



Disponible en ligne

<https://www.atrss.dz/ajhs>



Article Original

Antibiogramme d'urgence au cours des bactériémies : évaluation des résultats de sensibilité aux antibiotiques

Direct disk diffusion test during bacteremia: evaluation of the antibiotic susceptibility results

AKBI Samar^{1,2*}, **AHMED Nassim**^{1,2}, **AGGOUNE Nadjet**^{1,2}, **ZEROUKI Ali**^{1,2}

¹ Département de pharmacie, Faculté de médecine, Université d'Alger 1 Benyoucef Benkbedda, Algérie

² Service de microbiologie, Hôpital Central de l'Armée, Alger, Algérie

RESUME

Introduction : Les bactériémies constituent des urgences mettant en jeu le pronostic vital des patients. L'instauration précoce d'une antibiothérapie adéquate permet d'en réduire la mortalité et morbidité. L'objectif de ce travail était d'évaluer les résultats obtenus avec l'antibiogramme d'urgence, pratiqué directement à partir des flacons d'hémoculture positifs sur milieu Mueller-Hinton CHROMagar Orientation (CHROMagar 4, place du 18 Juin 1940 - 75006 Paris, France) et de les comparer à ceux obtenus avec l'antibiogramme standard. **Méthodes :** Pour ce faire, 124 souches isolées de 124 flacons ont été testées vis-à-vis de 21 molécules antibiotiques. Les diamètres obtenus ont été lus après 8h et 18h d'incubation et interprétés grâce aux abaques de lecture du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) puis comparés à ceux obtenus avec l'antibiogramme standard. **Résultats :** Il en est ressorti qu'après 18 heures d'incubation, les résultats étaient extrêmement satisfaisants : 94,43% CA (Concordance), 0,24% ME (Erreur Majeure) et 0,00% VME (Erreur Très Majeure), alors que les résultats étaient moins concluants après 8 heures d'incubation (87,32% CA). Les meilleurs %CA ont été obtenus avec la gentamicine, sulfaméthoxazole+triméthoprime, levofloxacine, ampicilline et cefoxitine à 8h (tous >93%) et à 18h (tous >97%). Aussi, les BGN non fermentaires ont enregistré les meilleurs résultats avec 98,74% CA à 18h et les staphylocoques les plus faibles avec 90,70% CA à 18h. **Conclusion :** Les résultats encourageants obtenus dans le présent travail présagent une possible future implémentation de l'antibiogramme d'urgence en routine. L'antibiogramme standard demeure néanmoins la technique de référence.

MOTS CLES : Antibiogramme direct, Antibiotique, Bactériémie, Hémoculture, Technique de diffusion des disques

ABSTRACT

Introduction: Bacteremias are life-threatening emergencies. The early initiation of an adequate antibiotic therapy reduces mortality and morbidity. The aim of this work was to evaluate the results obtained with the direct AST (Antimicrobial Susceptibility Testing), carried out directly from positive blood-cultures on Mueller-Hinton CHROMagar medium (CHROMagar 4, place du 18 Juin 1940 - 75006 Paris, France) and to compare them with those obtained by the standard AST. **Methods:** To do this, 124 strains isolated from 124 bottles were tested against 21 antibiotics. The resulting diameters were read after 8 hours and 18 hours of incubation, interpreted using the CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) breakpoints and compared to those obtained with the standard method. **Results:** It was found that the results were extremely satisfactory after 18 hours incubation: 94,43% CA (Categorical Agreement), 0,24%



ME (Major Error) and 0,00% VME (Very Major Error), compared to less conclusive results after 8 hours of incubation (87,32% CA). The best %CA were obtained with gentamicin, sulfamethoxazole+trimethoprim, levofloxacin, ampicillin and ceftiofloxacin at 8 hours (all >93%) and 18 hours (all >97%). Also, non-fermenting GNB recorded the best results with 98,74%CA at 18h and Staphylococcus species the lowest ones with 90,70% CA at 18h. **Conclusion:** The encouraging results obtained during the present study suggest a possible future implementation of the direct-from-blood culture AST as a routine technique. However, the standard AST remains the reference technique.

KEY WORDS: Direct AST, Antibiotic, Bacteremia, Blood culture, Disk diffusion technique

* *Auteur correspondant.* Tel.: 0770 32 23 85; fax: +0-000-000-0000.
Adresse E-mail: samakbi28@gmail.com

Date de soumission: 23/04/2021
Date d'acceptation: 16/09/2021

[DOI : 10.5281/zenodo.6024543](https://doi.org/10.5281/zenodo.6024543)

1. Introduction

Le sang est un milieu normalement stérile. Les bactériémies sont définies comme la présence de bactéries dans le sang sous forme de décharges à partir d'un foyer infectieux [1,2]. Elles constituent aujourd'hui encore un problème majeur de santé publique. En effet, différentes études ont pu révéler leur incidence [3-6], mais aussi la mortalité [7-12] et la morbidité en rapport, notamment en termes d'allongement de la durée moyenne et de coût d'hospitalisation [13,14].

L'état bactériémique est une urgence absolue. La mortalité augmente ainsi de 7,6% pour chaque heure passée avant l'instauration d'un traitement adéquat [15]. Or, dans près de 40% des cas, l'antibiothérapie probabiliste administrée est inadaptée [16], d'où l'intérêt de sa réévaluation rapide en se basant sur les résultats du diagnostic bactériologique remis par le laboratoire de microbiologie.

Les hémocultures sont le gold-standard dans le diagnostic des bactériémies. Cependant, leurs délais d'obtention variables, entre 72h à 10 jours ou plus, sont incompatibles avec les situations d'urgence. Il paraît alors nécessaire de les raccourcir. Ceci est rendu possible grâce à l'instauration de techniques d'identification rapide et de tests de sensibilité aux antibiotiques, réalisables directement à partir des flacons d'hémoculture [17,18]. Expérimenté depuis les années 1980, l'antibiogramme d'urgence n'est pas une technique nouvelle [19,20]. Néanmoins, il bénéficie depuis quelques années d'un regain d'intérêt et d'une attention particulière de la part des sociétés savantes notamment la SFM (Société Française de Microbiologie) [21], l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) [22,23], ainsi que le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) [24]. L'objectif du travail présenté dans cet article est d'évaluer les résultats obtenus avec l'antibiogramme d'urgence appliqué aux hémocultures.

