

Profil Bactériologique des Hémocultures à L'hôpital Universitaire à Mahajanga, Madagascar

[Bacteriological Profile of Blood Culture at a University Hospital in Mahajanga, Madagascar]

Rivo RAKOTOMALALA¹, Francine Isabelle RAKOTONINDRINA¹, Tamby Rakoto Alson
ANDRIANJAFIARINO², Tahirimalala RABENANDRIANINA¹, Davidra RAJAONATAHIANA³, Luc
RAKOTOVAO⁴, Aimée Olivat RAKOTO ALSON AO⁴, Andry RASAMINDRAKOTROKA⁴,
Rasoamialy Soa RAZANAKOLONA⁴

¹ Laboratoire de Biologie médicale, CHU PZaGa, Mahajanga

² Département de Pharmacologie, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo

³ Faculté de Médecine de Mahajanga

⁴ Département de Biologie, Faculté de Médecine d'Antananarivo



Résumé - L'hémoculture est un examen essentiel pour détecter la présence de microorganismes dans le sang. Les objectifs de cette étude étaient d'identifier les bactéries isolées, d'étudier leurs sensibilités aux antibiotiques et de déterminer le profil épidémiologique-clinique des patients ayant demandé les hémocultures. Il s'agissait d'une étude rétrospective, de type descriptive pendant 18 mois allant du juillet 2017 à décembre 2018, effectuée au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Professeur Zafisaona Gabriel (CHU PZaGa) à Mahajanga. Au total, nous avons reçu 126 hémocultures dont 17% de bactériémie, 75% des résultats négatifs et 8% de contaminations. Aucune hémoculture positive à levure n'a été trouvée. L'âge des patients variait entre 5 jours et 68 ans dont la moyenne était 17,8 ans. Le sex-ratio était de 0,79. Quant aux bactériémies, les germes identifiés étaient représentés par 77% des bacilles à Gram négatif et 23% de cocci à Gram positif. La majorité des espèces isolées étaient dominée par *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, et *Klebsiella pneumoniae*, respectivement 31.9%, 22.8% et 18.2%. Pour les entérobactéries, aucun phénotype sauvage n'a été identifié. L'acquisition de résistance était représentée par la production de céphalosporinase déréprimée (75%), par la sécrétion de pénicillinase de haut niveau (12.5%) et par la production de bêta-lactamase à spectre élargi (12.5%). Les 16 isolats d'entérobactéries présentaient une résistance élevée aux antibiotiques dont 100% aux aminopénicillines, 100% à l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique, 88% aux céphalosporines de 3ème génération, 75% aux C4G, 81% à la ciprofloxacine, et 75% à la gentamicine. Tous ces isolats étaient sensibles à l'imipénème. Pour *Staphylococcus aureus*, 20% présentaient un phénotype de résistance à la méticilline, mais aucune résistance à la ciprofloxacine n'a été trouvée. L'antibiothérapie devrait être prescrite après tout prélèvement de sang. La bactériémie, voire la septicémie restent toujours une urgence diagnostique et thérapeutique.

Mots-Clés - Hémoculture, Bactéries, Antibiorésistance, CHU.

Abstract - Blood culture is an essential analysis to detect the presence of microorganisms in the blood. The objectives of this study were to identify isolated bacteria, study their antibiotic sensitivities, and determine the epidemiological-clinical profile of patients who requested hemocultures. This was a retrospective, descriptive study for 18 months from July 2017 to December 2018, carried out in the laboratory of the University Hospital Centre Professor Zafisaona Gabriel (CHU PZaGa) in Mahajanga. In total, we received 126

