



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2022

Thèse N°196

Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic des bactériémies

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 21 /06/2022

PAR

Mr. Mouad El HADARI

Né Le 22 Août 1996 à Safi

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES

Biologie moléculaire – Bactériémie – PCR Multiplex
FilmArray – Diagnostic.

JURY

Mme. L. ARSALANE

Professeur de Bactériologie–Virologie

PRESIDENTE

Mr. S. ZOUHAIR

Professeur de Bactériologie–Virologie

RAPPORTEUR

Mr. M. MILOUDI

Professeur de Bactériologie–Virologie.

JUGE

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"رب أوزعني أن أشكر نعمتك التي أنعمت عليّ وعلى والديّ وأن أعمل صالحاً ترضاه وأصلح لي في ذريّتي إني تبت إليك وإني من المسلمين"

صدق الله العظيم

سورة النمل

الآية 19



Serment d'Hippocrate

*Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale,
je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de
l'humanité.*

*Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur
sont dus.*

*Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de
mes malades sera mon premier but.*

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

*Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les
nobles traditions de la profession médicale.*

Les médecins seront mes frères.

*Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune
considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et
mon patient.*

*Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa
conception.*

*Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales
d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948





LISTE DES PROFESSEURS



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires : Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen : Pr Mohammed BOUSKRAOUI
Vice doyen à la Recherche et la coopération : Pr. Mohamed AMINE
Vice doyen aux affaires pédagogiques : Pr. Redouane EL FEZZAZI
Vice doyen chargé de la Pharmacie : Pr. Saïd ZOUHAIR
Secrétaire Général : Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato-orthopédie	ELOMRANI Abdelhamid	Radiothérapie
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anésthésie-réanimation	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie-obstétrique	FAKHIR Bouchra	Gynécologie-obstétrique
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	FAKHRI Anass	Histologie-embryologie cytogénétique
ADALI Imane	Psychiatrie	FOURAJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ADMOU Brahim	Immunologie	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie

AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	GHOUNDALE Omar	Urologie
AISSAOUI Younes	Anesthésie- réanimation	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie	HAJJI Ibtissam	Ophthalmologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	HAROU Karam	Gynécologie-obstétrique
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie- obstétrique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT SAB Imane	Pédiatrie	JALAL Hicham	Radiologie
ALJ Soumaya	Radiologie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique
AMAL Said	Dermatologie	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie-réanimation
AMINE Mohamed	Epidemiologie clinique	KHATOURI Ali	Cardiologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino- laryngologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	KISSANI Najib	Neurologie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KRATI Khadija	Gastro-entérologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie- virologie	KRIET Mohamed	Ophthalmologie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LAKMICH Mohamed Amine	Urologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et chirurgie maxillofaciale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique	LOUHAB Nissrine	Neurologie
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie générale

BELKHOU Ahlam	Rhumatologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato-orthopédie
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chirurgie maxillofaciale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie
BENELKHAÏAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie générale	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENHIMA Mohamed Amine	Traumato-orthopédie	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie-réanimation
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo-phtisiologie	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUFID Kamal	Urologie
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo-phtisiologie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophthalmologie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie-obstétrique	MSOUGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie-chimie	NAJEB Youssef	Traumato-orthopédie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio-vasculaire	NARJIS Youssef	Chirurgie générale
BOURRAHOUE Aïcha	Pédiatrie	NEJMI Hicham	Anesthésie-réanimation
BOURROUS Monir	Pédiatrie	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
BSISS Mohammed Aziz	Biophysique	OUBAHA Sofia	Physiologie
CHAFIK Rachid	Traumato-orthopédie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAKOUR Mohammed	Hématologie	QACIF Hassan	Médecine interne
CHELLAK Laila	Biochimie-chimie	QAMOUISS Youssef	Anesthésie-réanimation

CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RADA Noureddine	Pédiatrie
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
DAROUASSI Youssef	Oto-rhino- laryngologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino- laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino- laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anésthésie- réanimation	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anésthésie-réanimation
ELAMRANI Moulay Driss	Anatomie	SAMLANI Zouhour	Gastro-entérologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SARF Ismail	Urologie
EL BARNI Rachid	Chirurgie générale	SORAA Nabila	Microbiologie-virologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie-obstétrique
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	TAZI Mohamed Illias	Hématologie clinique
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	YOUNOUS Said	Anésthésie-réanimation
EL HAOURY Hanane	Traumato- orthopédie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie-virologie
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZIADI Amra	Anésthésie-réanimation
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZOUHAIR Said	Microbiologie

EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZYANI Mohammad	Médecine interne
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDOU Abdessamad	Chirurgie Cardio- vasculaire	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie-embryologie- cytogénétique
ABIR Badreddine	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	JANAH Hicham	Pneumo-phtisiologie
ADARMOUCH Latifa	Médecine communautaire (Médecine préventive, santé publique et hygiène)	KADDOURI Said	Médecine interne
AIT BATAHAR Salma	Pneumo-phtisiologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ALAOUI Hassan	Anesthésie-réanimation	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ALJALIL Abdelfattah	Oto-rhino-laryngologie	MARGAD Omar	Traumato-orthopédie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	MESSAOUDI Redouane	Ophtalmologie
ARSALANE Adil	Chirurgie thoracique	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-rhino-laryngologie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BELBACHIR Anass	Anatomie pathologique	NADER Youssef	Traumato-orthopédie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie-réanimation	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie réparatrice et plastique

BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	RHARRASSI Issam	Anatomie pathologique
CHRAA Mohamed	Physiologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio- vasculaire	SEDDIKI Rachid	Anésthésie-réanimation
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie-virologie	SERGHINI Issam	Anésthésie-réanimation
EL MEZOUARI El Mostafa	Parasitologie-mycologie	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
ESSADI Ismail	Oncologie médicale	ZARROUKI Youssef	Anésthésie-réanimation
GHAZI Mirieme	Rhumatologie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie thoracique
HAMMOUNE Nabil	Radiologie		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
AABBASSI Bouchra	Psychiatrie	EL JADI Hamza	Endocrinologie et maladies métaboliques
ABALLA Najoua	Chirurgie pédiatrique	EL-QADIRY Rabiyy	Pédiatrie
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et réhabilitation fonctionnelle	FASSI FIGHRI Mohamed jawad	Chirurgie générale
ABOUDOURIB Maryem	Dermatologie	FDIL Naima	Chimie de coordination bio-organique
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	FENANE Hicham	Chirurgie thoracique
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	GEBRATI Lhoucine	Chimie physique
AHBALA Tariq	Chirurgie générale	HAIJHOUI Farouk	Neurochirurgie
AIT ERRAMI Adil	Gastro-entérologie	HAIJI Fouad	Urologie
AKKA Rachid	Gastro-entérologie	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
AMINE Abdellah	Cardiologie	HAZIME Raja	Immunologie
ARROB Adil	Chirurgie réparatrice et plastique	IDALENE Malika	Maladies infectieuses

AZAMI Mohamed Amine	Anatomie pathologique	KHALLIKANE Said	Anesthésie-réanimation
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	LACHHAB Zineb	Pharmacognosie
AZIZI Mounia	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	LAHMINE Widad	Pédiatrie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAMRANI HANCI Asmae	Microbiologie- virologie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	JALLAL Hamid	Cardiologie
BELGHMAIDI Sarah	Ophthalmologie	MAOUJOUR Omar	Néphrologie
BELLASRI Salah	Radiologie	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BENAMEUR Yassir	Médecine nucléaire	MILOUDI Mouhcine	Microbiologie-virologie
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	MOUGUI Ahmed	Rhumatologie
BENCHAFAI Ilias	Oto- rhino- laryngologie	MOULINE Souhail	Microbiologie-virologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	NASSIH Houda	Pédiatrie
BENYASS Youssef	Traumatologie-orthopédie	OUEIRAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
BENZALIM Meriam	Radiologie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
BOUHAMIDI Ahmed	Dermatologie	RAGGABI Amine	Neurologie
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	REBAHI Houssam	Anesthésie-réanimation
CHEGGOUR Mouna	Biochimie	RHEZALI Manal	Anesthésie-réanimation
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	ROUKHSI Redouane	Radiologie
CHETTATI Mariam	Néphrologie	SAHRAOUI Houssam Eddine	Anesthésie-réanimation
DAMI Abdallah	Médecine légale	SALLAHI Hicham	Traumatologie- orthopédie

DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	SAYAGH Sanae	Hématologie
DOUIREK Fouzia	Anesthésie réanimation	SBAAI Mohammed	Parasitologie–mycologie
DOULHOUSNE Hassan	Radiologie	SBAI Asma	Informatique
EL-AKHIRI Mohammed	Oto– rhino– laryngologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (Médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL AMIRI Moulay Ahmed	Chimie de coordination bio–organique	SIRBOU Rachid	Médecine d’urgence et de catastrophe
ELATIQUI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	SLIOUI Badr	Radiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	WARDA Karima	Microbiologie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	YAHYAOUI Hicham	Hématologie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	YANISSE Siham	Pharmacie galénique
EL GAMRANI Younes	Gastro–entérologie	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie–mycologie	ZIRAOUI Oualid	Chimie thérapeutique
ELJAMILI Mohammed	Cardiologie	ZOUIA Btissam	Radiologie
EL KHASSOUI Amine	Chirurgie pédiatrique	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio–vasculaire
ELOUARDI Youssef	Anesthésie–réanimation		

LISTE ARRETEE LE 03/03/2022



DÉDICACES

Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif.



***C'est avec amour, respect et gratitude que
je dédier cette thèse***

*A la mémoire de mon frère EL Mehdi EL HADARI,
que son âme repose en paix*

Wish you were here brother ...

A mon père Ahmed EL HADARI,

*Merci pour ton soutien tout au long de ce parcours qui n'a pas
toujours été évident.*

*Merci pour votre amour et votre éternelle confiance en moi ;
sans vous, je n'en serais pas là aujourd'hui.*

Je t'aime

À ma mère Aïcha LAMTAIB,

*Aucune dédicace ne pourrait exprimer l'affection et l'amour
que je te porte. Tes sacrifices innombrables et ton dévouement
furent pour moi la plus grande des motivations. Merci de
m'avoir inculqué les belles valeurs de la vie.*

*Merci maman de te soucier autant de mon bonheur et de mon
bien être, ça toujours été ta priorité.*

Merci d'avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui.

Je t'aime

À ma deuxième maman Touria EL HADARI,

*Tu n'as pas cessé de me soutenir et m'encourager durant toutes
les années de mes études.*

*Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste
valeur, ton sacrifice et tes efforts.*

Je t'aime

A mon grand-père Ahmed LAMTAIB,

*Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par ta
droiture, ta persévérance et ta rigueur.*

*Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme
et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.*

Je t'aime Ba Bachtawí

À ma sœur Hafsa EL HADARI

*Pour l'affection qui nous lie, pour l'intérêt que vous portez à ma
vie, pour votre soutien, votre compréhension et vos
encouragements. Je t'aime*

A mes cher(e)s ami(e)s :

*Ahmed GORAANI, Zakaria EL HACHIMI, Ayoub
ABOUBAIGI, Hamza ABOUBAIGI, Soufiane LAHBOUKI,
Anas SAKHI, Meryem AHRA, Saad MAZOUNI, Loubna
EL MORCHID, Hicham FARESS, ALMASHHAQBEH
Mohammed, Azzedine ACHEROUANI, Achraf ZMAGRI,
Taha EL BEZZI, Zika, Nousseir EL GHALIBI, Yassine EL
ADLI, Yassine ESSABRI, Anas EL MEZAH, Salah EL
KADDOURI, Hamza BELKABEYR, Ismaíl
BOUIZAKARNE.*

