient une pénicillinase et 14% étaient résistantes à l'association Triméthoprime + Sulfaméthoxazole, les Quinolones, l'Erythromycine, l'Acide fusidique et l'Amikacine.

c. Profil de résistance de *Staphylococcus* à coagulase négative:

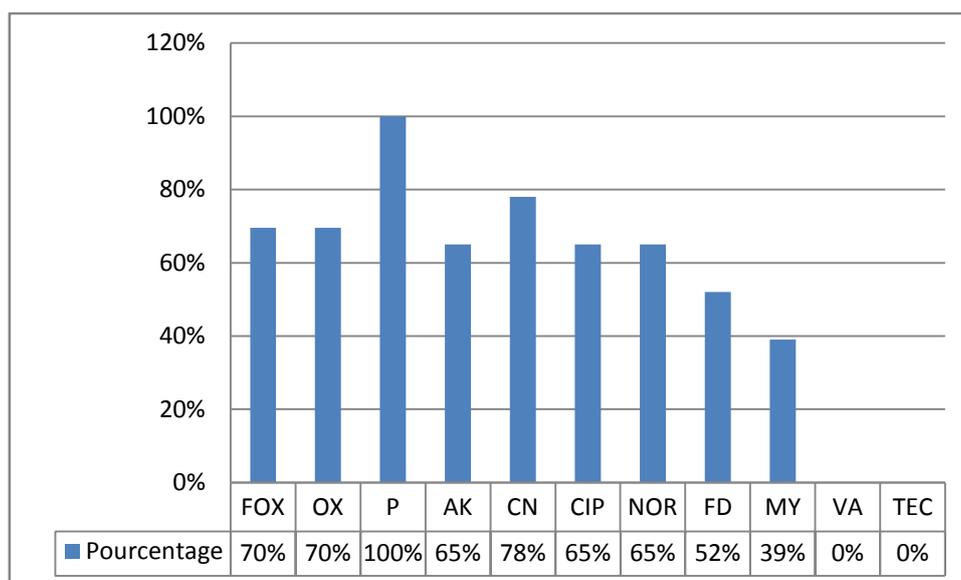


Figure 16 : Profil de résistance du *Staphylococcus* à coagulase négative

Pour les souches isolées de *Staphylococcus* à coagulase négative, la résistance à la Méricilline était de 70 %.

DISCUSSION

I. Epidémiologie et Rappel

L'infection néonatale (INN) est un syndrome clinique de bactériémie caractérisé par des signes et symptômes cliniques survenant chez un nouveau-né de 0 à un mois de vie, pouvant s'étendre jusqu'à 3 mois [9, 10]. C'est un problème majeur de santé publique par sa forte mortalité.

Rappelons que la bactériémie est définie par la présence dans le sang de bactéries viables. Elle peut être transitoire, asymptomatique, ou, au contraire s'accompagner de manifestations cliniques majeures [1]. Elle peut être primaire (quand le germe pathogène isolé dans l'hémoculture n'est pas impliqué dans l'infection d'un autre site) ou secondaire (quand le micro-organisme isolé dans l'hémoculture est déjà impliqué dans l'infection d'un autre site de l'organisme) [2].

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime la survenue globale de décès néonatal à 2,8 millions en 2015 dont 47,6% sont dues à l'INN [8].

Notre étude conserve une fréquence relativement importante de survenue de bactériémie en néonatalogie de 21%. Dans l'étude de Chemsî à Casablanca la bactériémie représentait 31.4% des infections NN et le taux d'incidence a été de 2.4%. Dans une étude multicentrique européenne [11] la bactériémie, représentait le site le plus fréquent (71 %) avec une incidence de 7,9 %. En Turquie, l'incidence de la bactériémie a été de 32 à 53 % et l'étude saoudienne avait noté une incidence de 40,9 % [12], alors que dans une étude japonaise [13] l'incidence a été de 5 %.

Notre étude a connu une légère prédominance du sexe masculin 99 cas (53%) par rapport au sexe féminin 87 cas (47%) avec un sex-ratio de 1.13. Même chose a été rapporté dans l'étude de Sandrine au Cameroun [14] avec un sex-ratio de 1.63 et l'étude d'Andrianarivelo à Madagascar [15] avec un sex-ratio de 1.38, contrairement à l'étude de Balaka en Togo [16] et Chemsî à Casablanca au Maroc [17] qui ont eu une prédominance du sexe féminin avec des sexes-ratio respectivement comme suivant 0.85 et 0.84 (tableau 5).