hemocultures including 17% bacteremia, 75% of negative results and 8% of contaminations. No positive yeast hemoculture was found. Patients ranged in age from 5 days to 68 years, with an average age of 17.8 years. The sex ratio was 0.79. As for bacteremia, the identified germs were represented by 77% of Gram-negative bacilli and 23% of Gram-positive cocci. The majority of isolated species were dominated by *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, and *Klebsiella pneumoniae*, respectively 31.9%, 22.8% and 18.2%. For enterobacteriaceae, no wild phenotypes were identified. The acquisition of resistance was represented by the production of depressed cephalosporinase (75%), by the secretion of high-level penicillinase (12.5%) and by the production of broad-spectrum beta-lactamase (12.5%). The 16 enterobacteriaceae isolates had high antibiotic resistance, including 100% to aminopenicillines, 100% to amoxicillin associated with clavulanic acid, 88% to 3rd generation cephalosporins, 75% to C4G, 81% to ciprofloxacin, and 75% to gentamicin. All of these isolates were sensitive to imipenem. For *Staphylococcus aureus*, 20% had a methicillin resistance phenotype, but no resistance to ciprofloxacin was found. Antibiotic therapy should be prescribed after any blood sample. Bacteremia and even sepsis are still a diagnostic and therapeutic emergency.

Keywords - Blood Culture, Bacteria, Antibiorésistance, UHC.

I. INTRODUCTION

La présence des bactéries dans le sang ou bactériémies reste toujours grave, et responsable d'une importante cause de morbidité et de mortalité. Ces infections sont classées comme étant la 11^{ème} principale cause de décès aux Etats-Unis [1]. Par conséquent, l'hémoculture constitue une urgence diagnostique et thérapeutique. Elle est un moyen d'investigation pour confirmer une bactériémie pour reconnaître le germe responsable et de tester sa sensibilité aux antibiotiques [2]. Elle est fréquemment prescrite en milieu hospitalier, notamment en cas de fièvre indéterminée. L'interprétation d'une hémoculture positive varie selon la situation clinique et elle est simple si la bactérie retrouvée n'est jamais commensale de la peau [3]. Les objectifs de cette étude étant d'identifier les bactéries isolées et leurs phénotypes de résistance aux antibiotiques.

II. MATERIELS ET METHODE

Il s'agissait d'une étude rétrospective descriptive sur une période de 18 mois allant du juillet 2017 à décembre 2018 au sein du laboratoire du CHU Professeur Zafisaona Gabriel (PZaGa) à Mahajanga. Ont été inclus tous les isolats d'hémocultures faisant l'objet de l'antibiogramme. Le laboratoire ne dispose qu'un seul flacon d'hémoculture aérobie. Ce qui constitue la limite de cette étude. Par conséquent, les bactéries anaérobies ne sont pas détectables en cas de bactériémie. Toutefois, la majorité des bactéries qui passent dans le sang sont des aéro-anaérobies facultatifs.

Au laboratoire, nous avons suivi le guide de bonne exécution d'analyses

- 1^{er} jour : Réception du prélèvement de sang dans le tube contenant de l'anticoagulant EDTA, transfert de l'échantillon dans le flacon d'hémoculture aérobie après aseptie.

- 2^e - 7^e jour : Surveillance journalière de l'hémoculture.

- Si négative : surveillance pendant 7 jours.
- Si positive : faire l'identification du germe, l'antibiogramme et informer le service demandeur.

Nous avons utilisé comme matériel un flacon d'hémoculture aérobie à détection manuelle (Thermo Scientific Oxoid). Le principe de cette méthode étant : le sang est prélevé en respectant les conditions d'asepsie d'usage et ensemencé dans les flacons d'hémoculture. La composition du milieu favorise le développement de germes aérobies, anaérobies et microaérophiles ce qui provoque une augmentation de pression détectée par l'indicateur de croissance adapté au flacon après addition de sang. L'augmentation de pression fait passer un certain volume de mélange sang/bouillon dans l'indicateur et révèle la présence d'une activité microbienne. Un résultat positif s'observe lorsque le mélange sang/bouillon dépasse le manchon de l'indicateur de croissance. Ensuite, il faut mélanger le contenu de l'indicateur, dévisser le capuchon et prélever stérilement le mélange sang/bouillon afin d'effectuer le repiquage, l'examen microscopique et l'antibiogramme.