2. Matériel et méthodes

La présente étude est une étude prospective, menée à l'Hôpital Central de l'Armée à Alger sur une période de 5 mois allant de novembre 2019 à mars 2020. Tous les flacons d'hémoculture provenant de patients bactériémiques ayant signalé une croissance bactérienne et répondant aux critères d'inclusion mentionnés ci-après ont été retenus pour la suite de l'étude. Ces critères étaient les suivants : flacons d'hémoculture appartenant au système BacT /ALERT 3D (bioMérieux) ou BD BACTEC FX 40 (Becton Dickinson), un délai entre le signal de croissance et le retrait du flacon de l'automate inférieur à 18 heures et un aspect monomorphe à la coloration de Gram des frottis réalisés directement à partir des flacons d'hémoculture positifs (image 1). Ont été exclus de cette étude : les flacons hors délai, les flacons appartenant à un même set (seul le premier flacon ayant signalé positif a été retenu), ainsi que ceux présentant un aspect polymorphe à la coloration de Gram (image 2) ou contenant des levures.

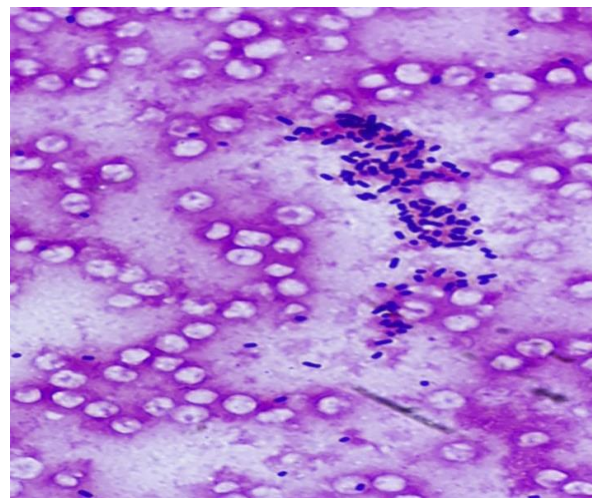


Image 1 : Aspect monomorphe d'une coloration de Gram d'un frottis réalisé directement à partir d'un flacon d'hémoculture positif (présence de Coccobacilles) ©Samar Akbi

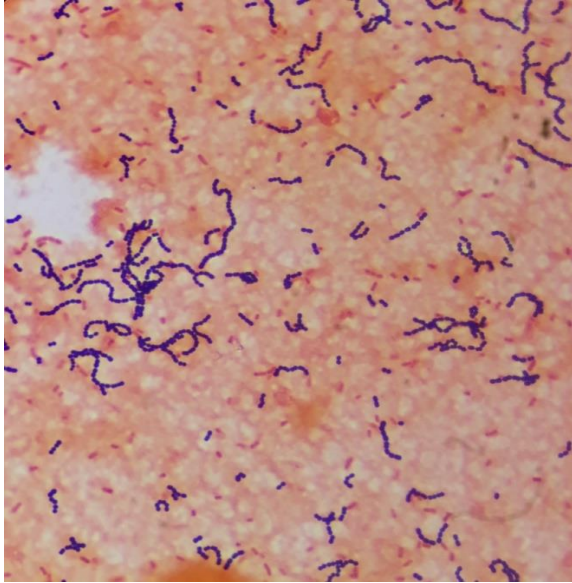


Image 2 : Aspect polymorphe d'une coloration de Gram d'un frottis réalisé directement à partir d'un flacon d'hémoculture positif (présence de BGN et CGP) ©Samar Akbi

L'échantillonnage ainsi obtenu a été élargi grâce au recours à la technique de l'inoculation. Cette dernière consiste à inoculer dans des flacons d'hémoculture stériles des souches bactériennes pures isolées de différents prélèvements cliniques et présentant différents profils de résistance. Ces mêmes souches ont été ensuite à nouveau introduites dans leurs systèmes d'incubation respectifs selon la méthode décrite par Sukantha Chandrasekaran et al. [24]. Tous les flacons sélectionnés pour la conduite de l'étude (flacons patients + flacons inoculés) ont subi un dénombrement de l'inoculum bactérien suivant la méthode décrite par Paquin Cédric [25]. Un antibiogramme d'urgence a été réalisé pour ces flacons selon la méthode décrite par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) [24]. Le présent travail a pour particularité la réalisation de l'antibiogramme d'urgence sur milieu Mueller-Hinton CHROMagar Orientation fourni par CHROMagar (4, place du 18 Juin 1940 - 75006 Paris, France). Ce milieu présente l'avantage de combiner identification et étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques [26]. En effet, il a permis d'établir une identification présomptive précoce des souches bactériennes (image 3) confirmée par le recours aux galeries biochimiques ; d'obtenir des diamètres plus nets et plus évidents à mesurer (image 4) ainsi qu'une meilleure distinction des cultures polymicrobiennes contaminées (image 5).

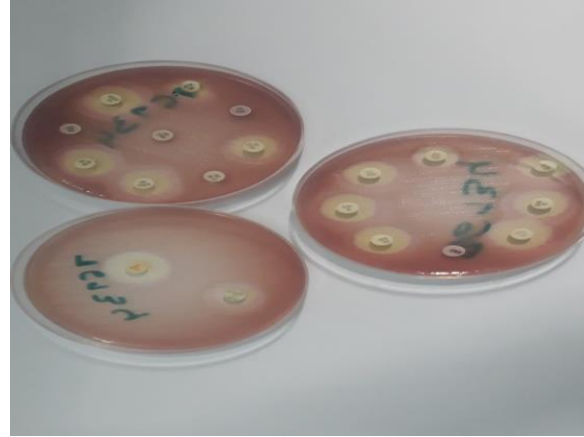


Image 3 : Antibiogramme d'urgence d'une *Escherichia coli* sur milieu MH CHROMagar, lecture à 18 heures ©Samar Akbi

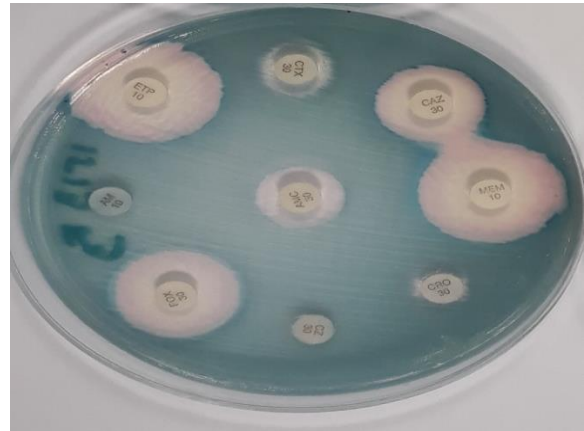


Image 4 : Diamètres d'inhibition nets et bien lisibles après 18h d'incubation sur milieu MH CHROMagar d'un antibiogramme d'urgence ©Samar Akbi