Tableau 5 : comparaison du sex-ratio avec les autres études

	Notre étude M>F	Sandrine M>F	Andrianarivelo M>F	Balaka F>M	Chemsî F>M
Sex-ratio	1.13	1.63	1.38	0.85	1.63

La détresse respiratoire était le motif d'hospitalisation le plus fréquent avec un pourcentage de 56% ce qui a concordé avec l'étude de Chemsî [17] avec un pourcentage de 65.7%.

Rappelons que, selon les études la plupart des bactériémies sont intermittentes. En outre, la culture peut être compromise par la coexistence de substances inhibitrices dans le sang.

Les prélèvements doivent donc obéir à certaines règles : [18,19].

- Une asepsie rigoureuse,
- Faire les prélèvements au moment des pics fébriles (température > 38,5°C) ou en cas d'hypothermie < 36°C) ;
- Faire les prélèvements le plus tôt possible, dès la suspicion de la bactériémie,

- Les faire si possible avant le démarrage de l'antibiothérapie,
- Faire trois prélèvements par jour pour augmenter la sensibilité,
- La ponction veineuse et la seule méthode fiable. Le prélèvement par cathéter augmente le taux de contamination,
- Prélever un volume de sang de l'ordre de 10 ml au minimum chez l'adulte afin d'obtenir une dilution à 1/10. Chez l'enfant, ce volume est de 5 ml.

Dès l'arrivée au laboratoire, les flacons d'hémoculture sont incubés à l'étuve à 37°C.

Ils sont examinés chaque jour. Une incubation pendant 7 jours pour les méthodes conventionnelles et 5 jours pour les automates est suffisante dans la majorité des cas. Cependant un temps d'incubation plus long est nécessaire lorsque une bactérie à culture difficile est suspectée ou dans des contextes cliniques particuliers (endocardites, patients sous antibiothérapie) [20].

La détection se fait soit par :

Méthodes conventionnelles : Examen macroscopique des flacons
Chaque jour, ou mieux deux fois par jour. Les flacons sont inspectés en vue de rechercher des signes témoignant d'une croissance visible.

Le développement d'un micro-organisme peut se manifester différemment par [18] :

- Un trouble du bouillon surnageant,
- Une coloration du surnageant (hémolyse),
- Coagulum
- Production de gaz.

Automatiques : les automates sont fermés et utilisent leur propres flacons, voir leur propres systèmes de prélèvement.

Le principe de lecture est la détection du CO₂ soit par infrarouge, fluorescence ou par spectrométrie en fonction du type de l'appareil utilisé.

La coloration de Gram permet d'orienter le diagnostic. La mobilité lorsqu'elle existe est évidente.

Deux cas de figure peuvent se présenter [20]: un seul type de bactérie est observé: il s'agit d'une bactériémie mono microbienne ou deux types de bactéries sont observés: il s'agit soit :

- d'une bactériémie poly microbienne due à des germes pathogènes ;
- d'une bactériémie mono microbienne doublée du développement d'une souillure [20].

Les bactériémies sont des infections sévères qu'il convient de traiter de manière urgente et efficace. C'est pour cela que l'antibiogramme doit être réalisé directement à partir du bouillon d'hémoculture dès qu'une culture peut y être décelée.

L'isolement sur gélose permet de vérifier la pureté de la souche qui s'est développée et de compléter la galerie d'identification, laquelle ne doit être interprétée que si la souche est pure [18].

L'importance clinique d'une hémoculture positive est donc variable et son interprétation s'avère parfois difficile. Dans son évaluation, le clinicien peut considérer divers paramètres [21]: le degré de sévérité des manifestations cliniques, le germe responsable et sa

mortalité attribuable, le nombre d'hémocultures positives sur le nombre total effectué, le nombre de microorganismes différents isolés par flacon d'hémoculture (épisode uni- versus poly microbiens), l'intensité de la bactériémie/ fongémie (nombre de «unité formant colonie» ; CFU/ml) et la vitesse de croissance en culture. [19].

Pour pouvoir poser le diagnostic d'une bactériémie [22] il faut avoir au moins une hémoculture positive prélevée au pic thermique (avec ou sans signes cliniques).