*Je vous remercie de me supporter malgré mes défauts. Merci
pour votre constant soutien. Merci de m'épauler dans mes
moments de doute. Merci de m'accompagner dans les bons mais
aussi les moments les plus douloureux. Merci de faire partie de
ma vie. Je vous aime.*

A toute la famille EL HADARI :

*A tous mes oncles et ma tante : Nafissa, Fayrouz, Fatima,
Habiba,*

*Mhammed, Simohammed et tou(te)s les cousin(e)s. je vous dédie
ce travail*

*A toute la famille LAMTAIB : Abdelhak, Khalid, Hassan et
tou(te)s les petit(e)s cousin(e)s. je vous dédie ce travail*

*A toute la famille EL OURACHI : Mehdi, Smail, Fettah,
Hamza et leurs familles*

*A toute la famille Lost souls : Achraf OUKACHA, Smail
DHAIBA, Soufiane LAKHIOUI.*

*Aux techniciens et à tout le personnel du Laboratoire de
l'hôpital Militaire Avicenne de Marrakech
et en particulier M. Taoufiq Focouss*

*A toute personne qui a contribué à la réalisation de ce
travail...*

À tous mes enseignants tout au long de mes études.

*À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la
réalisation de ce travail.*

*À tous ceux qui ont cette pénible tâche de soulager les gens
et diminuer leurs souffrances.*

Enfin à tous ceux que j'ai omis involontairement de citer...



REMERCIEMENTS



A Notre Maître et Présidente de Jury :

Professeur Lamiae ARSALANE :

Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider notre jury. Nous avons eu la chance et le privilège de travailler sous votre direction, de profiter de votre culture scientifique, vos compétences professionnelles incontestables ainsi que vos qualités humaines qui vous valent l'admiration et le respect.

Veillez accepter, chère Maître, mes vifs remerciements et l'expression d'une infinie reconnaissance.

A Notre Maître et Rapporteur :

Professeur Saïd ZOULAIR

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de me confier ce travail.

Je vous remercie vivement d'avoir dirigé ce travail sans ne jamais épargner aucun effort pour me guider dans le chemin sinueux de la recherche. Je serais toujours reconnaissant pour votre grande disponibilité, votre simplicité et votre patience. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance, de mon profond respect et de ma vive gratitude.

A notre Maître et jury de thèse :

Professeur Mouhcine MILOUDI

C'est un grand honneur pour nous que vous ayez accepté de siéger parmi notre honorable jury. Votre gentillesse et votre disponibilité ont toujours suscité mon admiration. Veuillez trouver dans ce travail, cher Maître, l'expression de mon estime et de ma considération..



ABBREVIATIONS



Liste des abréviations

AC. CLAV.	: Acide Clavulanique
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ATB	: Antibiotique
ARDS	: Détresse respiratoire aigüe
ARN	: Acide ribonucléique
BGN	: Bacille gram négatif
BCID	: Blood culture identification
BLSE	: Bêtalactamases à spectre élargi
C°	: Degré Celsius
CA-SFM	: Comité de l'antibiogramme de la Société Française de microbiologie
CAZ	: Ceftazidime
CD	: Cluster de différenciation
CGP	: Cocci gram positif
CHU	: Centre hospitalier universitaire
CINQ	: Comité sur les infections nosocomiales du Québec
CLED	: Cystine Lactose Electrolyte Déficient
CMH	: Complexe majeur d'histocompatibilité
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
CO2	: Dioxyde de carbone
CTX	: Céfotaxime
C2G	: Céphalosporines de 2 ^{ème} génération
C3G	: Céphalosporines de 3 ^{ème} génération
DIC	: Coagulation intravasculaire disséminée
DIV	: Dispositif intra-vasculaire
EARS-Net	: Réseau européen de surveillance de la Bêtalactamases à spectre élargi
EPC	: Entérobactéries productrices de carbapénémases
FOXP3	: Forkhead box P3

