

ANTIBIOGRAMME DIRECT SUR FLACON D'HEMOCULTURE : ETUDE DE LA CONCORDANCE AVEC L'ANTIBIOGRAMME CONVENTIONNEL ET DU BENEFICE RENDU.

DIRECT DISK DIFFUSION ON BLOOD CULTURE BOTTLE: STUDY OF CONCORDANCE WITH REFERENCE DISK DIFFUSION AND THE BENEFIT PROVIDED.

Djazia Boufedji^{1,2,*}, Faïza Kettab¹, Meriem Kebieche¹, Amina Hanni¹, Zakia Boukadouni¹, Mohammed Makrelouf^{1,3}

¹ Laboratoire central de biologie - unité de microbiologie - CHU de Bab-EL-Oued

² Faculté de pharmacie - Université Alger I.

³ Faculté de médecine - Université Alger I.

*Adresse E-mail : djazia.boufedji@hotmail.fr

RESUME

INTRODUCTION : La prise en charge des hémocultures par les techniques conventionnelles, nécessite un délai souvent trop long et incompatible avec l'urgence des bactériémies. Réduire ce délai de 24h, serait intéressant, à travers la réalisation d'antibiogrammes directement à partir des flacons d'hémocultures positifs, sans étape intermédiaire de sub-culture. L'objectif de ce travail, est l'étude de la concordance entre les résultats des « antibiogrammes directs » et des « antibiogrammes conventionnels », ainsi que l'évaluation du bénéfice rendu, à travers la remise plus précoce des résultats.

MATERIELS ET METHODES : La méthode « d'antibiogramme direct » a été pratiquée selon la technique décrite par Paquin et al. L'étude de la concordance a été réalisée pour chaque couple « germe/ antibiotique », par le calcul de taux de concordances selon le résultat d'antibiogramme, et les erreurs ont été catégorisées selon la méthode proposée par le Comité Qualité de la Société Française de Microbiologie.

RESULTATS : Au total, 80 souches bactériennes et 1104 couples « germe/antibiotique » ont été étudiés. Le taux de concordance global, était de 99.55%, avec au total seulement 5 erreurs décelées. Le taux de concordance le plus satisfaisant concernait la famille des Entérobactéries, avec 99.82% de concordance. Concernant le bénéfice rendu, sur 61 patients, l'antibiothérapie a été adaptée en fonction des résultats de l'antibiogramme direct, chez 50,82% des patients. De plus, 15 phénotypes de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques ont été détectés par l'antibiogramme direct, ce qui a permis de limiter, plus précocement, leur dissémination dans le service concerné.

CONCLUSION : Les résultats extrêmement satisfaisants de l'étude de concordance de l'antibiogramme direct avec l'antibiogramme conventionnel, ainsi que le bénéfice thérapeutique et épidémiologique rendus, soulignent l'intérêt de la mise en place de cette technique, en pratique courante, dans les laboratoires de bactériologie médicale.

MOTS CLES : bactériémie, hémoculture, urgence, antibiogramme direct, antibiogramme conventionnel.

ABSTRACT

BACKGROUND : The management of blood cultures using conventional methods requires a delay that is often too long and incompatible with the urgency of bacteremia. Reducing this 24-hour period would be interesting, by carrying out antibiograms directly from positive blood culture bottles, without an intermediate subculture step. The objective of this work is the study of the concordance between the results of the direct disk diffusion (dDD) and the reference disk diffusion (rDD) method, as well as the evaluation of the benefit rendered, through the earlier delivery of the results.

MATERIALS AND METHODS : The dDD method was performed according to the technique described by Paquin & al. The study of the concordance was carried out for each « organism/antibiotic » combination, by calculating the Categorical Agreement (CA) and the rates of various types of errors, which were categorized according to the method proposed by the Quality Committee of the French Microbiology Society.

RESULTS : Totally, 80 bacterial strains and 1104 « organism/antibiotic » combinations had been analysed. The CA was 99.55%, with a total of only 5 decelerated errors. The most satisfactory CA was 99.82%, and concerned the Enterobacteriaceae family. Concerning the benefit provided, among 61 patients, antibiotic therapy was adapted according to the results of the dDD, in 50.82% of cases. In addition, 15 phenotypes of multiresistant bacteria, were detected by dDD, which made it possible to limit their dissemination earlier in the concerned department.

CONCLUSION: The extremely satisfactory results of the concordance study of the dDD with the rDD method, as well as the therapeutic and epidemiological benefit rendered, highlight the interest in the implementation of this technique, in current practice, in medical bacteriology laboratories.

KEY WORDS : bacteremia, blood culture, urgency, Direct disk diffusion, Reference disk diffusion.

Introduction

Les bactériémies sont des infections sévères, qui représentent l'une des principales causes de morbidité et de mortalité chez les patients hospitalisés [1]. Selon l'OMS, 49 millions de cas de sepsis et 11 millions de cas de décès suite à des septicémies sont enregistrés dans le monde chaque année [2]. Le risque de mortalité augmente

de 9% à chaque heure où l'on retarde l'administration du traitement antibiotique approprié chez le patient en sepsis [3]. L'antibiothérapie probabiliste instaurée est inadéquate dans près de 40% des cas [4], d'où l'intérêt de l'adaptation rapide de l'antibiothérapie en fonction des résultats d'antibiogrammes délivrés par le laboratoire de bactériologie.

La réalisation d'hémocultures représente la méthode de référence pour le diagnostic des bactériémies et l'instauration d'une antibiothérapie ciblée [5]. Cependant, l'isolement d'une souche bactérienne et l'étude de sa sensibilité aux antibiotiques par méthodes conventionnelles, nécessite en pratique courante un délai minimal de 72 heures, voire plus, une durée trop longue, pour un patient en état bactériémique [6].

Dans ce contexte clinique, l'optimisation du délai de rendu des résultats de l'antibiogramme est alors essentielle, afin de fournir au plus tôt le traitement antibiotique adapté mais aussi, de limiter le risque d'émergence de résistances bactériennes aux antibiotiques et d'échecs thérapeutiques suite à un traitement probabiliste inapproprié. Notre étude consiste à essayer de réduire de 24H le délai de rendu des résultats des antibiogrammes d'hémocultures, en réalisant des antibiogrammes directement à partir des flacons d'hémocultures positifs, sans étape intermédiaire de repiquage ou sub-cultures sur milieux gélosés.

L'objectif de notre étude est de comparer les résultats des « antibiogrammes directs » avec les résultats des « antibiogrammes conventionnels », et d'évaluer l'apport et le bénéfice potentiel rendu à travers la remise plus précoce des résultats au clinicien.

