

Identification Des Staphylocoques Au Laboratoire De l'Hôpital Universitaire De Befelatanana A Antananarivo Madagascar

Zafindrasoa Domoina Rakotovao-Ravahatra¹, Tojoniaina Herinjaka Andriamandimbisoa²,
Joely Nirina Rakotovao-Ravahatra³, Andry Maharo Andrianarivelo⁴, Fidiniaina Mamy Randriatsarafara⁵,
Lala Rasoamialy-Soa Razanakolona⁶, Andriamiadana Luc Rakotovao⁷

¹Médecin Biologiste

Département de Biologie, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
ravahatradomoina@yahoo.fr

²Médecin biologiste

Département de Biologie, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
njaka.tojoniaina@gmail.com

³Enseignant chercheur

Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques
Université d'Antananarivo, Madagascar
rjoelynirina@yahoo.fr

⁴Professeur agrégé en Bactériologie-Virologie

Département de Biologie, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
andrimaharo@gmail.com

⁵Professeur agrégé en Médecine Préventive

Département de Santé Publique, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
fidyrfm@yahoo.fr

⁶Professeur titulaire en parasitologie

Département de Biologie, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
soamialyrazanakolona@yahoo.fr

⁷Professeur titulaire en Hématologie Biologique

Département de Biologie, Faculté de Médecine
Université d'Antananarivo, Madagascar
lucdina007@yahoo.fr

Auteur correspondant : Zafindrasoa Domoina Rakotovao-Ravahatra. E-mail: ravahatradomoina@yahoo.fr



Résumé: Les staphylocoques sont des germes pathogènes très fréquents dans la communauté et en milieu hospitalier. Les objectifs de la présente étude consiste à donner la distribution des staphylocoques dans les infections humaines et à comparer le test d'agglutination et le test Baird-Parker pour l'identification des staphylocoques au laboratoire. Il s'agit d'une étude prospective de 70 souches de staphylocoques sur une période de six mois allant du mois de Janvier 2024 au mois de Juin 2024 au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Joseph Raseta Befelatanana à Antananarivo Madagascar. Parmi les 70 souches de staphylocoques, 30 (42,8%) ont été identifiés dans les prélèvements d'urine et 15 (21,4%) dans les prélèvements de sang pour hémoculture. 47 (67,1%) souches étaient représentées par l'espèce *Staphylococcus aureus*. En ce qui concerne les performances du test d'agglutination, il a une sensibilité de 95,7%, une spécificité de 100%, une valeur prédictive positive de 100% et une valeur prédictive négative de 92%. En bref, le test d'agglutination est un test fiable pour l'identification des isolats de staphylocoques.

Mots-clés : agglutination ; identification ; staphylocoque.

Abstract Staphylococci are very common pathogens in the community and in hospitals. The objectives of the present study are to describe the distribution of staphylococci in human infections and to compare the agglutination test and the Baird-Parker test for the identification of staphylococci in laboratory. This is a prospective study of 70 strains of staphylococci over a period of six months from January 2024 to June 2024 in the laboratory of the Joseph Raseta Befelatanana University Hospital Center in Antananarivo Madagascar. Among the 70 strains of staphylococci, 30 (42.8%) were identified in urine samples and 15 (21.4%) in blood samples for blood culture. 47 (67.1%) strains were represented by the species *Staphylococcus aureus*. Regarding the performance of the agglutination test, it has a sensitivity of 95.7%, specificity of 100%, positive predictive value of 100% and negative predictive value of 92%. In summary, the agglutination test is a reliable test for the identification of staphylococcal isolates.

Keywords: agglutination; identification; staphylococci.

I. INTRODUCTION

Les staphylocoques, et en particulier *Staphylococcus aureus*, sont des bactéries qui provoquent une grande variété d'infections chez divers hôtes [1]. Le terme staphylocoque, généralement utilisé pour toutes les espèces, fait référence à l'habitude des cellules de s'agréger en grappes ressemblant à des grappes de raisin. Ils sont observés dans de multiples situations cliniques, dans les infections communautaires et les infections nosocomiales [2-3]. Le laboratoire de biologie médicale joue un rôle très important dans le diagnostic des infections, en particulier des infections bactériennes. En effet, le laboratoire met en évidence l'agent infectieux et peut déterminer sa sensibilité aux antibiotiques. Il existe plusieurs méthodes pour identifier les souches de *Staphylococcus aureus* au laboratoire. Dans la présente étude, nous avons comparé le test d'agglutination au test de référence. Et si ce test est fiable, nous pouvons l'utiliser quotidiennement car le test d'agglutination est moins onéreux et facile à utiliser par rapport au test de référence.