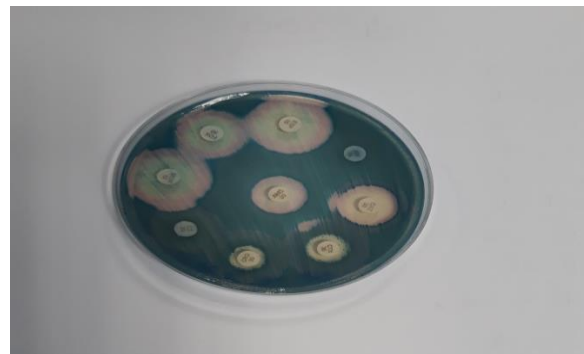


Image 5 : Antibiogramme d'urgence polymicrobien contaminé présentant des doubles diamètres d'inhibition ©Samar Akbi

Le choix des antibiotiques à tester s'est basé sur les résultats de la coloration de Gram d'un frottis réalisé directement à partir des flacons d'hémoculture. Pour les bacilles à Gram négatif (BGN), la liste suivante a été appliquée : Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC) 20/10µg, Ampicilline (AM) 10µg, Céfazoline (CZ) 30µg, Céfoxitine (FOX) 30µg, Cefotaxime (CTX) 30µg, Ceftazidime (CAZ) 30µg, Céftriaxone (CRO) 30µg, Ertapénème (ETP) 10µg, Méropénème (MEM) 10µg, Imipénème (IPM) 10µg, Gentamicine (GN) 10µg, Amikacine (AN) 30µg, Tobramycine (TOB) 10µg, Ciprofloxacine (CIP) 5µg, Lévofloxacine (LVX) 5µg, Sulfaméthoxazole + Triméthoprim (SXT) 1.25/23.75µg. Pour ce qui est des cocci à Gram positif (CGP), les antibiotiques utilisés ont été: Céfoxitine (FOX) 30µg, Imipénème (IPM) 10µg, Amikacine (AN) 30µg, Gentamicine (GN) 10µg, Erythromycine (E) 15µg, Clindamycine (CC) 2µg, Teicoplanine (TEC) 30µg, Vancomycine (VA) 30µg, Ciprofloxacine (CIP) 5µg, Rifampicine (RA) 5µg, Sulfaméthoxazole + Triméthoprim (SXT) 1.25/23.75µg. Les diamètres d'inhibition obtenus ont été lus au bout de 8 heures et 18 heures d'incubation et interprétés grâce aux abaques de lecture du CLSI [27]. Aussi, toutes les souches provenant des flacons sélectionnés ont également fait l'objet d'un antibiogramme standard -méthode de référence- réalisé sur milieu Mueller-Hinton, lu et interprété au bout de 18h d'incubation, suivant les recommandations du CLSI [27]. Les résultats obtenus ont été comparés permettant ainsi le calcul des taux de concordance (% CA) et discordances représentées par les erreurs mineures (% mE), majeures (% ME) et très majeures (%VME) ; leurs formules de calcul figurant dans l'étude du CLSI [24]. Puis, ces résultats ont été confrontés aux critères d'acceptabilité de la norme FDA (Food and Drug Administration) relative à la validation des tests de sensibilité aux antibiotiques, qui stipule que : le %CA doit être > 89,9% et le %ME ≤ 3% [28].

3. Résultats

Durant cette étude, 776 flacons d'hémoculture ont été reçus au laboratoire, parmi lesquels 569 étaient stériles. On dénombrait donc 207 flacons positifs dont 63 répondaient aux critères d'inclusion. Par ailleurs, 61 autres flacons ont été obtenus par inoculation élevant ainsi le total des flacons étudiés à 124 flacons. La répartition des souches par espèce bactérienne est illustrée dans le tableau 1

Un total de 69 BMR (bactéries multi-résistantes) ont été retrouvées parmi lesquelles 36 entérobactéries résistantes au céfotaxime, 6 entérobactéries résistantes à l'ertapénème et 5 entérobactéries résistantes à l'imipénème. Cinq SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline), 2 ERV (Entérocoque résistant à la

vancomycine), 12 *A. baumannii* résistants à l'imipénème ainsi que 2 *P. aeruginosa* résistants à l'imipénème et 1 au ceftazidime ont été comptabilisés. Un dénombrement de l'inoculum bactérien a été réalisé pour un total de 63 flacons d'hémoculture (63/124), parmi lesquels 25 flacons patients et 38 flacons inoculés. La quantité de bactéries contenue dans ces flacons variait d'une grandeur de 10⁸ UFC/ml à une grandeur supérieure ou égale à 10⁹ UFC/ml. Près de 90% d'entre eux renfermaient un inoculum bactérien supérieur ou égal à 10⁹ UFC/ml.

Tableau 1 : Répartition des souches retrouvées dans les flacons d'hémoculture par espèce bactérienne
BGN : Bacilles Gram Négatif, CGP : Cocci Gram Positif, SCN : Staphylocoques à coagulase négative

Type de bactérie	Délai de lecture	CA	mE	ME	VME
		%	%	%	%
Entéro-bactéries	8h	87,81%	11,00%	2,07%	0,00%
	18h	94,32%	5,45%	0,36%	0,00%
BGN non fermentaires	8h	94,70%	5,30%	0,00%	0,00%
	18h	98,74%	1,26%	0,00%	0,00%
Staphy-locoques	8h	78,19%	21,28%	0,87%	0,00%
	18h	91,70%	8,30%	0,00%	0,00%

Un taux de concordance global (% CA) extrêmement satisfaisant de 94,43% pour la lecture à 18 heures d'incubation a été enregistré comparativement à un taux plus faible estimé à 87,32% pour la lecture à 8 heures d'incubation. Quant aux discordances, une tendance inversée a été constatée puisque leurs taux pour la lecture à 18 heures d'incubation étaient inférieurs à ceux pour la lecture à 8 heures d'incubation. En effet, un total de 78 mE à 18h (5,43%) contre 150 mE à 8 heures (11,74%) a été obtenu. Pour les ME, 2 ont été enregistrées à 18 heures (0,24%) contre 12 à 8 heures (1,66%). Aucune VME n'a été déclarée ni à 18 heures ni à 8 heures.