Matériels et méthodes

Notre étude a été menée au niveau du laboratoire central biologie du Centre Hospitalo-Universitaire de Bab-El-Oued (unité de microbiologie), pendant une durée de 4 mois (de Janvier à Avril 2019). Il s'agit d'une étude prospective, incluant toutes les hémocultures positives, des patients hospitalisés dans les différents services du CHU de Bab-El-Oued.

Tous les patients bactériémiques avec une ou plusieurs hémocultures positives monomicrobiennes à l'examen direct ont été inclus dans notre étude, quel que soit l'âge, le sexe, et le service d'hospitalisation du patient. Ont été exclus de l'étude : les patients externes, les patients avec un résultat d'hémoculture négatif ou polymicrobien à l'examen direct, les patients pour lesquels les hémocultures ont été interprétées comme contaminées (isolement de souches bactériennes de phénotypes différents, pour un même patient, sur plusieurs séries d'hémoculture), ainsi que les patients fongémiques.

Le système d'hémoculture utilisé est un système automatisé (VersaTREK-528 de Thermo SCIENTIFIC®). En cas de signal de positivité du flacon d'hémoculture par l'automate, un examen direct est réalisé (examen à l'état frais et coloration de Gram). L'hémoculture est systématiquement prise en charge au laboratoire par « la méthode conventionnelle », et par « la méthode d'antibiogramme direct » seulement en cas d'aspect monomorphe à l'examen direct.

La méthode conventionnelle est basée sur le repiquage du flacon positif avec sub-cultures sur des milieux enrichis (géloses au sang frais et au sang cuit, incubées 24-48h à 35°C sous atmosphère enrichie de 5-10% de CO₂). En cas de culture bactérienne monomorphe sur les milieux gélosés, une identification bactérienne du germe est réalisée par des tests d'orientation et d'identification biochimiques conventionnels (galeries API de Biomérieux®), et un antibiogramme standard (méthode de référence) est pratiqué selon les recommandations du CLSI [7]. La méthode d'antibiogramme direct, est réalisée directement à partir des flacons d'hémocultures positifs présentant un aspect monomorphe à l'examen direct, selon la technique proposée par Paquin et al. en 2016 [8], et validée selon les exigences préconisées par le Comité Français d'Accréditation COFRAC [9]. En fonction de l'aspect morpho-tinctorial du germe à l'examen direct, une dilution de l'hémoculture est réalisée, à raison de 5 gouttes dans 2 ml de sérum physiologique stérile pour les Bacilles à Gram négatifs (BGN), et les Cocci à Gram Positifs (CGP) en amas, évoquant un Staphylocoque. Et, à raison de 15 gouttes dans 2 ml de sérum physiologique pour les Cocci à Gram positif isolés, en diplocoques ou en chainettes, évoquant un Entérocoque ou Streptocoque [8]. Le choix des disques d'antibiotiques à tester et l'interprétation des diamètres d'inhibition obtenus dans l'antibiogramme direct s'est basé sur les recommandations et breakpoints des normes CLSI. En cas de BGN, une combinaison des antibiotiques recommandés pour les entérobactéries et pour les BGN oxydatifs de type *Pseudomonas spp* et *Acinetobacter spp*, a été appliquée. Et pour les CGP, une liste combinée des antibiotiques recommandés pour les Streptocoques, Entérocoques et Staphylocoques [7]. La lecture des antibiogrammes a été réalisée après 18-24 h d'incubation à 35°C. La comparaison des résultats d'antibiogrammes obtenus selon les 2 méthodes (méthode conventionnelle et méthode d'antibiogramme

direct), a été réalisée par le calcul du taux de concordance de la catégorisation de l'antibiotique en Sensible/Intermédiaire/Résistant (S/I/R), pour chaque couple « germe/ antibiotique ». Les erreurs ont été catégorisées selon la méthode proposée par le Comité Qualité de la Société Française de Microbiologie (QUAMIC) en 2014, (**Tableau 1**), comme suit : **VME** :Erreur très majeure : souche R rendue S/ **ME** :Erreur Majeure : souche S rendue R, **mE** : Erreur mineure : souche S rendue I ou I rendue R et inversement [**10**].

Tableau 1 : Terminologies utilisées pour l'étude de la concordance entre l'antibiogramme direct et l'antibiogramme conventionnel. [**extrait-référence 10**]

Technique d'antibiogramme	Concordance de catégorie			Erreurs de catégorie			
				mE	ME	VME	
ATB direct	S	I	R	R ou S	I	R	S
ATB conventionnel	S	I	R	I	R ou S	S	R

ATB : Antibiogramme, **R** : Résistant, **I** : Intermédiaire, **S** : Sensible, **mE** : Erreur mineure (Minor Error), **ME** : Erreur Majeure (Major error), **VME** : Erreur très majeure (Very ME), **CA** : Concordance de catégorie (Categorical agreement).

Ces résultats ont été comparés aux critères d'acceptation de la FDA pour la validation des tests de sensibilité aux antibiotiques selon lesquels le taux de concordance doit être > 89,9 % et le taux d'erreurs majeures ME ≤ 3 % [**11**].

L'évaluation de l'apport de la technique d'antibiogramme direct, et des bénéfices potentiels obtenus, dans la prise en charge des patients bactériémiques, a été réalisée par la collecte des données cliniques, à partir des dossiers médicaux des patients et d'une discussion clinicien -biologiste sur l'évolution et le devenir des patients après la délivrance du résultat de l'antibiogramme direct.

Résultats

Durant la période d'étude, 661 flacons d'hémoculture ont été reçus. 520 sont revenus négatifs et 141 avec un signal positif de l'automate, soit un taux de positivité de 21,33% (141/661). Parmi lesquels ; 38 flacons étaient polymicrobiens à l'examen direct (présence de plusieurs morphotypes bactériens dans un même flacon), 10 négatifs à l'examen direct, ce qui représente un taux de 7,09% des flacons avec signal positif de l'automate (absence de germes visibles à l'examen direct) et 13 flacons interprétés comme contaminés. Ce qui a conduit à un taux de contamination global de 7,71% (51/661). Au total, notre étude a été réalisée sur 80 flacons d'hémoculture qui répondaient aux critères d'inclusion fixés (**Figure 1**), et qui correspondaient à 61 patients (un ou plusieurs flacons d'hémocultures adressés par patient). La répartition des souches bactériennes isolées selon les familles et espèces bactériennes est illustrée dans le **tableau 2**. Au total 80 souches bactériennes ont été isolées, parmi lesquelles 46,25 % étaient des Entérobactéries (37/80), 40% des Staphylocoques (32/80), 7,50 % des Bacilles à Gram Négatifs (BGN) oxydatifs (6/80) et 6,25 % des Entérocoques et Streptocoques (5/80).