Sauf pour les micro-organismes suivants :

- Staphylocoques à coagulase négative (SCN).
- Bacillus spp.
- Corynebacterium spp.
- Propionibacterium spp.
- Micrococcus spp.
- Bacilles Gram négatif aérobies et oxydatifs (ex : Alcaligenes xanthomonas).
- Acinetobacter spp.
- Pseudomonas autre que *P. aeruginosa*.

Ou autres micro-organismes à potentiel pathogène comparable pour lesquels deux hémocultures positives prélevées lors de ponctions différentes sont exigées.

II. Profil Bactériologique :

Dans notre étude la répartition des bactéries isolées, en fonction des groupes bactériens a permis de constater que les bacilles à Gram négatif (BGN) sont la première cause de bactériémies néonatales et qu'ils représentaient 81.18% de la flore microbienne. Alors que les cocci à Gram positif représentent un taux de 18.27%. L'étude de Chemsî à Casablanca a également retrouvé la même chose, leur répartition était comme suivant les BGN 80% et CGP 20% [17]. A Marrakech [22] c'était le contraire avec une prédominance des CGP avec un pourcentage de 51.5% par rapport aux BGN 38%.

Tableau 6 : tableau de comparaison des profils bactériologiques avec les autres études

	Notre étude	Chemsi Casablanca [32]	Lemsanni Merrakech [34]
BGN	81.18%	80%	38%
• KP	80%	37.5%	24%
• E.coli	5%	–	12%
• Enterobacter sp	6%	50%	12%
• Serratia sp	8%	–	8%
• Autres	1%	12.5%	44%
CGP	18.27%	20%	51.5%
• Staph A	20%	–	61.5%
• SCN	66%	–	29.5%
• Enterococcus sp	8%	10%	9%
• Strepto	6%	10%	–
Autres	0.5% (BGP)	–	10.5% (candida)

Dans notre étude les CGP étaient dominés par *les Staphylococcus à coagulase négative* avec un pourcentage de 65.7% de l'ensemble des CGP isolés contrairement à l'étude de Sandrine et celle de Lemsanni qui ont isolé surtout des *Staphylococcus Aureus* avec des pourcentages respectivement 58.8% et 61.5%. Bien qu'ils soient considérés comme des germes peu virulents, la présence des SCN dans le sang a été jugée responsable d'une surmortalité estimée à 10 à 30%. [20].

Cependant, les SCN étant les composants principaux de la flore cutanée, on comprend qu'ils puissent contaminer les hémocultures. Le même type de problèmes se pose avec *Micrococcus*, *Bacillus*, *Corynebactérium* et *Propionibactérium*spp.

Affirmer la responsabilité de ces germes dans un état septique reste un exercice délicat. Dans la plupart des cas et surtout en réanimation, il s'agit de malades porteurs de cathéters, et donc il est probablement raisonnable, d'admettre que deux hémocultures sont positives avec la même souche.

Cependant ce critère n'est pas à l'abri de toute critique: deux souches de SCN peuvent s'avérer différentes par techniques de biologie moléculaire, malgré un antibiotype identique. Inversement, des différences sur le phénotype de résistance à certains antibiotiques n'excluent pas la similitude entre deux souches [23].

Le nombre d'hémocultures positives avec une souche apparemment identique reste un critère déterminant; encore que plusieurs études récentes suggèrent qu'une seule hémoculture positive à SCN peut traduire une bactériémie vraie et qu'en tout état de cause « le clinicien ne devrait pas fonder sa décision de traiter ou non selon le nombre d'hémocultures positives [24].

III. Profil de résistance des bactéries isolées

La sensibilité des germes aux antibiotiques dépend de la situation épidémiologique de chaque hôpital et de l'écologie microbienne de chaque structure. La gravité des infections nosocomiales en milieu de réanimation est en grande partie due à la multi-résistance des germes en cause. La pression de sélection liée aux traitements antibiotiques administrés et l'existence même dans l'environnement d'un support génétique permettant la sélection des souches résistantes sont autant de facteurs importants dans l'évolution de la résistance aux antibiotiques [25]. D'un autre côté, le laboratoire de microbiologie joue un rôle décisif dans la lutte contre les germes résistants puisque le relevé périodique de l'évolution de la résistance des bactéries isolées dans le service permet de guider l'antibiothérapie empirique en cas d'infection sévère sans se baser uniquement sur des publications étrangères [26].