Suite à l'analyse des résultats de l'antibiogramme d'urgence par type de bactéries, il est apparu que tous les types bactériens ont enregistré à 18 heures des taux de concordance élevés (%CA > 89,9%). A 8 heures en revanche, ceci a uniquement été observé avec les BGN non fermentaires. Il est également intéressant de souligner que les erreurs majeures (ME), avec des taux acceptables, sont apparues exclusivement avec les

entérobactéries avec 11 ME à 8 heures (2,07%) et 2 ME (0,36%) à 18 heures, et pour les staphylocoques à 8 heures d'incubation (0,87%). Il apparaît également que les meilleurs résultats ont été obtenus à 8 heures d'incubation comme à 18 heures avec les BGN non fermentaires, avec des taux de concordance les plus élevés à 8 heures (94,70%) et à 18 heures (98,74%), des taux d'erreurs mineures (mE) les plus faibles à 8 heures (5,30%) et à 18 heures (1,26%). Les moins bons résultats ont été obtenus avec les staphylocoques notamment à 8 heures avec le taux de concordance le plus faible (78,19%), et le taux d'erreurs mineures le plus élevé (21,28%). De la même manière, était relevé à 18 heures le taux de concordance le plus faible (91,70%) et le taux d'erreurs mineures le plus élevé (8,30%) (tableau 2).

Tableau 2 : Analyse des résultats de l'antibiogramme d'urgence par type de bactéries

Organisme		N	%	
BGN n=86 69,35%	Entérobactérie s n=65 52,42%	<i>E.coli</i>	26	20,97%
		<i>K.pneumoniae</i>	25	20,16%
		<i>S.marcescens</i>	6	4,84%
		<i>E.cloacae</i>	4	3,23%
		<i>E.aerogenes</i>	2	1,61%
		<i>P.mirabilis</i>	2	1,61%
	BGN non fermentaires n=21 16,94%	<i>A.baumannii</i>	13	10,48%
		<i>P.aeruginosa</i>	8	6,45%
CGP n=38 30,65%	Staphylocoques n=32 25,81%	SCN	21	16,94%
		<i>S.aureus</i>	11	8,87%
	Entérocoques n=6 4,84%	<i>E.faecium</i>	6	4,84%
Total		124	100,00%	

CA : Concordance (Categorical agreement), mE : Erreur mineure, ME : Erreur majeure, VME : Erreur très majeure

L'analyse détaillée des résultats de l'antibiogramme d'urgence par molécule pour toutes bactéries confondues a révélé quant à elle, qu'un taux de concordance satisfaisant a été obtenu à 18 heures avec la plupart des antibiotiques testés (17/21) hormis AMC, CC et TEC. Ceci est expliqué par un nombre élevé d'erreurs mineures (mE) obtenues à 18 heures avec ces antibiotiques (7 pour AMC, 5 pour CC et 8 pour TEC et VA en raison d'un faible effectif). Pour ce qui est du délai de 8 heures, les taux de concordance répondant au critère de la FDA étaient beaucoup plus rares. En effet, seules 6 molécules (GN, SXT, LVX, AM, FOX et AN) l'ont enregistré. Pour ce qui est des molécules restantes, les taux de concordance inférieurs à 89,9% s'expliquaient soit par les erreurs mineures (mE) seulement (cas pour TOB (8 mE), ETP (11 mE), CZ (7 mE), CIP (20 mE) et AMC (8 mE)), soit par les erreurs mineures (mE) et majeures (ME) (cas pour CTX (5 mE, 3ME), CRO (7 mE, 1ME), MEM (13mE, 1ME), IPM (14mE, 4ME) et CAZ (12mE, 1ME)). Il est également important de souligner que parmi les erreurs majeures (ME) obtenues à 8 heures, seules celles enregistrées avec CTX (15,00%), CRO (3,85%) et IPM (7,02%) présentaient un taux non satisfaisant supérieur à 3%. Par contre, aucun dépassement de ce taux n'a été signalé à 18 heures (tableau 3).

Pour les entérobactéries, un taux de concordance global non satisfaisant de 87,81% a été obtenu à 8 heures, contrastant avec un taux très satisfaisant de 94,32% à 18 heures. Quant aux discordances, elles étaient majoritairement représentées par les erreurs mineures (mE) avec (102 ; 11,00%) à 8 heures contre seulement (54 ; 5,48%) à 18 heures suivies par les erreurs majeures (ME) avec (11 ; 2,07%) à 8 heures et (2 ; 0,36%) à 18 heures. Aucune erreur très majeure (VME) n'a été déclarée. Les taux globaux de discordances enregistrés restaient donc acceptables. A 18 heures, la plupart des antibiotiques (12/16) ont obtenu un taux de concordance satisfaisant sauf AMC (7 mE), CAZ (8 mE), IPM (6mE, 1ME) et CIP (8mE, 1ME). A 8 heures en revanche, seules 7 molécules (AM, FOX, GN, AN, TOB, LVX et SXT) ont obtenu un taux de concordance supérieur à 89,9%. Un taux inférieur à ce seuil a donc été enregistré avec AMC (8mE), CZ (7mE), CTX (5mE, 3ME), CAZ (12mE, 1ME), CRO (7mE, 1ME), ETP (11mE), MEM (13mE, 1ME), IPM (14mE, 4ME) et CIP (10mE). Il est important de souligner que la majorité des erreurs majeures (ME) ont été signalées avec des antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines notamment CTX (3 ; 15,00%), CAZ (1 ; 3,33%), CRO (1 ; 3,85%), MEM (1 ; 1,85%), IPM (4 ; 8,00%) à 8h et IPM (1 ; 1,85%) à 18h.

La limite d'acceptabilité a été notamment franchie pour CTX, CRO et IPM à 8 heures et CIP (1 ; 3,23%) à 18 heures (tableau 4). Une attention particulière a été portée aux molécules antibiotiques utilisées en première intention dans le traitement des bactériémies provoquées par les entérobactéries : les C3G (CTX, CAZ, CRO), les carbapénèmes (ETP, MEM, IPM) et la CIP. En effet, à 18h est enregistré un taux de concordance satisfaisant (car supérieur à 89,9%) pour

CTX, CRO, ETP et MEM, et non satisfaisant (car inférieur à 89,9%) pour CAZ, IPM et CIP. Ceci est exclusivement expliqué par les erreurs mineures (mE) pour CAZ (8mE parmi 64 résultats obtenus), l'association des erreurs mineures (mE) et majeures (ME) pour IPM (6 mE et 1 ME parmi 54 sensibilités obtenues) et CIP (8 mE et 1 ME parmi 31 sensibilités obtenues).