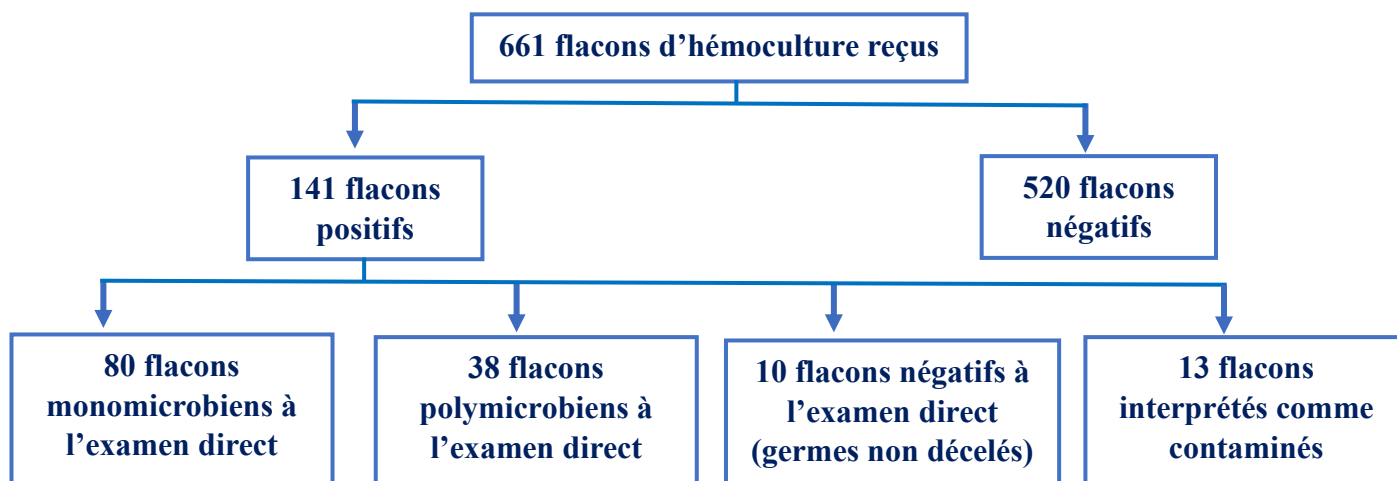


Figure 1 : Répartition des flacons d’hémocultures reçus selon le résultat (n=661).

Tableau 2 : Répartition des souches bactériennes isolées des flacons d’hémoculture selon la famille/espèce bactérienne. (n=80)

Bactérie		N	%	
BGN N=43 53,75%	Entérobactéries N= 37 / 46,25 %	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15	18,75
		<i>Serratia marcescens</i>	10	12,50
		<i>Enterobacter cloacae</i>	7	8,75
		<i>Escherichia coli</i>	3	3,75
		<i>Morganella morganii</i>	1	1,25
		<i>Proteus spp</i>	1	1,25
	BGN oxydatifs N= 6 / 7,5 %	<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	6,25
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	1,25
CGP N= 46,25 57,81%	Staphylocoques N=32 / 40%	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	15
		SCN	20	25
	Entérocoques Streptocoques N= 5 / 6,25%	<i>Enterococcus faecalis</i>	4	5
		<i>Streptocoque alpha hémolytique</i>	1	1,25
Total		80	100%	

BGN : Bacilles à Gram Négatif, CGP : Cocci à Gram Positif, SCN : Staphylocoques à Coagulase Négative
L’analyse globale des résultats d’antibiogrammes directs obtenus, par molécule d’antibiotique, pour toutes les souches bactériennes isolées, est illustrée dans le **tableau 3**.

Au total, 80 souches bactériennes et 1104 couples « germe/antibiotique » ont été testés, au cours de notre étude. Un taux de concordance global, extrêmement satisfaisant, de 99.55% a été reporté, avec au total seulement 5 erreurs décelées. Une seule erreur mineure a été enregistrée, donnant un taux d’erreurs mineures de seulement 0.09%. Aucune erreur majeure n’a été détectée, tandis que 4 erreurs très majeures ont été observées, donnant un taux d’erreurs très majeures de 0,36%.

Le **tableau 4** illustre l’analyse détaillée des résultats d’antibiogrammes directs obtenus pour chaque couple « germe/antibiotique ». Pour la famille des Entérobactéries, le taux de concordance était de 99.82% avec seulement une erreur mineure (1 mE) détectée (souche intermédiaire revenue résistante pour le couple *Escherichia coli*/ Ertapénème). Concernant les Staphylocoques, le taux de concordance était de 99.17 %, avec au total 04 erreurs observées ; 03 erreurs très majeures (souche résistante revenue sensible pour les couples *Staphylococcus aureus*/ Rifampicine et *Staphylococcus aureus*/ Clindamycine et *Staphylococcus aureus*/ Levofloxacin), et 01 erreur mineure (souche intermédiaire revenue résistante pour le couple *Staphylococcus aureus*/ Levofloxacin). Pour les BGN oxydatifs, le taux de concordance était de 98.61%, avec une seule erreur très majeure (souche résistante revenue sensible pour le couple *Pseudomonas aeruginosa*/ Pipéracilline), et

enfin pour les Entérocoques et Streptocoques, un taux de concordance de 100% a été observé, avec aucune erreur décelée, dans notre étude, pour ce groupe de germes.

Tableau 3 : Analyse globale des résultats d'antibiogrammes directs obtenus, par molécule d'antibiotique, pour toutes les souches bactériennes isolées (n=1104).

Antibiotique	N	CA		mE		ME		VME	
		n	%	n	%	n	%	n	%
AMP	41	41	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
AMC	37	37	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
CZ	37	37	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
TIC	6	6	FE	0	FE	0	FE	0	FE
TCC	6	6	FE	0	FE	0	FE	0	FE
PIP	6	5	FE	0	FE	0	FE	1	FE
FOX	69	69	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
AZM	38	38	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
CTX	37	37	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
CAZ	6	6	FE	0	FE	0	FE	0	FE
ERT	37	36	79.30%	1	2.70%	0	0.00%	0	0.00%
IMP	43	43	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
GM	79	79	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
AK	75	75	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
K	32	32	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
TB	6	6	FE	0	FE	0	FE	0	FE
NET	6	6	FE	0	FE	0	FE	0	FE
CIP	79	79	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
LVX	80	79	98.75%	0	0.00%	0	0.00%	1	1.25%
OFX	70	70	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
E	37	37	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
CM	33	32	96.70%	0	0.00%	0	0.00%	1	3.03%
PT	33	33	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
VA	33	33	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
TEC	37	37	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
AF	37	37	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
TE	32	32	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
RIF	37	36	97.29%	0	0.00%	0	0.00%	1	2.70%
SXT	74	74	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
FT	41	41	100%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
Total	1104	1099	99.55%	1	0.09%	0	0.00%	4	0.36%

N : nombre total des résultats obtenus par molécule d'antibiotique pour toutes les souches isolées, **n :** nombre d'erreurs ou de concordances, **CA :** Categorical agreement : Concordance de catégorie, avec les résultats de l'antibiogramme standardisé conventionnel, **mE :** Erreur mineur, **ME :** Erreur majeure, **VME :** Erreur très majeure, **FE :** Faible Effectif.