Ainsi, les objectifs de la présente étude consiste à donner la distribution des staphylocoques dans les infections humaines et de comparer le test d'agglutination et le test Baird-Parker pour l'identification des staphylocoques au laboratoire.

II. MATERIELS ET METHODES

A. Cadre, type et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective de 70 isolats de staphylocoques sur une période de six mois du mois de Janvier au mois de Juin 2024 au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Joseph Raseta Befelatanana.

B. Analyse au laboratoire

Du mois de Janvier au mois de Juin 2024, les isolats de staphylocoques qui ont été identifiés dans différents types de prélèvements (urine, sang, selles, liquides biologiques, pus...) ont été souchés dans des milieux de conservation de marque Biorad®. L'identification d'espèce n'a pas été encore faite à ce stade mais seulement l'identification de genre (colonies blanchâtres ou jaunâtres sur milieu chromogène de marque UTIC®, cocci à Gram positif en amas, catalase positive).

Vers la fin du mois de Juin, les 70 souches de staphylocoques conservées ont été ensuite reensemencées dans des milieux de culture chromogène de marque UTIC® puis identifiées simultanément en utilisant deux tests (Baird-Parker et agglutination au latex). Le milieu de culture Baird-Parker est le test de référence [4-7] et le test d'agglutination Staphytest Plus® est le test à évaluer.

C. Paramètres d'étude

Les paramètres de l'étude ont été représentés par les types d'échantillons, les espèces de staphylocoques souchées, le test de Baird-Parker, le test d'agglutination et les résultats des tests de performance.

D. Considérations éthiques

L'autorisation de cette étude par un comité d'éthique n'était pas nécessaire car nous avons analysé des souches de bactéries. Néanmoins, l'autorisation du directeur de l'établissement a été obtenue avant que les données ne soient analysées. De même, les analyses au laboratoire et la saisie ont été effectuées de manière anonyme pour préserver la confidentialité.

E. Analyse des données

La saisie et le traitement des données ont été effectués sur le fichier excel. Les mesures de la performance intrinsèque du test d'agglutination ont fait appel aux paramètres suivants [8] :

Sensibilité = $\frac{\text{vrai positif}}{\text{vrai positif} + \text{faux négatif}}$

Spécificité = $\frac{\text{vrai négatif}}{\text{vrai négatif} + \text{faux positif}}$

Valeur prédictive positive = $\frac{\text{vrais positifs}}{\text{tous les résultats positifs}}$

Valeur prédictive négative = $\frac{\text{vrais négatifs}}{\text{tous les résultats négatifs}}$

III. RESULTATS

Parmi les 70 souches de staphylocoques, 30 (42,8%) ont été identifiés dans les prélèvements d'urine et 15 (21,4%) dans les prélèvements de sang pour hémoculture (figure 1).

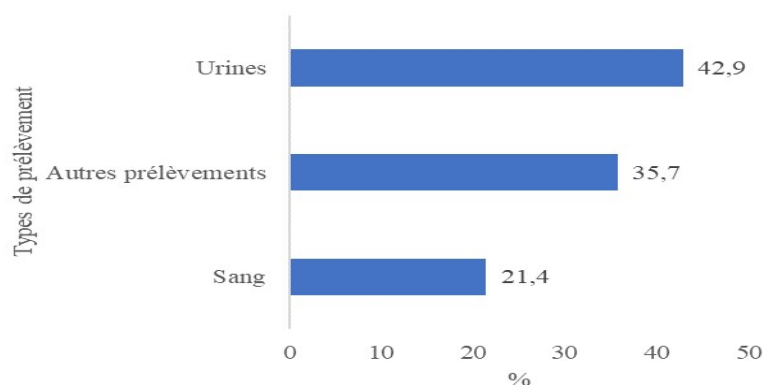


Figure 1 : Répartition des prélèvements ayant permis d'obtenir les souches de staphylocoques

47 (67,1%) souches étaient représentées par l'espèce *Staphylococcus aureus* selon le test Baird-Parker qui est le test de référence. Par contre, le test d'agglutination n'a identifié que 45 (64,2%) espèces de *Staphylococcus aureus* (tableau 1).