Tableau 3 : Analyse détaillée des résultats de l'antibiogramme d'urgence par molécule toutes bactéries confondues

Antibiotique	8h d'incubation								18h d'incubation									
	N	mE		ME		VME		CA		N	mE		ME		VME		CA	
		n	%	n	%	n	%	n	%		n	%	n	%	n	%	n	%
AM	46	1	2.17%	0	0.00%	0	0.00%	45	97.83%	48	1	2.08%	0	0.00%	0	0.00%	47	97.92%
AMC	59	8	13.56%	0	0.00%	0	0.00%	51	86.44%	63	7	11.11%	0	0.00%	0	0.00%	56	88.89%
CZ	61	7	11.48%	0	0.00%	0	0.00%	54	88.52%	65	4	6.15%	0	0.00%	0	0.00%	61	93.85%
FOX	83	5	6.02%	0	0.00%	0	0.00%	78	93.98%	95	2	2.11%	0	0.00%	0	0.00%	93	97.89%
CTX	49	5	10.20%	3	15.00%	0	0.00%	41	83.67%	54	2	3.70%	0	0.00%	0	0.00%	52	96.30%
CAZ	80	12	15.00%	1	2.63%	0	0.00%	67	83.75%	85	8	9.41%	0	0.00%	0	0.00%	77	90.59%
CRO	59	7	11.86%	1	3.85%	0	0.00%	51	86.44%	64	3	4.69%	0	0.00%	0	0.00%	61	95.31%
ETP	61	11	18.03%	0	0.00%	0	0.00%	50	81.97%	65	3	4.62%	0	0.00%	0	0.00%	62	95.38%
MEM	60	13	21.67%	1	1.85%	0	0.00%	46	76.67%	64	5	7.81%	0	0.00%	0	0.00%	59	92.19%
IPM	78	14	17.95%	4	7.02%	0	0.00%	60	76.92%	83	6	7.23%	1	1.64%	0	0.00%	76	91.57%
GN	106	2	1.89%	0	0.00%	0	0.00%	104	98.11%	118	1	0.85%	0	0.00%	0	0.00%	117	99.15%
AN	101	8	7.92%	1	1.20%	0	0.00%	92	91.09%	117	5	4.27%	0	0.00%	0	0.00%	112	95.73%
TOB	78	8	10.26%	0	0.00%	0	0.00%	70	89.74%	83	2	2.41%	0	0.00%	0	0.00%	81	97.59%
CIP	101	20	19.80%	0	0.00%	0	0.00%	81	80.20%	116	10	8.62%	1	1.89%	0	0.00%	105	90.52%
LVX	72	2	2.78%	1	1.92%	0	0.00%	69	95.83%	75	1	1.33%	0	0.00%	0	0.00%	74	98.67%
SXT	92	1	1.09%	0	0.00%	0	0.00%	91	98.91%	106	1	0.94%	0	0.00%	0	0.00%	105	99.06%
RA	22	1	FE	0	FE	0	FE	21	FE	33	1	3.03%	0	0.00%	0	0.00%	32	96.97%
CC	21	10	FE	0	FE	0	FE	11	FE	32	5	15.63%	0	0.00%	0	0.00%	27	84.38%
TEC	22	10	FE	0	FE	0	FE	12	FE	30	8	26.67%	0	0.00%	0	0.00%	22	73.33%
E	24	5	FE	0	FE	0	FE	19	FE	35	3	8.57%	0	0.00%	0	0.00%	32	91.43%
VA	3	0	FE	0	FE	0	FE	3	FE	6	0	FE	0	FE	0	FE	6	FE

CA : Concordance (Categorical agreement), mE : Erreur mineure, ME : Erreur majeure, VME : Erreur très majeure, FE : Faible effectif, N : Nombre total de résultats obtenus par molécule antibiotique, n : Nombre de concordances ou discordances enregistrées par molécule antibiotique, AM : Ampicilline, AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique, CZ : Céfazoline, FOX : Céfoxitine, CTX : Céfotaxime, CAZ : Ceftazidime, CRO : Ceftriaxone, ETP : Ertapénème, MEM : Méropénème, IPM : Imipénème, GN : Gentamicine, AN : Amikacine, TOB : Tobramycine, CIP : Ciprofloxacine, LVX : Levofloxacine, SXT : Sulfaméthoxazole + Triméthoprime, RA : Rifampicine, CC : Clindamycine, TEC : Teicoplanine, E : Erythromycine, VA : Vancomycine.

Pour les BGN non fermentaires, huit différents antibiotiques (CAZ, IPM, GN, AN, TOB, CIP, LVX et SXT) ont été évalués. Des taux de concordance de 98,70% et 94,70% ont été obtenus à 18 heures et 8 heures respectivement. Aucune erreur majeure ni très majeure n'a été signalée. Les erreurs mineures (mE) étaient à 5,30% à 8 heures (4 pour TOB, 1 pour GN, 1 pour AN, 1 pour CIP, 1 pour LVX) et 1,26% à 18 heures (1 pour AN, 1 pour LVX).

Pour les Staphylocoques, neuf antibiotiques (FOX AN GN E CC SXT RA CIP TEC) ont été évalués. Un faible taux de concordance (78,19%), non satisfaisant, a été obtenu à 8 heures. Cela était majoritairement dû aux erreurs mineures (mE) estimées à 21,28% (10 pour TEC, 10 pour CC, 9 pour CIP, 5 pour E, 3 pour AN, 1 pour RA, 1 pour GN et 1 pour FOX) mais également aux erreurs majeures (ME) (1 pour AN ; 0,87%). En revanche, à 18 heures le taux de concordance était plus que satisfaisant (91,70%) et celui des erreurs mineures (mE) beaucoup plus faible (8,30%) (8 pour TEC, 5 pour CC, 3 pour E, 2 pour AN, 2 pour CIP, 1 pour RA et 1 pour GN). Aucune erreur majeure n'a été enregistrée à 18 heures, ni très majeure à 8 heures ni à 18 heures.

Pour les entérocoques, cinq antibiotiques (VA, TEC, CIP, E et RA) ont été évalués. Aucune discordance n'a été signalée.