AMP : Ampicilline, **AMC :** Amoxicilline + acide clavulanique, **CZ :** Céfazoline, **TIC :** Ticarcilline, **TCC :** Ticarcilline +acide clavulanique, **PIP :** Piperacilline, **FOX :** Céfexime, **AZM :** Aztréonam, **CT :** Céfotaxime, **CAZ :** Ceftazidime, **ERT :** Ertapénème, **IMP :** Imipénème, **GM :** Gentamicine, **AK :** Amikacine, **K :** Kanamycine, **TB :** Tobramycine, **NET :** Netilmicine, **CIP :** Ciprofloxacine, **LVX :** Lévofloxacine, **OFX :** Ofloxacine, **E :** Erythromycine, **CM :** Clindamycine, **PT :** Pristinamycine, **VA :** Vancomycine, **TEC :** Teicoplanine, **AF :** Acide Fucidique, **TE :** Tétracycline, **RIF :** Rifampicine, **SXT :** Cotrimoxazole, **FT :** Furanes.

Tableau 4 : Analyse détaillée des résultats d’antibiogrammes directs obtenus pour chaque couple « germe/antibiotique » (n= 1104).

ATB	Entérobactéries N =37				Staphylocoques N= 32				BGN oxydatifs N= 6				Entérocoques Streptocoques N=5			
	CA		Erreurs		CA		Erreurs		CA		Erreurs		CA		Erreurs	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
AMP	37	100%	0	0.00%	/	/	/	/	/	/	/	/	4	FE	0	FE
AMC	37	100%	0	0.00%	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
CZ	37	100%	0	0.00%	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
TIC	/	/	/	/	/	/	/	/	6	FE	0	FE	/	/	/	/
TCC	/	/	/	/	/	/	/	/	6	FE	0	FE	/	/	/	/
PIP	/	/	/	/	/	/	/	/	5	FE	1VME	FE	/	/	/	/
FOX	37	100%	0	0.00%	32	100%	0	0.00%	/	/	/	/	/	/	/	/
AZM	37	100%	0	0.00%	/	/	/	/	1	FE	0	FE	/	/	/	/
CTX	37	100%	0	0.00%	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
CAZ	/	/	/	/	/	/	/	/	6	FE	0	FE	/	/	/	/
ERT	36	97.30%	1mE	2.70%	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
IMP	37	100%	0	0.00%	/	/	/	/	6	FE	0	FE	/	/	/	/
GM	37	100%	0	0.00%	32	100%	0	0.00%	6	FE	0	FE	4	FE	0	FE
AK	37	100%	0	0.00%	32	100%	0	0.00%	6	FE	0	FE	/	/	/	/
K	/	/	/	/	32	100%	0	0.00%	/	/	/	/	/	/	/	/
TB	/	/	/	/	/	/	/	/	6	FE	0	FE	/	/	/	/
NET	/	/	/	/	/	/	/	/	6	FE	0	FE	/	/	/	/
CIP	37	100%	0	0.00%	32	100%	0	0.00%	6	FE	0	FE	4	FE	0	FE
LVX	37	100%	0	0.00%	30	93.75%	1VME + 1mE	6.25 %	6	FE	0	FE	5	FE	0	FE
OFX	37	100%	0	0.00%	32	100%	0	0.00%	/	/	/	/	1	FE	0	FE
E	/	/	/	/	32	100%	0	0.00%	/	/	/	/	5	FE	0	FE
CM	/	/	/	/	31	96.87%	1VME	3.13 %	/	/	/	/	1	FE	0	FE
PT	/	/	/	/	32	100%	0	0.00%	/	/	/	/	1	FE	0	FE
VA	/	/	/	/	32	100%	0	0.00%	/	/	/	/	5	FE	0	FE
TEC	/	/	/	/	32	100%	0	0.00%	/	/	/	/	5	FE	0	FE
AF	/	/	/	/	32	100%	0	0.00%	/	/	/	/	/	/	/	/
TE	/	/	/	/	32	100%	0	0.00%	/	/	/	/	5	FE	0	FE
RIF	/	/	/	/	31	96.87%	1VME	3.13 %	/	/	/	/	5	FE	0	FE
SXT	37	100%	0	0.00%	/	/	/	/	5	FE	0	FE	/	/	/	/
FT	37	100%	0	0.00%	/	/	/	/	/	/	/	/	4	FE	0	FE
Total	554	99.82%	1mE	0.18%	476	99.17%	1 mE 3 VME	0.83 %	71	98.61%	1VME	1.39 %	49	100%	0	0.00%

N : nombre total des souches bactériennes isolées, **n :** nombre d’erreurs ou de concordances, **CA :** Categorical agreement : Concordance de catégorie, avec les résultats de l’antibiogramme standardisé conventionnel, **mE :** Erreur mineur, **ME :** Erreur majeure, **VME :** Erreur très majeure, **FE :** Faible Effectif.

AMP : Ampicilline, **AMC :** Amoxicilline + acide clavulanique, **CZ :** Céfazoline, **TIC :** Ticarcilline, **TCC :** Ticarcilline +acide clavulanique, **PIP :** Piperacilline, **FOX :**Céfoxitine, **AZM :** Aztréonam, **CT :** Céfotaxime, **CAZ :** Ceftazidime, **ERT :**Ertapénème, **IMP :** Imipénème, **GM :** Gentamicine, **AK :** Amikacine, **K :**Kanamycine, **TB :**Tobramycine, **NET :** Netilmicine, **CIP :** Ciprofloxacine, **LVX :**Lévofloxacine, **OFX :**Ofloxacine, **E :** Erythromycine, **CM :** Clindamycine, **PT :** Pristinamycine, **VA :**Vancomycine, **TEC :**Teicoplanine, **AF :**Acide Fucidique, **TE :**Tétracycline , **RIF :**Rifampicine , **SXT :** Cotrimoxazole, **FT :**Furanes.

Concernant l’apport et les bénéfices potentiels rendus, à travers la remise plus précoce des résultats d’antibiogrammes directs ; sur un total de 61 patients, l’antibiothérapie a été adaptée en fonction des résultats de l’antibiogramme direct, remis 24h avant l’antibiogramme conventionnel, chez 50,82% (31/61) des patients. L’antibiothérapie probabiliste est restée inchangée chez 22.95% des patients (14/61), car elle s’est avérée efficace et en adéquation avec les résultats de l’antibiogramme. Tandis que 11,48% (7/61) des patients sont décédés et 14,75% (9/61) des patients sortis à domicile, avant la remise des résultats de l’antibiogramme direct (**figure 2**).