III. RESULTATS

Au total, nous avons reçu 126 hémocultures dont 17% de bactériémie, 75% des résultats négatifs et 8% de contaminations. Aucune hémoculture positive à levure n'a été trouvée. L'âge des patients variait entre 5 jours et 68 ans dont la moyenne était 17,8 ans. Le sex-ratio était de 0,79. Quant aux bactériémies, les germes identifiés étaient représentés par 77% des bacilles à Gram négatif et 23% de cocci à Gram positif. La majorité des espèces isolées étaient

dominée par *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, et *Klebsiella pneumoniae*, respectivement 31.9%, 22.8% et 18.2%. Pour les entérobactéries, aucun phénotype sauvage n'a été identifié. L'acquisition de résistance était représentée par la production de céphalosporinase déréprimée (75%), par la sécrétion de pénicillinase de haut niveau (12.5%) et par la production de bêta-lactamase à spectre élargi (12.5%). Les 16 isolats d'entérobactéries présentaient une résistance élevée aux antibiotiques dont 100% aux aminopénicillines, 100% à l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique, 88%

aux céphalosporines de 3^{ème} génération, 75% aux C4G, 81% à la ciprofloxacine, et 75% à la gentamicine. Tous ces isolats étaient sensibles à l'imipénème. Pour *Staphylococcus aureus*, 20% présentaient un phénotype de résistance à la méticilline, mais aucune résistance à la ciprofloxacine n'a été trouvée. L'antibiothérapie devrait être prescrite après tout prélèvement de sang. La bactériémie, voire la septicémie restent toujours une urgence diagnostique et thérapeutique.

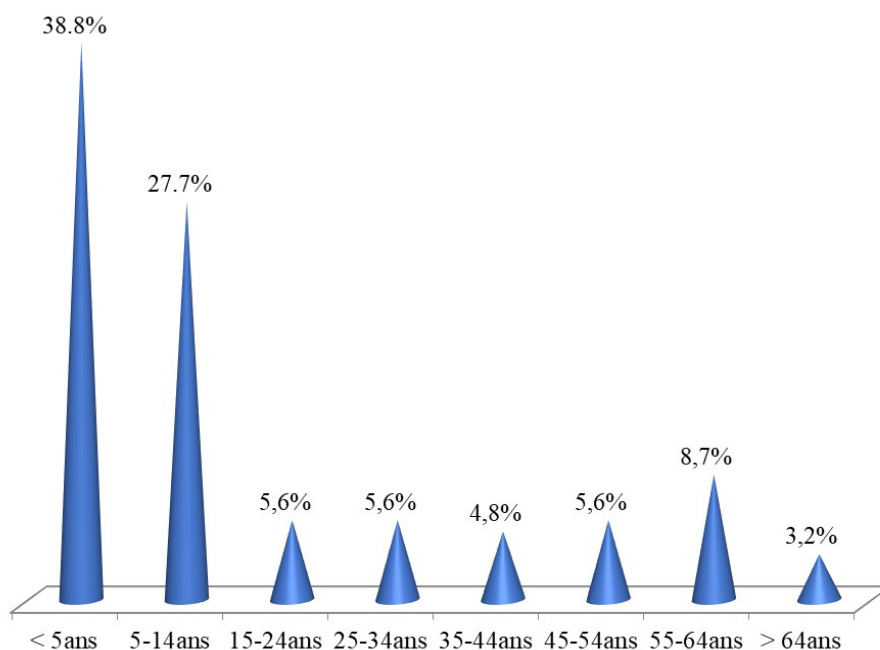


Figure 1 : Répartition selon l'âge des patients (n=126)