Tableau 4 : Analyse détaillée des résultats obtenus avec l'antibiogramme d'urgence pour les entérobactéries par molécule

Antibiotique	8h d'incubation								18h d'incubation									
	N	mE		ME		VME		CA		N	mE		ME		VME		CA	
		n	%	n	%	n	%	n	%		n	%	n	%	n	%		
AM	46	1	2.17%	0	0.00%	0	0.00%	45	97.83%	48	1	2.08%	0	0.00%	0	0.00%	47	97.92%
AMC	59	8	13.56%	0	0.00%	0	0.00%	51	86.44%	63	7	11.11%	0	0.00%	0	0.00%	56	88.89%
CZ	61	7	11.48%	0	0.00%	0	0.00%	54	88.52%	65	4	6.15%	0	0.00%	0	0.00%	61	93.85%
FOX	61	4	6.56%	0	0.00%	0	0.00%	57	93.44%	64	2	3.13%	0	0.00%	0	0.00%	62	96.88%
CTX	49	5	10.20%	3	15.00%	0	0.00%	41	83.67%	54	2	3.70%	0	0.00%	0	0.00%	52	96.30%
CAZ	60	12	20.00%	1	3.33%	0	0.00%	47	78.33%	64	8	12.50%	0	0.00%	0	0.00%	56	87.50%
CRO	59	7	11.86%	1	3.85%	0	0.00%	51	86.44%	64	3	4.69%	0	0.00%	0	0.00%	61	95.31%
ETP	61	11	18.03%	0	0.00%	0	0.00%	50	81.97%	65	3	4.62%	0	0.00%	0	0.00%	62	95.38%
MEM	60	13	21.67%	1	1.85%	0	0.00%	46	76.67%	64	5	7.81%	0	0.00%	0	0.00%	59	92.19%
IPM	58	14	24.14%	4	8.00%	0	0.00%	40	68.97%	62	6	9.68%	1	1.85%	0	0.00%	55	88.71%
GN	63	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	63	100.00%	65	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	65	100.00%
AN	61	4	6.56%	0	0.00%	0	0.00%	57	93.44%	65	2	3.08%	0	0.00%	0	0.00%	63	96.92%
TOB	59	4	6.78%	0	0.00%	0	0.00%	55	93.22%	63	2	3.17%	0	0.00%	0	0.00%	61	96.83%
CIP	59	10	16.95%	0	0.00%	0	0.00%	49	83.05%	63	8	12.70%	1	3.23%	0	0.00%	54	85.71%
LVX	52	1	1.92%	1	2.86%	0	0.00%	50	96.15%	54	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	54	100.00%
SXT	59	1	1.69%	0	0.00%	0	0.00%	58	98.31%	63	1	1.59%	0	0.00%	0	0.00%	62	98.41%

CA : Concordance (Categorical agreement), mE : Erreur mineure, ME : Erreur majeure, VME : Erreur très majeure, FE : Faible effectif, N : Nombre total de résultats obtenus par molécule antibiotique, n : Nombre de concordances ou discordances enregistrées par molécule antibiotique, AM : Ampicilline, AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique, CZ : Céfazoline, FOX : Céfoxitine, CTX : Céfotaxime, CAZ : Ceftazidime, CRO : Ceftriaxone, ETP : Ertapénème, MEM : Méropénème, IPM : Imipénème, GN : Gentamicine, AN : Amikacine, TOB : Tobramycine, CIP : Ciprofloxacine, LVX : Levofloxacine, SXT : Sulfaméthoxazole + Triméthoprime.

4. Discussion

Notre travail a porté sur la réalisation d'antibiogrammes d'urgence directement à partir des hémocultures positives sur milieu Mueller-Hinton CHROMagar Orientation, avec des lectures précoces, ce qui a permis de réduire le temps nécessaire pour l'obtention d'informations indispensables à l'adaptation du traitement probabiliste en antibiothérapie ciblée.

Notre étude a enregistré à 18 heures un taux de concordance global supérieur à celui obtenu lors de l'étude préliminaire du CLSI [24], se rapprochant ainsi du taux enregistré par l'étude de Deepashree Rajshekar et al. [29] et de celle d'Avani Desai et al. [30]. Quant à

celui obtenu à 8 heures, il était meilleur que celui enregistré par le CLSI à 6 heures [24]. On a noté une amélioration des taux de concordance entre la lecture précoce à 8 heures et celle à 18 heures, grâce à une réduction des erreurs mineures (mE) et majeures (ME) enregistrées. Cette même observation a été faite par Sukantha Chandrasekaran et al. [24]. Les taux globaux de discordances enregistrés par notre étude notamment à 18 heures étaient acceptables et s'accordaient avec ceux des 2 études précédentes [29, 30]. Une autre similitude à noter avec l'étude de Sukantha Chandrasekaran et al. était la diminution du nombre d'erreurs majeures (ME) entre la lecture précoce et celle de 18 heures. Cette observation est cohérente avec la dynamique de diffusion de l'antibiotique à partir du disque. La quantité diffusée lors des premières heures est très importante (engendrant une grande concentration de l'antibiotique mais proche du disque) puis celle diffusée dans les heures qui suivent est moins élevée (engendrant une concentration plus faible de l'antibiotique mais à une distance plus grande du disque). Les petits diamètres mesurés responsables des erreurs majeures sont donc dus à une diffusion incomplète de l'antibiotique sur la gélose d'où l'intérêt d'adopter des breakpoints spécifiques pour les lectures précoces [24]. Il est à rappeler que les erreurs majeures

représentent de fausses résistances, leur communication au médecin ne met pas en jeu la santé du patient mais risque de promouvoir les résistances des bactéries aux antibiotiques.

Pour ce qui est de l'analyse des résultats par type de bactéries, les résultats de l'étude de Deepashree Rajshekar *et al.* étaient contradictoires aux nôtres. En effet, les taux de concordance les plus élevés étaient comptabilisés avec les staphylocoques et les entérocoques et les plus faibles avec les *Pseudomonas.spp* [29]. De même, le %mE le plus élevé a été comptabilisé avec les staphylocoques dans notre étude, alors que c'était avec les entérobactéries dans l'étude de Deepashree Rajshekar *et al.* [29]. De même pour le % VME, maximal avec le *Pseudomonas.spp* dans l'étude de Deepashree Rajshekar *et al.* [29], il était nul pour toutes les catégories de bactéries dans la nôtre. Enfin, les résultats des deux études concordaient pour les ME, qui étaient les plus élevées avec des taux encore plus élevés pour les entérobactéries [29].