La **figure 3**, illustre la nature de l'apport et des bénéfices potentiels rendus par l'antibiogramme direct. Dans notre étude, 31/61 patients, ont évolué favorablement après l'adaptation de l'antibiothérapie en fonction des résultats de l'antibiogramme direct, et sont sortis à domicile dans un délai n'excédant pas les 20 jours. Il s'agissait de 2 désescalades thérapeutiques, 8 arrêts d'antibiotiques à large spectre prescrits par excès, 16 changements d'antibiothérapies s'avérant inefficaces (souche résistante à l'antibiotique sur l'antibiogramme direct) et 5 instaurations d'antibiothérapies adaptées.

Pour les 30 autres patients, l'antibiogramme direct s'est révélé sans bénéfice thérapeutique, car 7 patients sont décédés et 9 patients sortis à domicile, avant la remise du résultat d'antibiogramme direct. L'antibiothérapie probabiliste s'est révélée efficace et adaptée et est restée inchangée pour les 14 patients restants (figure 3). En plus du bénéfice thérapeutique, 15 phénotypes de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) ont été détectés par l'antibiogramme direct. 9 Entérobactéries productrices de Béta-lactamase à Spectre élargie (E-BLSE), 1 *Acinetobacter baumannii* multi-résistant et 4 *Staphylococcus aureus* Résistant à la méticilline (SARM), ont été mis en évidence.

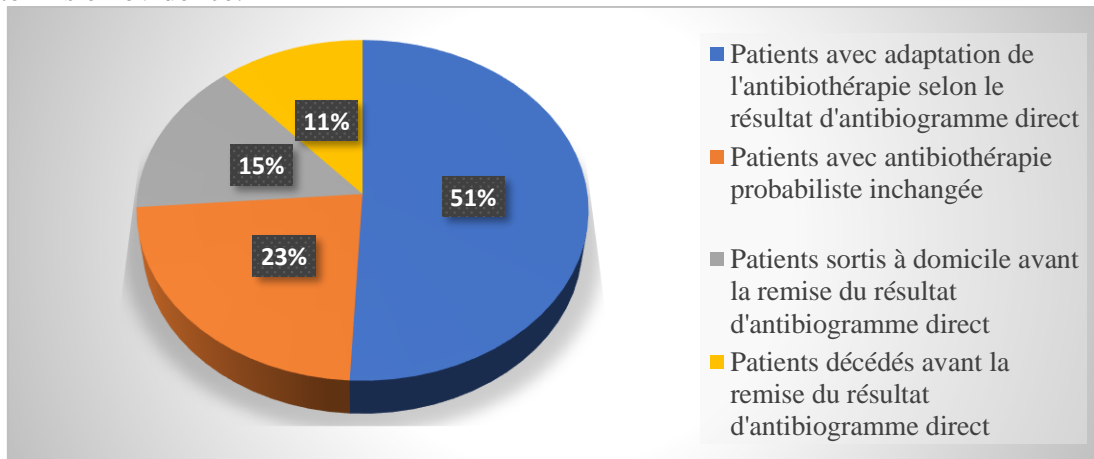


Figure 2 : Répartition des patients selon leur devenir après la remise du résultat d'antibiogramme direct (n=61).

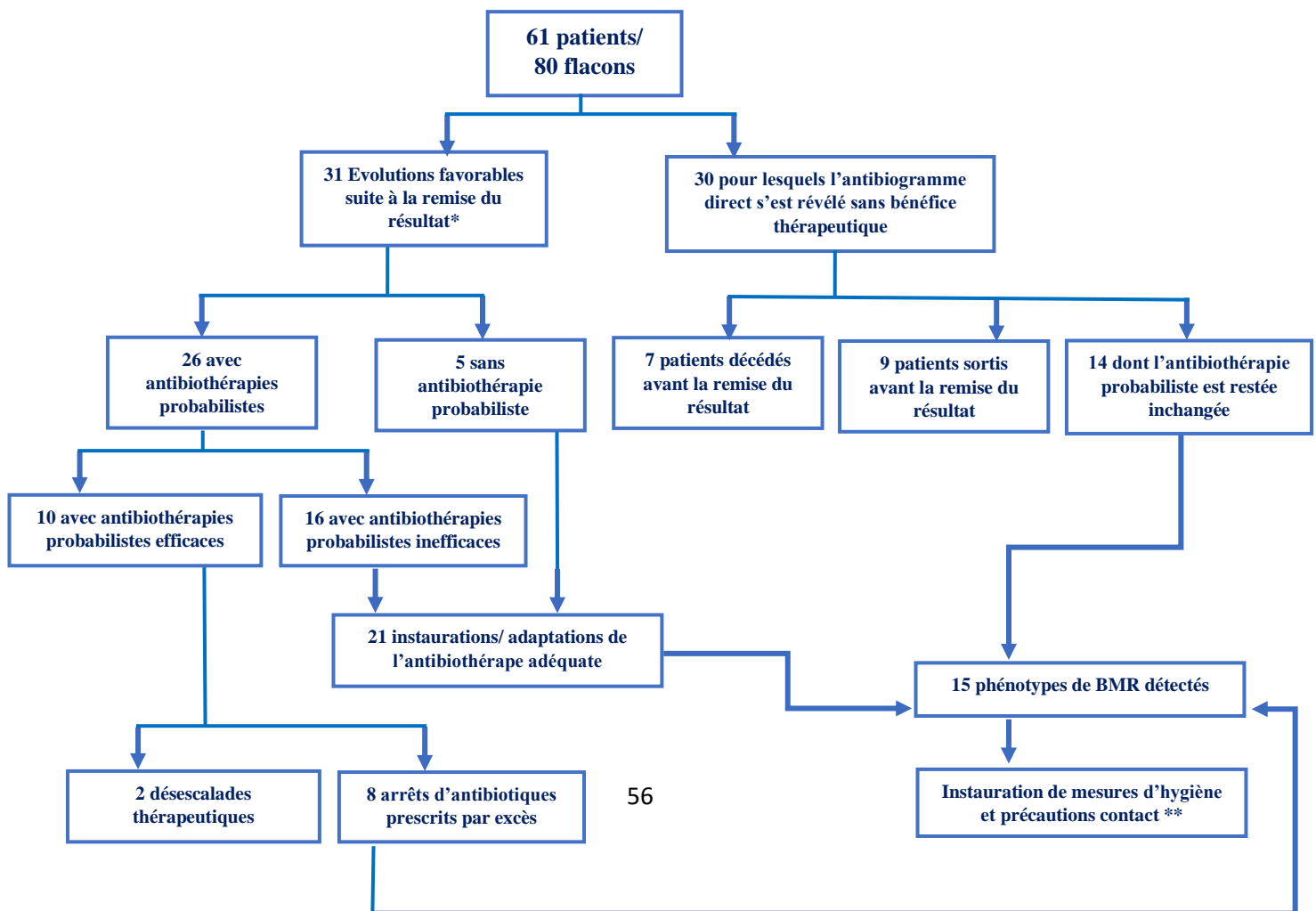


Figure 3 : Schéma illustrant la nature des bénéfices rendus par l'antibiogramme direct (n=61).