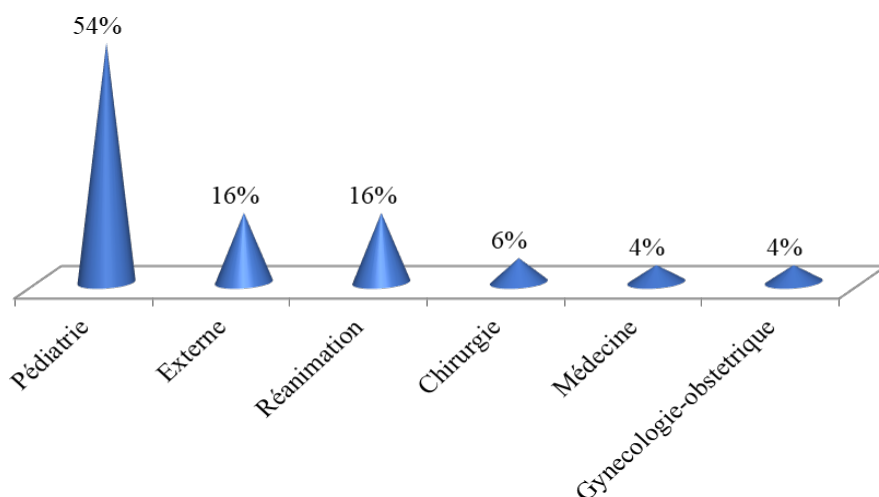


Figure 2 : Répartition les services demandeurs (n=126)

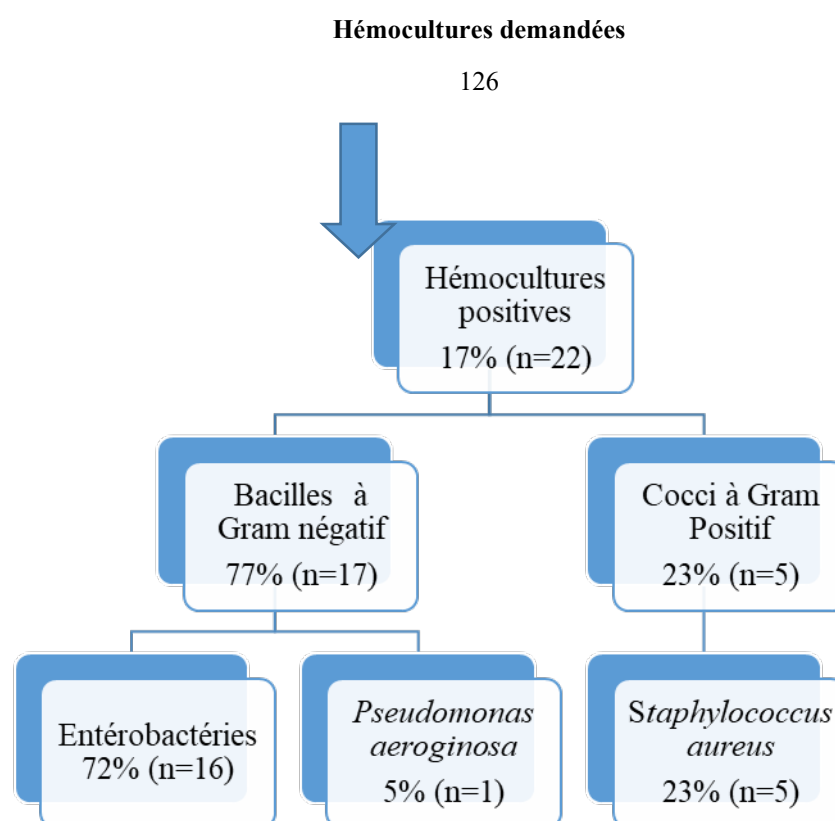


Figure 3 : Résultat bactériologique des hémocultures

Tableau I. Classification selon famille, genre et espèce bactérienne

Entérobactériacae	72% (n=16)
<i>Enterobacter cloacae</i>	32% (n=7)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18% (n=4)
Entérobactérie non identifiable	14% (n=3)
<i>Escherichia coli</i>	5% (n=1)
<i>Proteus sp</i>	5% (n=1)
Staphylococcacae	23% (n=5)
<i>Staphylococcus aureus</i>	23% (n=5)
Pseudomonadecae	5% (n=1)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5% (n=1)

Tableau II. Répartition selon les phénotypes de résistance des entérobactéries (n=16)

Phénotypes de résistance	Effectifs (%)
Phénotype sauvage	0
Pénicillinase de haut niveau	2 (12,5%)
Céphalosporinase de bas niveau	0
Céphalosporinase dérégulée	12 (75%)
EBLSE	2 (12,5%)