Notre analyse des résultats par molécule pour toutes bactéries confondues a rejoint en partie celle du CLSI comptabilisant à 6 heures les meilleurs taux de concordance avec GN et TOB et les pires avec IPM et TGC [24], alors que notre étude a enregistré à 8 heures ses meilleurs taux avec GN (98,11%) et SXT (98,91%) et les pires avec IPM (76,92%) et MEM (76,67%). Aussi, il est à noter que le CLSI a enregistré les %ME les plus élevés à 6 heures avec des antibiotiques certes différents des nôtres mais appartenant pour la plupart à la famille des β -lactamines [24].

Au terme de notre étude, les entérobactéries ont enregistré à 18 heures un excellent taux de concordance global, se rapprochant de celui obtenu par l'étude de Deepashree Rajshekar *et al.* [29]. Néanmoins, il apparaît que les taux de concordance les plus faibles ont majoritairement été enregistrés à 8 heures comme à 18 heures avec des antibiotiques de la famille des β -lactamines. Cette même remarque a été rapportée par l'étude de Deepashree Rajshekar *et al.* avec Piperacillin-tazobactam et Cefoperazone-sulbactam [29] ainsi que celle menée par le CLSI, qui a remarqué la persistance de taux élevés d'erreurs mineures et majeures même à 18 heures avec des antibiotiques de la famille des β -lactamines [24]. Ceci peut probablement s'expliquer par l'inhibition de la translocation des antibiotiques de la famille des β -lactamines dans les bactéries par des éléments du sang présents dans l'inoculum [24]. Une attention particulière a été portée aux principaux antibiotiques utilisés en première intention dans le traitement des bactériémies provoquées par les entérobactéries. Il est ressorti de notre étude, des taux de concordance très satisfaisants

pour CTX, CRO, ETP et MEM à 18 heures rejoignant ainsi l'étude de Deepashree Rajshekar *et al.* concernant CRO et MEM [29], ainsi que des taux de concordance légèrement en dessous de la limite d'acceptabilité pour CAZ, IPM et CIP à 18 heures. L'étude de Deepashree Rajshekar *et al.* avait pour sa part enregistré d'excellents taux avec CAZ et CIP [29]. L'étude menée par Avani Desai *et al.* quant à elle a rapporté un excellent taux de concordance pour les C3G (92,1%- 96,3%) [30].

Les BGN non fermentaires ont enregistré à 18h d'excellents taux de concordance qui se rapprochaient de ceux obtenus par Deepashree Rajshekar *et al.* [29]. De plus, aucune erreur majeure (ME) ni très majeure (VME) n'a été comptabilisée ni à 8 heures ni à 18 heures, avec des taux meilleurs que ceux déclarés par l'étude de Deepashree Rajshekar *et al.* [29]. Les staphylocoques ont également enregistré un excellent taux de concordance à 18 heures qui se rapprochait de celui obtenu par l'étude de Deepashree Rajshekar *et al.* [29]. Aussi, de faibles concordances associées à un nombre élevé d'erreurs mineurs ont été observées pour les staphylocoques à 8 heures comme à 18 heures avec la clindamycine (10 mE à 8h et 5 mE à 18 heures) et la teicoplanine (10 mE à 8h et 8 mE à 18 heures) rejoignant ainsi en partie l'étude d' Avani Desai *et al.* lequel déconseille la communication des résultats de la clindamycine aux cliniciens lors de la réalisation de l'antibiogramme direct [30]. Pour les entérocoques, l'effectif étant particulièrement faible, aucune conclusion particulière ne peut en être tirée.

5. Conclusion

Les bactériémies constituent des urgences qui mettent en jeu le pronostic vital des patients. La communication rapide des résultats de sensibilité aux antibiotiques aux praticiens permet d'en réduire la mortalité et la morbidité. La réalisation d'un antibiogramme d'urgence directement à partir des flacons d'hémoculture positifs avec lecture des résultats à 8 heures et 18 heures s'inscrit donc dans cette perspective, d'une importance primordiale pour l'ajustement précoce de l'antibiothérapie probabiliste. Notre travail, en accord avec quelques autres études, a montré des résultats plus que satisfaisants pour les lectures de 18 heures. Une attention particulière doit cependant être portée aux β -lactamines testées avec les entérobactéries ainsi qu'à la teicoplanine et clindamycine testées avec les staphylocoques. Pour ce qui est de la lecture à 8 heures, les résultats restent encore non concluants. Des études supplémentaires doivent être réalisées avec lecture à 10 heures et des breakpoints spécifiques pour les lectures précoces doivent être établis. L'antibiogramme d'urgence présente l'avantage d'être simple, facile à réaliser et abordable. Il surmonte aussi la difficulté à

identifier tous les gènes responsables de résistances chez les bactéries rencontrées avec les méthodes de biologie moléculaire. Il est à noter surtout que l'utilisation du milieu Mueller-Hinton CHROMagar permet d'établir une identification présomptive des bactéries et une étude de leur sensibilité aux antibiotiques beaucoup plus rapide avec un gain de temps d'au moins 24 heures en cas de réalisation de lectures précoces. Cependant, cette technique présente également des limites notamment sa non-applicabilité aux germes rares ainsi qu'aux cas exceptionnels d'hémocultures polymicrobiennes chez les immunodéprimés notamment. Elle peut également engendrer une charge de travail supplémentaire notamment pour la lecture précoce de 8 heures qui est souvent incompatible avec les horaires de travail et qui nécessite un laboratoire fonctionnant 24h/24. La variabilité de lecture des diamètres d'un lecteur à l'autre en est une autre limite, pouvant être détournée par l'utilisation de caméras digitales pour les lectures. L'absence de standardisation de la technique est également un frein non négligeable à son instauration dans les différents laboratoires.

Financement : Cette recherche n'a reçu aucun financement externe

Conflits d'intérêts : Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt en relation avec cet article

6. Références

1. François Denis, D., Vincent Cattoir, C., Christian Martin, M., Marie-Cécile Ploy, P., *Bactériologie Médicale: Techniques Usuelles*, 3^{ème} édition, Elsevier Masson, 2016.
2. Société française de microbiologie, *Résumé Référentiel de microbiologie médicale*, 6^{ème} édition, Société française de microbiologie, 2018.
3. Chen, Y.-J., Chen, F.-L., Chen, J.-H., Wu, M.-T. M., Chen, Y.-L., Chien, D.-S., et al. . Epidemiology of sepsis in Taiwan. *Medicine*, (2019), e15725. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015725>
4. Haug, J. B., Harthug, S., Kalager, T., Digranes, A., & Solberg, C. O. Bloodstream infections at a Norwegian university hospital, 1974-1979 and 1988-1989: Changing etiology, clinical features, and outcome. *Clin. Infect. Dis: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, (1994), 246-256. <https://doi.org/10.1093/clinids/19.2.246>
5. [Martin, G. S., Mannino, D. M., Eaton, S., & Moss, M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N. Engl. J. Med.*\(2003\)](#)