* : Evolution favorable suite à la remise du résultat d'antibiogramme direct et l'adaptation ou l'instauration de l'antibiothérapie adéquate, avec sortie du malade à domicile dans un délai n'excédant pas 20 jours.

** : Mise en place des mesures d'hygiène standards et des précautions contacts pour limiter la dissémination de la BMR isolée, BMR : Bactérie Multi-Résistante.

Discussion

Dans notre étude, le taux de positivité des hémocultures de 21,33%, se rapproche de celui observé dans l'étude de Oyekale et al. (19,2 %), [12]. Mais s'est révélé plus élevé que les taux de positivité des hémocultures rapportés dans l'étude de Khanal et al. et Gohel et al. qui étaient respectivement de 10,3 % et 9,2 % [13,14]. Le taux de contamination global des hémocultures dans notre étude est de 7,71%. Ce taux englobe les hémocultures dont l'examen direct était polymicrobien et celles dont le germe isolé n'a pas été incriminé dans la survenue de la bactériémie et a été considéré comme un contaminant. En pratique, les taux de contamination des hémocultures varient selon les établissements mais peuvent aller de 0,6 % à 17 % [15]. Chez l'adulte, le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommande un taux de contamination inférieur à 3% [16]. Le taux de contamination des hémocultures dans notre étude, est plus élevé que celui observé dans l'étude de Hemeg et al. qui s'élève à 4,17% [17], Ce qui témoigne d'une part, du manque d'hygiène et d'asepsie rigoureuse au moment du prélèvement, et souligne, d'autre part, l'une des limites de l'antibiogramme direct, qui ne peut pas être réalisé en cas d'examen direct polymicrobien, et qui n'est, par conséquent, pas adaptée au diagnostic des rares cas de bactériémies polymicrobiennes (grands brûlés, sujets agonisants,..etc).

Par ailleurs, sur un total des 141 flacons d'hémocultures positifs ; une proportion de 7.09% (10/141) était des faux négatifs, non décelés à l'examen direct. Cela est lié aux limites de l'examen direct qui reste subjectif et non contributif dans certain cas, car il se base sur une observation qualitative dont la qualité du rendu est directement liée à l'expérience de l'observateur. La sensibilité de l'examen direct est étroitement liée à la quantité de bactéries présente [18]. Pour un inoculum se situant entre 10^3 et 10^5 UFC/ml de prélèvement, seulement 60% des ED sont positifs [19]. Ceci reflète également, l'une des limites de l'antibiogramme direct, dont la réalisation est directement liée à l'inoculum bactérien et à la qualité de l'examen direct.

Dans notre étude, la fréquence d'isolement des bacilles à Gram négatif était de 53,75% (43/80) avec une nette prédominance des Entérobactéries dans 46.25% des cas (37/80), ce taux s'est avéré légèrement supérieur à celui des Cocci à Gram positif qui était de 46,25% (37/80). Ces résultats témoignent du déficit en hygiène hospitalière dans les différents services des CHU et rejoignent les résultats de nombreuses études, telle que celle de Paquin et al. [8].

Concernant l'étude de la concordance entre les deux techniques d'antibiogrammes, une corrélation extrêmement satisfaisante a été obtenue ; avec un taux de concordance globale estimé à 99.55% pour toutes les souches bactériennes isolées. Ce taux est supérieur à 89,9 %, correspondant au seuil d'acceptation de la FDA [11].

Le taux de concordance obtenu dans notre étude, est plus élevé que celui obtenu dans l'étude de Akbi et al. (94,43%) [20], pour laquelle l'antibiogramme direct a été réalisé selon la technique d'antibiogramme décrite et recommandée par le CLSI [21]. Ce taux de concordance est également plus élevé que celui l'étude de Mirrett et al. (94,6%). Cependant, un taux d'erreurs majeures de 0.3%, obtenu dans cette étude [22], est comparable au taux d'erreurs très majeures, s'élevant à 0.36% dans notre étude. De même pour le taux d'erreurs majeures obtenu dans l'étude de Chandrasekaran et al. s'élevant à 3.5% [21].

A l'opposé, le taux d'erreurs mineures obtenu dans notre étude (0.09%) est considérablement plus faible que celui de 5.2%, obtenu dans l'étude de Mirrett et al. [22]. De même que celui de l'étude de Chandrasekaran et al. s'élevant à 10,3% [21]. Ceci pourrait, cependant, être attribué au nombre de souches bactériennes et de couples « germe-antibiotiques » testés au cours de notre étude, ainsi qu'à la technique utilisée pour l'antibiogramme direct.

Au total, les pourcentages d'erreurs dans notre étude (mE, ME et VME), étaient considérablement inférieurs aux critères de performance acceptables de la norme internationale ISO 20776-2 ($ME \leq 3\%$; $VME \leq 3\%$) [21, 23].

Concernant l'analyse des résultats d'antibiogrammes directs obtenus pour chaque couple « germe/antibiotique ». Le taux d'erreurs le plus élevé, observé au cours de notre étude, s'élève à 1,39% et concerne les BGN oxydatifs, ces résultats concordent avec les résultats de l'étude de Rajshekar et al. où le taux d'erreurs le plus élevé concernait le *Pseudomonas spp* avec un taux d'erreurs global de 5.4% [24].

Cependant le nombre de souches de *Pseudomonas aeruginosa* testées étant faible, nous considérons que cette présente étude est à compléter à l'avenir afin d'obtenir un échantillonnage plus représentatif pour les BGN oxydatifs.

Concernant le couple où l'erreur a été notifiée, il s'agit du couple « *Pseudomonas aeruginosa*/Pipéracilline » ; où une erreur très majeure (VME) a été observée au cours de notre étude, ce qui rejoint l'étude Rajshekar et al. au cours de laquelle 3 VME ont été notifiées pour le couple « *Pseudomonas aeruginosa*/Pipéracilline+Tazobactam » [24]. Cependant nos résultats ne rejoignent pas ceux de l'étude de Savage et al. dans laquelle aucune erreur n'a été relevée pour le même couple [25].