- **Profil de résistance de la *Klebsiella pneumoniae* :**

Différentes études de surveillance mondiale ont confirmé l'ampleur de la production des bêtalactamases chez *Klebsiella pneumoniae*. En Europe, entre 1997 et 2004, la prévalence de *Klebsiella* productrice de bêtalactamases, est passée de 9 à 13.6 % selon le programme «MeropenemYearlySusceptibility Test Information Collection» (MYSTIC). Des études réalisées en France, en Italie, en Espagne, en Belgique et en Pologne corroborent ce résultat [27,28].

Dans notre étude, 57 % des souches de *Klebsiella pneumoniae* étaient sécrétrices de bêtalactamases à spectre élargi et multi-résistantes. C'est un taux effrayant comparé à la valeur donnée dans l'étude faite à Marrakech, les *Klebsiella pneumoniae sécrétrices de BLSE* étaient calculés à 14%, par contre notre valeur reste nettement plus basse que la valeur donnée en Tunisie par l'étude de BEN JABALLAH qui a montré que le taux de *Klebsiella pneumoniae* produisant des bêtalactamases à spectre élargi dépassait les 80 % [29]. La fréquence des souches multi-résistantes a été également notée dans d'autres études tunisiennes publiées à ce sujet [30–32] ainsi que dans les études émanant d'autres pays en voie de développement [33] et résulte, vraisemblablement, de l'usage abusif des antibiotiques à large spectre et notamment des céphalosporines de troisième génération. Dans l'étude multicentrique européenne, la proportion de *Klebsiella pneumoniae* sécrétrice de bêtalactamases à spectre élargi en réanimation pédiatrique était de 37.5 %.

Par ailleurs, 3 de nos nouveau-nés étaient colonisés par

Klebsiella pneumoniae productrice de carbapénémase.

À la naissance, le tube digestif est stérile. Sa colonisation débute par les entérobactéries et aboutit à une flore équilibrée de plus de 10^{10} germes en moins de 10 jours [34–36]. Ce processus est retardé chez le grand prématuré, chez lequel le tube digestif peut rester stérile plusieurs jours, puis se colonise avec une flore pauci- ou monomorphe par des staphylocoques à coagulase négative (SCN). Une translocation intestinale est la conséquence d'un déséquilibre de la flore induit par l'antibiothérapie et/ou la stase intestinale. Une concentration élevée d'une espèce bactérienne supérieure à 10^8 – 10^9 germes/g de selles peut se compliquer de bactériémie ou septicémie chez le nouveau-né [34–36]. Toutefois, la pullulation microbienne est une condition nécessaire mais non suffisante. La translocation est favorisée par l'ischémie mésentérique et une immaturité des défenses immunitaires locales (absence d'IgAs) et générales. Toutefois, la colonisation du tractus digestif par un germe pathogène peut entraîner une infection systémique en dehors de toute antibiothérapie et en l'absence de pullulation.

- **Profil de résistance des CGP :**

Dans notre étude le taux de résistance à la Méricilline chez le *Staphylococcus aureus* était de 0 %, contrairement à d'autres études faites à Casablanca au CHU Ibn Rochd [37], à Marrakech au CHU Qadi Ayad [22] et en réanimation pédiatrique péruvienne [38] chez qui le taux de résistance à la méricilline chez *Staphylococcus aureus* était respectivement de 83 %, 14 % et 50 %.

Quant au *Staphylocoque* à coagulase négative, son profil a été marqué par une résistance élevée à la méricilline, de l'ordre de 100 %, 59 % et 70%, respectivement au Pérou [38] à Marrakech [22] et dans notre étude.

D'autre part, la résistance des CGP aux Glycopeptides était nulle que ça soit dans notre étude ou celle de Marrakech.