IV. DISCUSSIONS

Globalement, le profil bactériologique des isolats a été marqué par une prédominance des bactéries à Gram négatif (77%) par rapport aux bactéries à Gram positif (23%) (Figure 12). Ce qui n'était pas trouvé dans d'autre étude où les auteurs rapportaient 22% pour les bactéries à Gram négatif et 78% pour les bactéries à Gram positif [4]. La famille d'Enterobacteriaceae représente 73%, suivie de Staphylococcaceae (23%) et 5% de *Pseudomonas*. La majorité des germes identifiés a été *Enterobacter cloacae* (32%), suivie de *Staphylococcus aureus* (23%) de *Klebsiella pneumoniae* (18%) (Tableau I). En 2017 au Maroc, les auteurs rapportaient des bactéries *Klebsiella pneumoniae* (18,5%) dans le sang, suivi de *Staphylococcus aureus* (12,9%) puis de *Pseudomonas* (11%) [5]. Par contre, une autre étude avait retrouvé la prédominance de Staphylococcaceae (64,92%) devant la famille Enterobacteriaceae (20,51%) et la famille Pseudomonadaceae (3,54%) [6].

En 2014 au Congo, Ontsira et al ont rapporté un résultat différent du nôtre où *Staphylococcus aureus* était la bactérie la plus fréquente avec un taux de 11,9%, suivie de *Klebsiella pneumoniae* (7%), d'*Enterobacter cloacae* (7%) et de *Pseudomonas* (7%) [7].

L'absence de bactéries anaérobies strictes, dans notre série, pourrait être expliquée par la non disponibilité des flacons anaérobies dans notre laboratoire. Ce qui constitue la limite de cette étude. Toutefois, certains auteurs rapportaient que le prélèvement systématique du flacon

anaérobie était inutile, et qu'il devrait être réservé aux patients présentant un haut risque de septicémies à anaérobies [8].

Phénotypes de résistance

Aucune souche sauvage n'a été identifiée. La production de céphalosporinase dérégulée représentait 75%. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE) représentaient 12,5% (Tableau II). Ces résultats reflètent l'augmentation du taux de la résistance bactérienne vis-à-vis des antibiotiques. La forte prescription des antibiotiques probabilistes avant la confirmation du diagnostic favorise l'émergence des souches de bactéries multi-résistantes. La résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème apparu dès le début de la commercialisation des antibiotiques. En effet, les bactéries possèdent une capacité à acquérir des mécanismes de résistance sous l'influence de la pression de sélection des antibiotiques [9]. Les niveaux de résistance bactérienne varient d'un pays à l'autre et d'une année à l'autre. Aussi, la connaissance de la situation locale et de son évolution sont nécessaires pour le choix de l'antibiothérapie de première intention [10].

L'importante résistance des EBLSE à de nombreuses familles d'antibiotiques réduit considérablement les options thérapeutiques et entretient une hausse continue de la prescription des carbapénèmes, notamment de l'imipénème [11].

Quant aux bactéries *Staphylococcus aureus*, la résistance à la méticilline était 20% (SARM). Ce qui était proche du cas rapporté en France en 2018 (19%) [12]. Il a été

démontré par plusieurs auteurs que les taux du SARM sont aussi fortement liés à la consommation d'antibiotiques. Les taux les plus élevés sont observés dans les pays et les services hospitaliers les plus prescripteurs d'antibiotiques [13]. La réduction de la pression antibiotique peut faire baisser la fréquence des infections à SARM [14], ainsi que le respect de certaines règles comme la rationalisation de l'antibiothérapie, le respect des règles individuelles et collectives d'hygiène [15].

V. CONCLUSION

La bactériémie est fréquente en milieu hospitalier et son évolution est généralement défavorable en l'absence d'un traitement antibiotique efficace. Nous avons constaté que, d'une part, seulement le quart des hémocultures était positif. Son importance est indéniable mais l'indication devrait être bien posée, tout en sachant éliminer les autres étiologies de la fièvre (paludisme fièvre grippale,...). L'habitude consistant à demander d'emblée une hémoculture chez tout patient fébrile pourrait être remise en question, ou en tout cas devrait être intégrée au contexte clinique plus global du patient. D'autre part, les entérobactéries occupaient le 1^{er} rang avant *Staphylococcus* et *Pseudomonas*. Ces entérobactéries représentaient un niveau de résistance très redoutable. Plus des trois quarts étaient résistants aux céphalosporines de troisième génération et à la ciprofloxacine. Toutes étaient résistantes aux aminopénicillines et à l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique. Aucune souche sauvage n'a été trouvée. La production des céphalosporinases dérégulées ou celle des BLSE ne font qu'empirer l'évolution clinique des patients. Heureusement l'imipénème reste encore sensible.