H	: Heure
HMIMV	: Hôpital militaire des instructions Mohamed V
H2	: Dihydrogène
IL	: Interleukine
INR	: International Normalized Ratio
KG	: Kilogramme
L	: Litre
LBP	: Protéine de liaison au lipopolysaccharide
LED	: Light Emitting Diode
LPS	: Lipopolysaccharide
Mg	: Milligramme
MIN	: Minute
ML	: Millilitre
MLS	: Macrolides Lincosamides Streptogramines
MM	: Millimètre
MMHG	: Millimètre de mercure
MODS	: Défaillance multi-viscérale
N	: Nombre
NF B	: Facteur Nucléaire kappa B
N2	: Azote
PAM	: Pression artérielle moyenne
PAS	: Pression artérielle systolique
PCR	: Réaction en chaîne par polymérase
PCT	: Procalcitonine
PLP	: Protéines liant les pénicillines
PNN	: Polynucléaires neutrophiles
RV	: Rapport de vraisemblance

SI	: Séquence d'insertion
SOFA	: Sepsis Organ Failure Assessment
SP	: Species plurimae
SPS	: Polyanétholsulfonate de sodium
SRIS	: Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique
TLR	: Récepteur de type Toll
TNF	: Facteur de nécrose tumorale
TSS	: Syndrome de choc toxique
UFC	: Unité faisant colonie



PLAN



INTRODCTION	01
MATERIELS ET METHODES	04
I. Matériels	05
1. Présentation de l'étude	05
2. Objectifs de l'étude	05
3. Critères d'inclusion	05
4. Critères d'exclusion	05
5. Recueil des données	06
6. Outils statistiques	06
II. Méthodes : Analyse par PCR des hémocultures	07
1. Phase pré-analytique	09
2. Phase analytique	10
3. Préparation	15
4. Principe	18
RESULTATS	23
I. Caractéristiques épidémiologiques des bactériémies	24
1. Répartition selon les services demandeurs	24
2. Répartition selon le sexe	25
3. Fréquence selon les années	25
II. Evaluation des performances diagnostiques du Panel FilmArray® BCID	26
1. Taux de positivité total	26
2. Détection de co-infections	27
3. Totalité des pathogènes détectés	27
4. Répartition selon les germes en cause des bactériemie	29
III. Pathogènes détectés par culture	31
1. Taux de positivité total	31
2. Résultats de l'antibiogramme	32
3. Comparaison et concordance avec Le panel FilmArray® BCID	33
IV. Utilisation du panel FilmArray BCID sur des prélèvements testés négatifs par la culture conventionnelle	34
V. Délai de rendu des résultats	34
VI. Impact sur le cout de prise en charge	35

DISCUSSION	36
I. Définitions	37
1. Bactériémies physiologiques	38
2. Sepsis	40
3. Choc septique	45
II. Physiopathologie	46
III. Diagnostic positif	49
1. Anamnèse	49
2. Clinique	50
3. Paraclinique	52
4. Intérêt de la biologie moléculaire	63
IV. Traitement	64
1. But	64
2. Moyens	64
3. Indications	66
Discussion de nos résultats	68
I. Apport de la plateforme FilmArray dans le diagnostic des bactériémies	69
II. Épidémiologie	71
1. Sexe	71
2. Services demandeurs	72
III. Évaluation des performances diagnostiques du Le panel FilmArray® BCID	73
1. Taux de positivité	73
2. Co-détections	73
3. Détection de pathogènes	74
4. Bactéries	75
IV. Concordance du test Filmarray BCID avec les autres méthodes	78
V. Impact sur la prise en charge clinique	78
VI. Limites	81
CONCLUSION	83
RESUMES	86
BIBLIOGRAPHIE	93



INTRODUCTION



Les bactériémies constituent des fardeaux sanitaires et financiers majeurs dans le monde (1). Aux États-Unis, les taux d'hospitalisation incluant les codes de diagnostic de la septicémie ou de la septicémie grave ont doublé entre 2000 et 2008 (2, 3). Alors que le traitement est compliqué par l'augmentation continue de la résistance aux antibiotiques (4).