IV. Mesures préventives :

Afin de prévenir la transmission de germes potentiellement pathogènes au sein du personnel et de la population hospitalisée, un certain nombre de mesures préventives doivent être appliquées par tout le personnel en contact direct avec les patients. Elles sont classées sous les appellations « précautions standards » et « Précautions additionnelles ».

a. Précautions standards :

Elles visent à prévenir la transmission de germes véhiculés par le sang, ou les autres liquides/substances biologiques à travers la peau intacte. Les précautions standards, doivent s'appliquer lors des soins, à toute personne hospitalisée quel que soit son statut médical. Elles consistent en l'application d'un certain nombre de procédures :

- **Hygiène des mains :** Plus de 90% des infections nosocomiales sont manu-portées de façon directe ou indirecte. Le lavage des mains a pour objectif de réduire la flore microbienne présente à la surface de la peau, et donc de prévenir la transmission de micro-organismes d'un patient à autre [39].

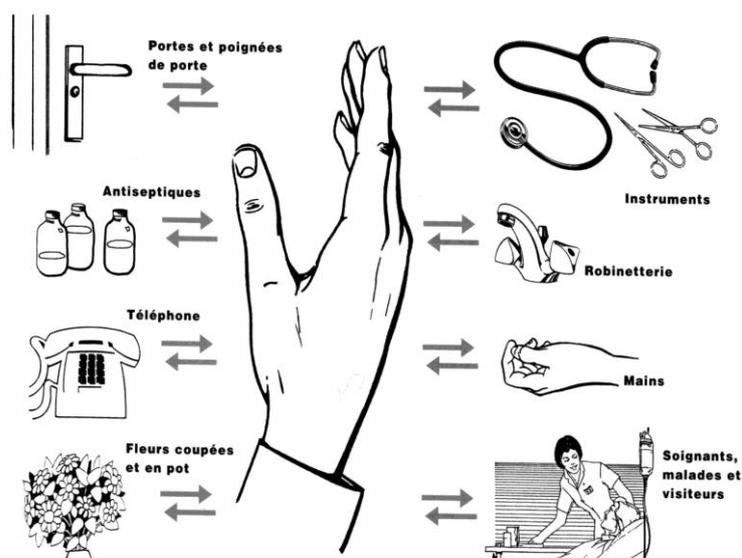
Il est essentiel de procéder donc à une désinfection hygiénique des mains par friction avec une solution ou un gel hydro-alcoolique avant tout contact avec le patient, après contact avec du sang ou les autres liquides biologiques



- **Le port de gant**
- **Port d'une coiffe, un masque chirurgical et de lunettes de protection**
- **Tenue professionnelle** : Elle doit être portée exclusivement dans l'enceinte de l'établissement par toute personne effectuant ou observant des soins
- **Hygiène des actes à haut risque d'infection** :
 - ❖ **Infections liées au sondage** : La prévention des infections liées au sondage vésical consiste au prélèvement d'urine en système clos.
 - ❖ **Infections liées aux cathéters** : Chez l'adulte comme chez l'enfant, il ne faut pas systématiquement utiliser les cathéters veineux centraux imprégnés d'antiseptiques ou d'antibiotiques, il faut plutôt utiliser des solutions antiseptiques alcooliques pour l'asepsie de type chirurgical et changer les tubulures après chaque transfusion sanguine ou tous les jours après perfusion à d'émulsions lipidiques.
 - ❖ **Infections liées à la ventilation mécanique** : Il faut considérer la ventilation non invasive (VNI) comme une mesure de prévention des infections nosocomiales à chaque fois qu'elle peut

remplacer la ventilation endo-trachéale [40]. Des mesures de prévention plus au moins spécifique à la ventilation doivent néanmoins être respectés. Les principales mesures consistent à profiter du caractère non invasif de cette ventilation pour réduire les facteurs de risque et les autres procédures invasives indirectement liées à la présence de l'assistance ventilatoire. Certaines mesures concernant le circuit de ventilation et de l'humidification peuvent être proposées, ainsi que les mesures non spécifiques afin d'éviter la contamination.

- ❖ **Les aspirations pharyngées et trachéales** : elles doivent être réalisées avec des sondes à usage unique.



- **Gestion de l'environnement** : Nettoyage, désinfection, stérilisation des dispositifs médicaux : endoscopes, respirateurs, incubateurs...
 - Entretien des locaux d'hospitalisation.
 - Gestion de l'environnement des blocs opératoires, des salles d'accouchement...