Pour la famille des Entérobactéries, le taux de concordance obtenu dans notre étude, était de 99.82%. Ce taux rejoint le taux de 97% observé pour les entérobactéries dans l'étude de Kavipriya et al. [26], mais se révèle plus satisfaisant que les taux de concordance obtenus, pour la même famille de germes, dans l'étude de Akbi et al. (94,32%) [20], ainsi que dans l'étude de Rajshekar et al. (95,6%) [24].

En effet, dans notre étude, seulement une erreur mineure (1 mE) a été détectée ; avec une souche intermédiaire revenue résistante pour le couple « *Escherichia coli*/ Ertapénème », donnant un taux d'erreurs mineurs pour le couple « Entérobactérie/ Ertapénème » de 2.7%. Ce même taux a été observé dans l'étude de Rajshekar et al. avec 2.1% d'erreurs mineures pour le couple « Entérobactérie/Méropénème » [24]. De même que dans l'étude de Akbi et al. avec un taux d'erreurs mineures pour le même couple « Entérobactérie/Ertapénème » s'élevant à 4,62% [20]. Ce type d'erreurs ne présente pas d'impact thérapeutique majeur sur la prise en charge du patient ; l'antibiotique ne sera pas prescrit pour l'adaptation thérapeutique, car il est catégorisé résistant au lieu d'intermédiaire.

Concernant les Staphylocoques, le taux de concordance était de 99.17 %, avec au total 4 erreurs observées (3 erreurs très majeures VME et 1 erreur mineure mE). Une erreur VME a été observée pour le couple *Staphylococcus aureus*/ Rifampicine, ainsi que pour le couple « *Staphylococcus aureus*/ Clindamycine ». Ces résultats concordent avec l'étude de Yakoob et al. où une erreur de type VME a été constatée pour chacun des deux couples sus-cités [27]. Cette discordance est considérée comme non critique, puisqu'elle n'induit aucune conséquence quant à la prise en charge thérapeutique du patient (la rifampicine est un antibiotique strictement réservé au traitement antituberculeux en Algérie).

D'autre part, 02 erreurs (1mE et 1 VME) ont été constatées pour le couple « *Staphylococcus aureus*/ Levofloxacine », Ces discordances étant différentes par la nature de l'erreur (surestimation de la sensibilité pour l'une et surestimation de la résistance pour l'autre) ne peuvent être expliquées que par l'absence de maîtrise de l'inoculum bactérien dans la technique décrite par Paquin et al. et appliquée dans notre étude [8].

Concernant les bénéfices potentiels rendus, à travers la remise plus précoce des résultats d'antibiogrammes directs, il existe peu d'études réalisées à ce jour, et de rares preuves à l'appui de l'intérêt clinique de cette technique [28]. Sur un total de 61 patients, l'antibiothérapie a été adaptée en fonction des résultats de l'antibiogramme direct, remis 24h avant l'antibiogramme conventionnel, chez la moitié des patients, soit 50,82% (31/61). L'ensemble de ces patients a évolué favorablement après l'adaptation de l'antibiothérapie et est sorti à domicile dans un délai n'excédant pas les 20 jours. Ceci suggère que l'instauration précoce d'une antibiothérapie appropriée est associée à une meilleure évolution chez les patients atteints d'infections graves [28].

Parmi ces patients ; 16 changements d'antibiothérapies s'avérant inefficaces (souche résistante à l'antibiotique sur l'antibiogramme direct). Ces résultats rejoignent ceux de l'étude de Paquin et al. [29], où 13/100 antibiothérapies probabilistes instaurées, se sont avérées inefficaces selon les résultats de l'antibiogramme direct, et témoignent de l'intérêt de cette technique, à travers la prise en charge thérapeutique adaptée et plus précoce des patients bactériémiques.

D'autre part, 8 arrêts d'antibiotiques prescrits par excès, ainsi que 2 désescalades thérapeutiques ont eu lieu lors de notre étude. Ces résultats rejoignent partiellement l'étude de Savage et al. réalisée sur un effectif plus représentatif (396 patients), au cours de laquelle 29% de désescalades thérapeutiques ont été enregistrées suite à la remise du résultat d'antibiogramme direct [25]. Le service rendu par cette technique paraît, de ce fait, très intéressante, pour la limitation de la prescription des antibiotiques à large spectre, qui est directement responsable de l'émergence de la résistance bactérienne aux antibiotiques, conduisant parfois à des impasses thérapeutiques.

Néanmoins, 11,48% (7/61) des patients sont décédés, avant la remise des résultats, ce qui témoigne d'une des limites de l'antibiogramme direct, dont le délai de rendu du résultat n'est pas toujours approprié, devant l'urgence et la gravité de certains cas. Par ailleurs, en plus du bénéfice thérapeutique, 15 phénotypes de BMR ont été détectés par l'antibiogramme direct. De même pour l'étude de Paquin et al. où 4 BMR ont été détectées par cette technique [29]. Ceci a permis, lorsque cela était possible, d'instaurer des mesures d'hygiène « standards » et des précautions d'isolement « contact », pour limiter la dissémination de la BMR isolée dans le service concerné.

Conclusion

Pour conclure, l'antibiogramme réalisé directement à partir des flacons d'hémocultures, est une technique peu coûteuse, d'exécution simple, et accessible à tous les laboratoires d'analyses médicales. Dans notre étude, les résultats d'antibiogrammes directs, remis 24h avant l'antibiogramme conventionnel, se sont révélés très utiles, tant sur le plan thérapeutique ; à travers l'adaptation et l'instauration précoces de l'antibiothérapie ciblée, ainsi que la limitation de la prescription d'antibiotiques à large spectre. Mais également sur le plan épidémiologique ; à travers la détection de phénotypes de BMR et la prévention, plus précocement, de leur diffusion en milieu hospitalier.