6. Rudd, K. E., Johnson, S. C., Agesa, K. M., Shackelford, K. A., Tsoi, D., Kievlan, D. R., et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: Analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*, (2020), 395(10219), 200-211. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32989-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32989-7)
7. Bearman, G.M.L, Wenzel, R.P. Bacteremias: A leading cause of death. *Arch Med Res*. 2005 Dec;36(6):646–59. (s. d.).
8. Diekema, D. J., Beekmann, S. E., Chapin, K. C., Morel, K. A., Munson, E., & Doern, G. V. Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection. *J. Clin. Microbiol*, (2003) 41(8), 3655-3660. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.8.3655-3660.2003>
9. Alfandari, S., Cabaret, P., Nguyen, S., Descamps, D., Vachée, A., Cattoen, C., et al. bacteremia groups. Evaluating the management of 493 patients presenting with bacteremia in 23 northern French hospitals. *Med. Mal. Infect.*(2016) 46(4), 194-199. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2016.03.004>
10. Alfandari, S., Robert, J., & Rabaud, C. (s. d.). SPA-BACT: prise en charge des bactériémies. Résultats préliminaires de l'enquête SPA (SPILF-ONERBA) 2014. 21.
11. Delle Rose, D., Sordillo, P., Gini, S., Cerva, C., Boros, S., Rezza, G., et al. Microbiologic characteristics and predictors of mortality in bloodstream infections in intensive care unit patients: A 1-year, large, prospective surveillance study in 5 Italian hospitals. *Am. J. Infect. Control*, (2015), 43(11), 1178-1183. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2015.06.023>
12. Mouloudi, E., Protonotariou, E., Zagorianou, A., Iosifidis, E., Karapanagiotou, A., Giasnetsova, T., et al. Bloodstream infections caused by metallo-β-lactamase/Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae among intensive care unit patients in Greece: Risk factors for infection and impact of type of resistance on outcomes. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*(2010) 31(12), 1250-1256. <https://doi.org/10.1086/657135>
13. Stewardson, A. J., Allignol, A., Beyersmann, J., Graves, N., Schumacher, M., Meyer, R., et al. The health and economic burden of bloodstream infections caused by antimicrobial-susceptible and non-susceptible Enterobacteriaceae and Staphylococcus aureus in European hospitals, 2010 and 2011: A multicentre retrospective cohort study. *Euro Surveill = European Communicable Disease Bulletin*, (2016), 21(33). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.33.30319>
14. Brunelli, S. M., Turenne, W., Sibbel, S., Hunt, A., & Pfaffle, A. Clinical and economic burden of

- bloodstream infections in critical care patients with central venous catheters. *J. Crit. Care*, (2016), 35, 69-74. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2016.04.035>
15. Kumar, A., Roberts, D., Wood, K. E., Light, B., Parrillo, J. E., Sharma, S., et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit. Care Med*, (2006), 34(6), 1589-1596. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000217961.75225.E9>
 16. Søgaard, M., Nørgaard, M., & Schönheyder, H. C. First notification of positive blood cultures and the high accuracy of the gram stain report. *J. Clin. Microbiol*, (2007), 45(4), 1113-1117. <https://doi.org/10.1128/JCM.02523-06>
 17. Dubourg, G., Raoult, D., Fenollar, F. Emerging methodologies for pathogen identification in bloodstream infections: An update. *Expert. Rev. Mol. Diagn*, (2019), 19(2), 161-173. <https://doi.org/10.1080/14737159.2019.1568241>
 18. Cattoen, C., Antibiogramme Vitek2 sur flacons d'hémocultures Reve ou Réalité. Symposium Biomérieux ; Paris ; France ; 16 décembre 2019.
 19. Doern, G. V., Scott, D. R., Rashad, A. L., & Kim, K. S. Evaluation of a direct blood culture disk diffusion antimicrobial susceptibility test. *Antimicrob. Agents. Chemother*, (1981) 20(5), 696-698.
 20. Coyle, M. B., McGonagle, L. A., Plorde, J. J., Clausen, C. R., & Schoenknecht, F. D. Rapid antimicrobial susceptibility testing of isolates from blood cultures by direct inoculation and early reading of disk diffusion tests. *J. Clin. Microbiol*, (1984) 20(3), 473-477.
 21. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, Recommandation 2019, V1.0, Société française de microbiologie.
 22. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Methodology EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood culture bottles. Version 1.1; May 2019
 23. [EUCAST: Rapid AST in bloodcultures, Disponible à l'adresse http:// www. eucast.org/ rapid_ast_in_blood_cultures/](http://www.eucast.org/rapid_ast_in_blood_cultures/)
 24. Chandrasekaran, S., Abbott, A., Campeau, S., Zimmer, B. L., Weinstein, M., Thrupp, L., et al. 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. *J. Clin. Microbiol*, (2018), 56(3), e01678-17, /jcm/56/3/e01678-17.atom. <https://doi.org/10.1128/JCM.01678-17>
 25. Paquin, C. Antibiogramme direct sur flacon d'hémoculture positif : mise au point et intérêt en thérapeutique. Thèse de Doctorat en Pharmacie, U.F.R. DE MEDECINE ET DE-PHARMACIE , Rouen, 2016.
 26. Dr.A.Rambach CHROMagar MH Orientation. Disponible sur: <https://www.chromagar.com>
 27. Weinstein, M. P. (2018). M100-performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th edition. Clinical and laboratory.
 28. 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 [WebContent]. Center for Devices and Radiological Health. Consulté 26 octobre 2020, à l'adresse <https://wayback.archive-it.org/7993/20180907155335/https://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm080564.htm>
 29. Rajshekar, D., Chaudhari, K. V., Bhat, P., Prakash, S. S., Raghvan, R., Vasanth, S., et al. Evaluation of performance of direct disk diffusion test from positively flagged blood culture broth : A large scale study from South India. *J. Lab. Physicians*, (2019), 11(2), 154. https://doi.org/10.4103/JLP.JLP_137_18
 30. Desai, A., Unson, E., & Weinstein, M. Can Direct Disk Diffusion Susceptibility Testing From Positive Blood Cultures Provide Earlier Results to Clinicians? *Open Forum Infectious Diseases*, 3(2016), 180. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofw172.47>