- Maîtrise de la qualité de l'environnement (air, eau, surfaces, linge alimentation...).
- Gestion des déchets d'activité de soins.

b. Précautions additionnelles :

Elles s'appliquent en complément aux précautions standards dans certaines situations particulières. Elles visent soit à protéger un patient immuno-compromis de la contamination par des germes présent dans l'environnement hospitalier et on parle alors d'isolement protecteur ; soit à prévenir la transmission de germes pathogènes d'un patient vers les autres patients et on parle alors d'isolement infectieux ; la transmission des germes pouvant se faire, selon leur type, soit par le contact, soit par gouttelettes, soit par aérosol ou selon plusieurs modes, il est donc nécessaire parfois d'associer 2 types d'isolement.

CONCLUSION

A travers cette étude, nous avons constaté que parmi les 896 prélèvements reçus, le taux des bactériémies était de 21 % (186 cas), prédominé par les bacilles Gram négatifs dont la *Klebsiella spp* était le germe qui a été le plus isolé (80 % des BGN) avec multirésistance. Les bacilles Gram négatifs productrices de BLSE était rencontrée dans plus de 48% des cas. Ce taux très élevé attire l'attention sur la fréquence des multirésistances bactériennes dans le service de néonatalogie dans notre CHU pouvant ainsi expliquer la mortalité néonatale.

Il serait donc nécessaire d'avoir une collaboration entre clinicien et biologiste pour bien cerner ce problème et limiter l'émergence de nouvelles souches résistantes.

Une bonne maîtrise des facteurs de risque réduirait l'incidence des bactériémies néonatales. La création d'un système de surveillance, l'amélioration des moyens d'hygiène et une politique globale pour une organisation de lutte contre l'infection nosocomiale est incontournable.

La prévention reste le seul moyen pour limiter le risque de survenu de ce type d'infection. Reposant sur :

- La mise en œuvre d'un système de surveillance épidémiologique.
- L'établissement de recommandations écrites précisant les règles d'hygiène et d'asepsie.
- La formation du personnel médical et paramédical et sa motivation qui passe essentiellement par son implication dans les différentes mesures à prendre.
- La définition de bonnes règles de pratique clinique afin de rationaliser l'usage d'antibiotique.

RESUME

Introduction :

Les septicémies néonatales sont à l'origine des morbidités et des mortalités infantiles élevées, L'étude bactériologique des septicémies néonatales reste indispensable à cause de la variation de l'écologie bactérienne au sein même d'une zone géographique et de la sensibilité des agents aux antibiotiques. Seuls un diagnostic précoce et une antibiothérapie probabiliste, basée sur une écologie bactérienne du milieu connue, permettent de diminuer la morbi-mortalité.

L'objectif de notre étude est d'étudier le profil bactériologique des septicémies néonatales à travers une étude rétrospective sur l'année 2016 au CHU Hassan II FES.

Matériel et méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective sur une période d'une année allant du 01/01/2016 jusqu'au 31/12/2016.

Ont été inclus tous les nouveau-nés d'âge inférieur ou égal à 28 jours, hospitalisés au service de néonatalogie du CHU Hassan II de Fès, avec un isolement d'un germe pathologique au niveau de l'hémoculture.

L'anamnèse infectieuse chez la maman, la voie d'accouchement, le diagnostic chez le nouveau-né et les résultats bactériologiques ont été étudiés.

Résultats :

Durant notre période d'étude, 896 hémocultures en provenance du service de néonatalogie ont été réalisés, dont 186 soit 21% se sont avérées positives. Les septicémies néonatales sont survenues dans 56% des cas chez des nouveau-nés admis pour détresse respiratoire. Dans

70% des cas l'anamnèse infectieuse était négative et positive dans 30% des cas, l'accouchement par voie haute a été réalisé dans 65% des cas. Les entérobactéries ont représenté 81% des cas, avec prédominance de la *klebsiella pneumoniae*.

14% seulement des entérobactéries étaient sensibles aux céphalosporines de troisième génération et au sulfaméthoxazole + triméthoprim, 42% étaient sensibles aux quinolones et 98% étaient sensibles à l'imipénème avec 3 cas de carbapénémase, les entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargi représentaient 48% des entérobactéries.

Les 20% des germes restants étaient répartis entre le *staphylococcus* à coagulase négative, le *staphylococcus aureus*, l'*enterococcus* et 3 cas de *Streptococcus agalactiae*.

Conclusion :

Le manque de données locales impose une surveillance du profil épidémiologique des bactéries responsables des bactériémies néonatales et leur sensibilité.