L'étude de la concordance avec les résultats de l'antibiogramme conventionnel a montré une excellente corrélation, avec de très faibles taux d'erreurs de catégories, n'ayant eu aucune conséquence sur le plan thérapeutique. Toutefois, des études supplémentaires, avec un plus grand échantillonnage et une comparaison des différentes techniques d'antibiogrammes directs, qui sont désormais standardisées, sont nécessaires, afin de pouvoir choisir la technique la plus fiable et de l'introduire en pratique courante dans les laboratoires d'analyses médicales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Peri, A. M., Harris, P. N., & Paterson, D. L. (2022). Culture-independent detection systems for bloodstream infection. *Clinical Microbiology and Infection*, 28(2), 195-201.
- [2] World Health Organization. (2020). WHO Calls for Global Action on Sepsis—Cause of 1 in 5 deaths Worldwide. <https://www.who.int/news/item/08-09-2020-who-calls-for-global-action-on-sepsis---cause-of-1-in-5-deaths-worldwide>
- [3] Garnacho-Montero, J., Aldabo-Pallas, T., Garnacho-Montero, C., Cayuela, A., Jiménez, R., Barroso, S., & Ortiz-Leyba, C. (2006). Timing of adequate antibiotic therapy is a greater determinant of outcome than are TNF and IL-10 polymorphisms in patients with sepsis. *Critical care*, 10(4), 1-12.
- [4] Søggaard, M., Nørgaard, M., & Schönheyder, H. C. (2007). First notification of positive blood cultures and the high accuracy of the gram stain report. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(4), 1113-1117.
- [5] Altun, O., Almuhayawi, M., Lüthje, P., Taha, R., Ullberg, M., & Özenci, V. (2016). Controlled evaluation of the new BacT/Alert Virtuo blood culture system for detection and time to detection of bacteria and yeasts. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(4), 1148-1151.
- [6] Widyasari, K., Lee, S., Cho, O. H., Hong, S. I., Ryu, B. H., & Kim, S. (2023). The Significance of FilmArray Blood Culture Identification Panel (FA-BCID) for Managing Patients with Positive Blood Cultures. *Diagnostics*, 13(21), 3335
- [7] Weinstein, M. P., Limbago, B., Patel, J. B., Mathers, A. J., Campeau, S., Mazzulli, T & Zimmer, B. L. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (28th Editi). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- [8] Paquin, C. (2016). Antibiogramme direct sur flacon d'hémoculture positif: mise au point et intérêt en thérapeutique.
- [9] COFRAC. Expression et évaluation des portées d'accréditation (SH-REF 08), Révision 3.
- [10] Comité Qualité (QUAMIC) de la société Française de Microbiologie. Recommandations 2014.
- [11] Health, C. for D. and R. (s. d.). Guidance Documents (Medical Devices and Radiation-Emitting Products) - Class II Special Controls Guidance Document : Antimicrobial Susceptibility Test (AST) Systems. Center for Devices and Radiological Health. <https://wayback.archive-it.org/7993/20180907155335/https://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm080564.htm>
- [12] Oyekale, O. T., Ojo, B. O., Olajide, A. T., & Oyekale, O. I. (2022). Bacteriological profile and antibiogram of blood culture isolates from bloodstream infections in a rural tertiary hospital in Nigeria. *African Journal of Laboratory Medicine*, 11(1), 1-7.

- [13] Gohel, K., Jojera, A., Soni, S., Gang, S., Sabnis, R., & Desai, M. (2014). Bacteriological profile and drug resistance patterns of blood culture isolates in a tertiary care nephrourology teaching institute. *BioMed research international*, 2014.
- [14] Khanal, L. K. (2020). Bacteriological profile of blood culture and antibiogram of the bacterial isolates in a tertiary care hospital. *Int J Health Sci Res*10(8), 10-14.
- [15] Hall, K. K., & Lyman, J. A. (2006). Updated review of blood culture contamination. *Clinical microbiology reviews*, 19(4), 788-802.
- [16] Wilson ML, Mitchell M, Morris AJ et al. Principles and procedures for blood cultures: approved guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2007;27(17).
- [17] Hemege, H. A., Almutairi, A. Z., Alharbi, N. L., Alenezi, R. F., Alturkostani, M. A., Ozbak, H. A., & Islam, F. A. (2020). Blood culture contamination in a tertiary care hospital of Saudi Arabia: A one-year study. *Saudi medical journal*, 41(5), 508.
- [18] Uehara, Y., Yagoshi, M., Tanimichi, Y., Yamada, H., Shimoguchi, K., Yamamoto, S., ... & Kumasaka, K. (2009). Impact of reporting gram stain results from blood culture bottles on the selection of antimicrobial agents. *American journal of clinical pathology*, 132(1), 18-25.
- [19] Joly-Guillou, M. L., & Eveillard, M. (2011). Avantages et limites de l'examen direct (ED) en bactériologie. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2011(434), 33-38.
- [20] Akbi, S., Ahmed, N., Aggoune, N., & Zerouki, A. (2021, May). Direct disk diffusion test during bacteremia: evaluation of the antibiotic susceptibility results. In Presented at: The first International Electronic Conference on Antibiotics (Vol. 8, p. 17).
- [21] Chandrasekaran, S., Abbott, A., Campeau, S., Zimmer, B. L., Weinstein, M., Thrupp, L., et al. (2018). Direct-from-Blood-Culture Disk Diffusion To Determine Antimicrobial Susceptibility of Gram-Negative Bacteria : Preliminary Report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(3), e01678-17, /jcm/56/3/e01678-17.atom. <https://doi.org/10.1128/JCM.01678-17>
- [22] Mirrett, S., & Reller, L. B. (1979). Comparison of direct and standard antimicrobial disk susceptibility testing for bacteria isolated from blood. *Journal of Clinical Microbiology*, 10(4), 482-487
- [23] Guidance for Industry and FDA Class II Special Controls Guidance Document: Antimicrobial Susceptibility Test (AST) Systems [Internet]. 2009. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm071462.pdf>.
- [24] Rajshekar, D., Chaudhari, K. V., Bhat, P., Prakash, S. S., Raghvan, R., Vasanth, S., ... & Sastry, A. S. (2019). Evaluation of performance of direct disk diffusion test from positively flagged blood culture broth: A large scale study from South India. *Journal of Laboratory Physicians*, 11(02), 154-160.
- [25] Savage, T. J., Rao, S., Joerger, J., Ozonoff, A., McAdam, A. J., & Sandora, T. J. (2021). Predictive value of direct disk diffusion testing from positive blood cultures in a children's hospital and its utility in antimicrobial stewardship. *Journal of clinical microbiology*, 59(6), 10-1128.
- [26] Kavipriya, D., Prakash, S. S., Dhandapani, S., Rajshekar, D., & Sastry, A. S. (2021). Evaluation of the performance of direct susceptibility test by VITEK-2 from positively flagged blood culture broth for Gram-negative bacilli. *Journal of Laboratory Physicians*, 13(04), 374-379
- [27] Yakoob, R., & Bhat, G. (2018). Comparison of Direct Antibiotic Susceptibility Testing with Standard Testing in Blood Culture. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(4), 2289-2296
- [28] Hogan, C. A., Ebunji, B., Watz, N., Kappahn, K., Rigdon, J., Mui, E., ... & Banaei, N. (2020). Impact of rapid antimicrobial susceptibility testing in Gram-negative rod bacteremia: a quasi-experimental study. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(9), 10-1128.
- [29] Paquin, C., Pestel-Caron, M., & Boyer, S. (2016, December). Bénéfices de l'antibiogramme direct à partir de flacons d'hémocultures positifs. In *36ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI 2016)*.