Tableau 1 : Espèces de staphylocoques identifiées par le test Baird-Parker et le test d'agglutination

Germe identifiés	Baird-Parker		Test d'agglutination	
	n	%	n	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	47	67,1	45	64,3
Staphylocoques à coagulase négative	23	32,9	25	35,7
Total	70	100	70	100

Le tableau 2 montre la répartition des vrais positifs, vrais négatifs, faux positifs et faux négatifs.

Tableau 2 : Répartition des vrais positifs, vrais négatifs, faux positifs et faux négatifs.

	VRAIS	FAUX
POSITIFS	47	0
NEGATIFS	23	2

Ainsi, les mesures des performances intrinsèques du test d'agglutination ont trouvé une sensibilité de 95,7%, une spécificité de 100%, une valeur prédictive positive de 100% et une valeur prédictive négative de 92% (tableau 3).

Tableau 3 : Mesures des performances intrinsèques du test d'agglutination

Performance	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
Test d'agglutination	95,70%	100%	100%	92%

IV. DISCUSSION

Dans la présente étude, les prélèvements urinaires et les prélèvements de sang pour hémoculture ont été les nombreux à présenter des infections à Staphylocoques. En effet, les infections urinaires à staphylocoques sont très fréquentes en milieu

hospitalier, surtout en cas d'alitement prolongé et de port de sonde urinaire à demeure [9-10]. De même, les bactériémies à staphylocoques sont également très fréquentes, dues essentiellement aux staphylocoques nosocomiaux [11]. Ces infections à staphylocoques sont très graves lorsqu'il s'agit de germes multirésistants comme les espèces de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM). L'infection à SARM reste un problème de santé publique mondial majeur. La bactériémie à *Staphylococcus aureus* est préoccupante, car elle présente des taux élevés de morbidité et de mortalité et peut provoquer des infections métastatiques ou compliquées telles qu'une endocardite infectieuse ou une septicémie. Le SARM est responsable de la plupart des cas de bactériémie à *Staphylococcus aureus* dans le monde et, par rapport au *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline (SASM), l'infection à SARM est associée à de moins bons résultats cliniques [12].

Dans la présente étude, plus de la moitié des souches ont été représentées par l'espèce *Staphylococcus aureus*. Ainsi, pour éviter l'émergence des germes multirésistants, il faut sensibiliser les médecins à éviter les traitements empiriques des maladies infectieuses mais demander tout d'abord un examen cytotactériologique avec antibiogramme en cas de suspicion d'infection bactérienne. De même, il est important de sensibiliser la population à ne pas pratiquer l'automédication, qui favorise l'émergence de la résistance des germes aux antibiotiques en rapport à la pression de sélection occasionnée par l'utilisation fréquente des antibiotiques [13].

Dans la présente étude, la comparaison du test d'agglutination par rapport au test de Baird-Parker pour l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* a montré une spécificité de 100 % et une VPP de 100 %. Ainsi, il n'y a jamais de faux positif dans l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* lorsque nous utilisons le test d'agglutination. D'autre part, le test d'agglutination n'est pas sensible à 100% et la valeur prédictive négative est abaissée. En effet, lorsque la colonie bactérienne est mélangée avec le réactif d'agglutination, l'agglutination ne pourrait pas apparaître car la colonie de *Staphylococcus aureus* peut être mélangée avec d'autres colonies bactériennes d'espèces différentes. Cette situation peut expliquer la sensibilité réduite du test d'agglutination donnant des faux négatifs. De plus, les agglutinations peuvent être très petites et non visibles à l'œil nu, ce qui donne un résultat faussement négatif.

Comme suggestion, le technicien doit faire très attention lorsqu'il prélève une colonie de staphylocoque dans la boîte de Pétri pour éviter de mélanger cette colonie avec d'autres colonies d'espèces différentes. Si les colonies se chevauchent, la colonie de staphylocoques doit être isolée à nouveau sur un milieu de culture chromogène et incubée pendant 24 heures à 37°C. Après 24 heures, il est très facile d'avoir une colonie de staphylocoques bien isolée donnant un bon résultat de test d'agglutination. De même, le technicien doit observer l'agglutination dans un endroit bien éclairé ou utiliser une lampe pour améliorer la vision. En suivant ces recommandations, le test d'agglutination peut bien remplacer le test de Baird-Parker. De plus, le test d'agglutination ne nécessite que 20 secondes contre 24 heures pour le test Baird-Parker. Cette rapidité du test d'agglutination permet de réaliser rapidement l'antibiogramme et de traiter le patient rapidement. Ainsi, la prise en charge du patient sera améliorée.