Cependant, la clinique permet rarement de distinguer avec précision les multiples étiologies bactériennes au cours des bactériémies parce qu'il n'y a pas de symptôme clinique propre à chaque agent pathogène.

L'identification précoce des agents pathogènes responsables de bactériémies s'avère alors d'une importance capitale pour permettre une thérapie rapide, adaptée et efficace afin de réduire la morbidité et la mortalité associées.

Les cultures microbiologiques ont longtemps été reconnues comme la méthode de référence pour diagnostiquer les causes bactériennes, mais ont posé un dilemme diagnostique en raison de leur rendement relativement faible lié aux conditions de stockage et de transport sous-optimales, de la pratique de la culture et / ou du traitement antibiotique administré avant que le spécimen ne soit recueilli d'une part, et de leur temps d'exécution prolongé d'autre part; d'où le besoin de développement de nouvelles démarches diagnostiques répondant aux besoins et attentes des cliniciens.

De plus, le diagnostic des maladies infectieuses était très compartimenté : bactériologie, virologie, parasitologie et mycologie. Les progrès en biologie moléculaire ont permis de réunir l'ensemble de ces disciplines en un minimum d'analyses, il en a découlé une nouvelle notion : l'approche syndromique qui consiste en la recherche simultanée des micro-organismes les plus fréquemment responsables d'une infection qui cause un syndrome. On a identifié différents syndromes pour lesquels des panels ont été constitués, permettant de détecter plusieurs micro-organismes simultanément.

Dans notre contexte, le Panel FilmArray® BCID dédié à la bactériémie est un dispositif totalement automatisé de diagnostic in vitro destiné à la détection de cibles d'acides nucléiques

Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic des bactériémies

multiplés contenues dans le sang pour une variété de pathogènes notamment les bactéries, les virus et levures. L'analyse est réalisée sans intervention manuelle dans des cassettes de réactifs spécifiques prêtes à l'emploi.



MATÉRIELS ET MÉTHODES



I. Matériels :

1. Présentation de l'étude :

Il s'agit d'une étude retrospective à visée descriptive, réalisée sur prélèvements sanguins provenant des patients cliniquement suspects d'une bactériémie, traités au sein du laboratoire de microbiologie- virologie et de biologie moléculaire à l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech.

Ce travail est étalé sur une période de Janvier 2020 à Mars 2022.

2. Objectifs de l'étude :

2.1. Objectif principal

Evaluer l'apport du panel BCID FilmArray dans le diagnostic des bactériémies.

2.2. Objectifs secondaires

- Décrire l'aspect épidémiologique des bactériémies durant la période du travail.
- Illustrer les limites du panel BCID FilmArray.

3. Critères d'inclusion :

Les critères d'inclusion de notre étude sont les suivants :

Tous les patients cliniquement suspects de bactériémie ou choc septique, ayant bénéficié d'une étude bactériologique classique ET d'un test PCR FilmArray BCID du sang au sein du service de microbiologie- virologie et de biologie moléculaire de l'hôpital Avicenne de Marrakech durant la période de l'étude.

4. Critères d'exclusion :

Sont exclus de l'étude :

- Les prélèvements redondants.
- Les résultats FilmArray invalides.

5. Recueil des données :

Le recueil des données a été réalisé à partir des fiches de résultats de la PCR FilmArray BCID Enregistrées sur le logiciel FilmArray de l'automate et des résultats de la cytologie et la culture du sang enregistrés sur la base de données informatique du service de bactériologie des patients inclus dans l'étude.