Ce travail a rapporté la prédominance des *klebsiella pneumoniae* en particulier d'origine nosocomiale et de transmission croisée.

Cette actualisation va permettre d'adapter l'antibiothérapie probabiliste et de déterminer une stratégie de contrôle du développement des BMR avec l'application rigoureuse des mesures d'hygiène.

REFERENCES

1. Thirion M, Dhainaut J-F, cario A. Définition des états infectieux. *Encycl Méd chir (Elsevier, Paris), Anesthésie réanimation*. 2010; 10,36–983.
2. Centers for disease control : National nosocomial infections study report. *Ann Summary* 1979.
3. Lumb PD, Bryan–Brown CW. *Complications in critical care medicine*. Chicago Year Book Medical Publishers, Inc. 1988: 205 – 219
4. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care (EPIC) study. *JAMA* 1995; 274: 639 – 644.
5. Ennigro S, Zouari B. L'infection nosocomiale : un nouveau problème de santé publique en Tunisie. *Microbiol Hyg Alimentaire*. 2002; 14 (41) : 41–6.
6. Pawa AK, Ramji S, Prakash K, Thirupuram S. Neonatal nosocomial infection: profile and risk factors. *Indian Pediatr* 1997;34:297—302.
7. Guibert M, Boithias C. Infections nosocomiales néonatales. *Med Ther Pediatr* 1999;2:95—103.
8. Shefali O, Joy E, Daniel R, Colin M, Simon N. Neonatal causes of death estimates for the early an late neonatale periods for 194 contries. *Bull World Health Organ*. 2015 Jan 1;93(1):19–28. PubMed | Google Scholar
9. Jain N, Jain V, Maheshwari S. Clinical profile of neonatal sepsis. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)*. 2003 Apr–Jun;1(2):117–20. PubMed | Google Scholar

10. Vergnano S, Sharland M, Kazembe P, Mwansambo C, Heath P. Neonatal sepsis: an international perspective. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005 May;90(3):F220–4. PubMed | Google Scholar
11. Raymond J, Aujard Y. Nosocomial infection in pediatric patient: a European, multicenter prospective study. European Study Group. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;21:260–3.
12. Mahfouz AA, Azraqi TA, Abbag FI, Gamal AI, Seef S, Bello CS. Nosocomial infection in a neonatal intensive care unit in southwestern Saudi Arabia. *EMHJ* 2010;16:40—4.
13. Babazono A, Kitajima H, Nishimaki S, Nakamura T, Shiga S, Hayakawa M, et al. Risk factors for nosocomial infection in the neonatal intensive care unit by the Japanese Nosocomial Infection Surveillance (JANIS). *Acta Med Okayama* 2008;62:261—8.
14. Sandrine Kemeze1, Béatrice Moudze2, Andreas Chiabi3,4,&, Charlotte Eposse2, Alexis Kaya2, Madeleine Mbangue5, Odette Guifo1, Innocent Kago4. Profil clinique et bactériologique des infections néonatales bactériennes à l'Hôpital Laquintinie de Douala, Cameroun. *Pan African Medical Journal.* 2016; 23:97 doi:10.11604/pamj.2016.23.97.8523
15. *A.M ANDRIANARIVELO (1)*, N.E RAFARAVAVY (2), C RAFALIMANANA (1), T.N ANDRIANTAHIANA (2), A.L ROBINSON (3.)* Profil bactériologique des infections néonatales à l'unité de réanimation néonatale de la Maternité de Befelatanana. *Revue d'Anesthésie–Réanimation et de Médecine d'Urgence* 2010(Mars–Avril); 2(2): 1–4.