REFERENCES

- [1] Taniguchia T, Tsuha S, Shiiki S, Narita M. High positivity of blood cultures obtained within two hours after shaking chills. *Int J Infect Dis* 2018 ; 76 : 23-28.
- [2] Søgaard M, Nørgaard M, Pedersen L, Sørensen H, Schønheyder HC. Blood culture status and mortality among patients with suspected community-acquired bacteremia: a population-based cohort study. *BMC Infect Dis* 2014; 11: 139.
- [3] Sangare SA, Maiga AI, Dicko-Traore F, Traore B, Sylla MB, Sylla M et al. Evaluation du test de dépistage de *Streptococcus pneumoniae* Binax NOW® ICT à partir des hémocultures réalisées chez les enfants atteints d'infections bactériennes invasives à Bamako au Mali. *Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie* 2014;3:38-47.
- [4] Karlowsky JA, Jones ME, Draghi DC, Thornsberry C, Sahm DF, Volturo GA. Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2004;3:1-8.
- [5] Kettani A, Zerouali K, Diawara I, Ouhadous M, Harrar N, Belabbes H et al. Les bactériémies associées aux soins en réanimation au centre hospitalier universitaire Ibn Rochd, casablanca, Maroc. *Santé publique* 2017;29;p 209-213.
- [6] Kim SD, McDonald LC, Jarvis WR, McAllister SK, Jerris R, Carson LA et al. Determining the significance of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures at a community hospital: a role for species and strain identification. *Infect Control Hosp Epidemiol* : 2010;21(3):213-7.
- [7] Elouennass M, Sahnoun I, Zrara A, Bajjou T, Elhamzaoui S. Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002–2005). *Médecine et Maladies Infectieuses* 2008;38(1);p:18-24.
- [8] Richter SS, Beekmann SE, Croco JL, Diekema DJ, Koontz FP, Pfaller MA, Doern GV. Minimizing the workup of blood culture contaminants: implementation and evaluation of a laboratory-based algorithm. *J Clin Microbiol* 2002;40:2437-44.
- [9] Miller LG, Diep BA. Clinical practice : colonization, fomites, and virulence : rethinking the pathogenesis of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis*. 2008;46:752-60.
- [10] El Bakkouri J, Belabbes H, Zerouali H, Belaiche A, Messaoudi D, Claude G et al. Résistance aux antibiotiques d'*Escherichia coli* uropathogène communautaire et consommation d'antibiotiques à casablanca (Maroc). *Eur J of scires*. 2009; 36 (1): 49-55.
- [11] El Bouamri C, Arsalane L, El Kamouni Y, Zouhair S. Antimicrobial susceptibility of urinary *Klebsiella pneumoniae* and the emergence of carbapenem-resistant strains: a retrospective study from a university hospital in Morocco, North Africa. *African Journal of urology* 2014; 21: 36-40.
- [12] Diallo K, Kern W, De With K, Luc A, Thilly N, Pulcini C. Gestion des bactériémies et fongémies par des

infectiologues en France et en Allemagne. *Méd Mal Infect* 2018 ; 48 (4) : S60.

- [13] Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet* 2005; 365: 579-87.
- [14] Landman D, Chockalingam M, Quale JM. Reduction in the incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* following changes in a hospital antibiotic formulary. *Clin Infect Dis* 2009; 28: 1062-6.
- [15] Dziekan G, Hahn A, Thune K, Schwarzer G, Schafer K, Daschner FD et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a teaching hospital: investigation of nosocomial transmission using a matched case-control study. *J Hosp Infect* 2010; 46: 263-70.