V. CONCLUSION

La présente étude a montré que les staphylocoques sont fréquemment responsables d'infections urinaires et de bactériémies. Les infections nosocomiales sont très fréquentes surtout si la durée d'hospitalisation est prolongée et si le patient porte une sonde urinaire. Ainsi, il est très important de sensibiliser les médecins et la population sur le bon usage des antibiotiques pour éviter l'émergence des souches multi-résistantes. Par ailleurs, la présente étude a aussi montré que le test d'agglutination peut remplacer le test de Baird-Parker pour l'identification de ces staphylocoques. Les souches de *Staphylococcus aureus* peuvent être facilement identifiées par le test d'agglutination à condition que les colonies bactériennes collectées soient pures et que l'observation de l'agglutination se fasse dans un endroit bien éclairé.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos sincères remerciements au Directeur d'Etablissement du CHUJRB pour nous avoir autorisé à réaliser la présente étude. Nous remercions également tous les techniciens de laboratoire du laboratoire du CHUJRB pour leur aide dans la réalisation des tests d'identification.

REFERENCES

- [1] Lindsay JA. Staphylococci : Evolving Genomes. Microbiol Spectr 2019; 7(6) :10. 1128/microbiolspec.gpp3-0071-2019. doi: 10.1128/microbiolspec .GPP3-0071-2019.
- [2] Britannica. Les rédacteurs de l'Encyclopédie. « staphylocoque ». Encyclopedia Britannica, 20 nov. 2017 disponible sur <https://www.britannica.com/science/Staphylococcus>. Consulté le 20 janvier 2022.
- [3] Zahlane K, Haouach K, Zouhdi M. Staphylocoques : état actuel de l'épidémiologie et de l'antibiorésistance au Centre Hospitalier Universitaire de Rabat. Maroc Médical 2007 ; 29: 279-85.
- [4] Pharmacopée européenne. Contrôle de la contamination microbienne dans les produits non stériles – Solution et milieux de culture recommandés. Conseil de l'Europe ; 2007.
- [5] La Pharmacopée des États-Unis (USP 31)-NF 26. Tests de limite microbienne. Convention de pharmacopée des États-Unis Inc. Rockville, MD. États-Unis ;2008.
- [6] ISO 6888-1 (V 08-014). Octobre 1999. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive. (Staphylococcus aureus et autres espèces). Partie 1 : Technique utilisant le milieu gélosé Baird-Parker ;1999.
- [7] ISO 22718. Septembre 2009. Cosmétique - Microbiologie - Détection de Staphylococcus aureus ;2009.
- [8] Agarwal AN, Dallas SD, Mais DD. Sensitivity and Specificity of a Novel Colony Characteristic for Determination of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Cureus 2022;14(6):e26040. doi: 10.7759/cureus.26040. PMID: 35865434; PMCID: PMC9293263.
- [9] Luzum M, Sebolt J, Chopra V. Catheter-Associated Urinary Tract Infection, Clostridioides difficile Colitis, Central Line-Associated Bloodstream Infection, and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Med Clin North Am 2020;104(4):663-679. doi: 10.1016/j.mcna.2020.02.004. Epub 2020 May 12. PMID: 32505259.
- [10] Muder RR, Brennen C, Rihs JD, Wagener MM, Obman A, Stout JE, Yu VL. Isolation of Staphylococcus aureus from the urinary tract: association of isolation with symptomatic urinary tract infection and subsequent staphylococcal bacteremia. Clin Infect Dis 2006;42(1):46-50. doi: 10.1086/498518. Epub 2005 Nov 23. PMID: 16323090.
- [11] Horino T, Hori S. Metastatic infection during Staphylococcus aureus bacteremia. J Infect Chemother 2020;26(2):162-169. doi: 10.1016/j.jiac.2019.10.003. Epub 2019 Oct 30. PMID: 31676266.
- [12] Hassoun A, Linden PK, Friedman B. Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment. Crit Care 2017;21(1):211. doi: 10.1186/s13054-017-1801-3. PMID: 28807042; PMCID: PMC5557425.
- [13] Randriatsarafara FM, Ralamboson J, Rakotoarivelo R, Raheinandrasana A, Andrianasolo R. Antibiotic consumption at Antananarivo University Hospital: prevalence and strategic challenges. Santé Publique 2015; 27: 249- 55.