16. B. Balaka*, B. Bonkougou, K. Matey, S. Napo–Bitantem, K. Kessie & K. Assimadi. Septicémie néonatale: aspects bactériologiques et évolutifs au centre hospitalier universitaire de Lomé, To g o. *Bull Soc Pathol Exot*, 2004, 97, 2, 97–99
17. M. Chemsia,*, I. Chahida, M. Lehlimia, O. Aalloulab, K. Zeroualic, A. Habzia, S. Benomara. Incidence des infections bacteriennes nosocomiales. Hôpital d'enfants Abderrahim Harouchi, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc. *Journal de pédiatrie et de puériculture* (2013) 26, 11–18
18. Avril JL, Donnio PY, Perrin M, et al. L'hémoculture: un examen en apparence simple. *Méd Mal Infect* 1999 ; 29 : 77 – 86.
19. Carpentie JP, Morillon M, Pedoganani R. Bactériémie. *Encycl Med chir maladie infectieuse* 2001 ; 8 :3–7.
20. Koeck J–L, Trueba F, Chakour M. Les hémocultures en 2001 *Revue française des laboratoires* 2001 :335.
21. Whitelaw D, Rayner B, Willcox P. community acquired bacteriemia in the elderly o prospective study of 121 cases: *JAGS* 1992;40:996–1000.
22. Mme Meryem Lemsanni. Les infections nosocomiales en réanimation pédiatrique THÈSE, ANNÉE 2016 THÈSE N° 53 faculté de medecine et de pharmacie de Marrakech.
23. Wolf R. Que faire devant des hémocultures positives MAPAR . *Communications scientifiques Paris* ,MAPAR Editions 1997 : 635 – 641.

24. Herwaldt LA, Geiss M, Kao C, et al. The positive predictive value of isolating coagulase negative staphylococci from blood cultures. *Clin Infect Dis* 1996 : 14 – 20 .
25. Nicolas M.M,Espinasse F. Evolution de la flore responsable des infections nosocomiales. In :infection nosocomiale et résistance aux antibiotiques : évolution et tendances. Journées de l'hôpital Claude Bernard 1993, Paris, Arnette :13–28
26. Thomas R., Arveux C. Relation entre bactéries multi-résistantes et infections nosocomiales In : infection nosocomiale et résistance aux antibiotiques : évolution et tendances. Journées de l'hôpital Claude Bernard 1993, Paris, Arnette :65–76
27. Canton R, Novais A, Valverde A, et al. Prevalence and spread of extended-spectrum betalactamase producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:144–53.
28. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill* 2008;13–23.
29. N.Ben Jaballah, A. Bouziri, W. Kchaou, A. Hamdi et al. Epidemiology of nosocomial bacterial infections in a neonatal and pediatric Tunisian intensive care unit. *J.medmal.*2006.05.004
30. Ben Salah D, Makni S, Ben Redjeb S. Epidémiologie des septicémies à bacilles Gram négatifs : données d'un hôpital tunisien (199–1998). *Tunis Med* 2002;80:245–8.
31. Boutiba–Ben Boubaker I, Ben Salah D, Besbes M, et al. Multirésistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*: Étude multicentrique. *Tunis Med* 2002;80:26–8.

32. Boukadida J, Salem N, Hannachi N, Monastiri K, Snoussi N. Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêtalactamase à spectre étendu. *Arch Pediatr* 2002;9:463-8.
33. Kanafani ZA, Mehio-Sibai A, Araj GF, Kanaan M, Kanj SS. Epidemiology and risk factors for extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms: a case control study at a tertiary care center in Lebanon. *Am J Infect Control* 2005;33:326-32.
34. Jacquot A, Neveu D, Aujoulat F, et al. Dynamics and clinical evolution of bacterial gut microflora in extremely premature patients. *J Pediatr* 2011 ; 158 : 390-6.
35. Westerbeek EA, van den Berg A, Lafeber HN, et al. The intestinal bacterial colonisation in preterm infants : a review of the literature. *Clin Nutr* 2006 ; 25 : 361-8.
36. Penders J, Thijs C, Vink C, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006 ; 118 : 511-2.
37. B.Hmamouchi , K Chakkouri , S.E Nejmi , A.Chliek Épidémiologie de l'infection nosocomiale en réanimation pédiatrique. *Ann Fr Anesth Reanim.* 2005 Jun; 24 (6) :699-700
38. Becerra MR, Tantaleán JA, Suárez VJ, Alvarado MC, Candela JL, Urcia FC. Epidemiologic surveillance of nosocomial infections in a Pediatric Intensive Care Unit of a developing country. *BMC Pediatr* 2010; 10: 66

39. Recommandations des experts de la SRLF Prévention de la transmission croisée en réanimation.
40. Girou E, Schortgen F, Delcaux C, et al. Association of non invasive ventilation with nosocomial infections and survival in critically ill patients *Jama* 2000 ; 11 : 250–256