Les données étaient recueillies sur une fiche d'exploitation réalisée à cet effet comportant les données suivantes :

- Identité du patient
 - Nom et prénom
 - Sexe
- Année de l'étude du prélèvement
- Service demandeur
- Analyse cytologique du sang
- Résultats de la culture du sang
 - Négative
 - Positive : à quel germe
- Résultats de la PCR multiplex (FilmArray)
 - Négative
 - Positive : à quel germe

6. Outils statistiques :

La saisie des textes et des données a été faite sur le logiciel Microsoft Word 2016 et celle des graphiques sur le logiciel Microsoft Excel 2016.

II. Méthodes :Analyse par PCR du sang recueilli sur des hémocultures :

Les solutions de multiplexage complètes capables de détecter les agents pathogènes bactériens, viraux et fongiques en un seul test ont révolutionné la démarche diagnostique en infectiologie. En effet, FilmArray® est une solution de PCR multiplexe qui permet la détection de divers pathogènes à partir de différents échantillons cliniques. Il en a découlé la mise en marché de différents panels :

- Le panel FilmArray® Respiratoire permettant l'analyse simultanée de 20 virus et bactéries à l'origine de maladies respiratoires, directement à partir d'écouvillons nasopharyngés.
- Le panel FilmArray® BCID qui permet d'identifier directement à partir d'une hémoculture positive, les 24 pathogènes les plus fréquemment responsables d'infections généralisées et 3 gènes de résistance aux antibiotiques.
- Le panel FilmArray® Gastro-Intestinal identifiant les 22 causes les plus communes de diarrhées infectieuses, directement à partir d'un échantillon de selles.
- Et dans notre contexte, le panel FilmArray®Méningite/Encéphalite permet l'identification directe, à partir d'un échantillon de liquide céphalo-rachidien, d'agents infectieux responsables de méningites et d'encéphalites.

Le test FilmArray BCID Panel consiste en une extraction automatisée d'acide nucléique, une transcription inverse, une amplification d'acide nucléique et une analyse des résultats en environ 1h par cycle (c'est-à-dire par échantillon) et ce 24h/24 7J/7, avec seulement 2 minutes de préparation, le tout dans un système fermé permettant la réduction du risque de contamination. Ce test, réalisable directement à partir d'un prélèvement de sang de faible quantité (200 µl~5 gouttes) permet la détection simultanée de 27 cibles : bactéries et levures (Figure I).

Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram négatif
<i>Enterococcus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Streptococcus</i>	Enterobacteriaceae
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Enterobacter cloacae complex
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Proteus</i>
	<i>Serratia marcescens</i>
Levures	Gènes de résistance aux antibiotiques
<i>Candida albicans</i>	<i>mecA</i> - résistance à la pénicilline
<i>Candida glabrata</i>	<i>vanA/B</i> - résistance à la vancomycine
<i>Candida krusei</i>	KPC - résistance aux carbapénèmes
<i>Candida parapsilosis</i>	
<i>Candida tropicalis</i>	

Figure 1 : Les pathogènes détectés par le panel BCID FilmArray® [5].



Figure 2 : Automate film array biofire (30 cm * 20cm*40 cm) de service de microbiologie- et de biologie moléculaire de l'hôpital Avicenne de Marrakech.

1 Phase pré-analytique :

1.1 Prélèvement pour l'hémoculture :

Le prélèvement est le premier point critique susceptible d'influer sur le résultat de l'hémoculture. Un prélèvement de qualité satisfait à plusieurs critères ou exigences.

Les prélèvements ont été réalisés au moment des frissons, de fièvre ou d'hypothermie pour tous patients suspects de bactériémie. Le volume de sang prélevé est de 40 à 60ml pour chaque patient, soit 2 ou 3 paires de flacons. Chaque paire est constituée d'un flacon aérobie et d'un autre anaérobie. Dans notre étude, les flacons d'hémoculture utilisés sont les flacons BacT/ALERT compatibles avec l'automate d'identification de croissance bactérienne utilisé au service de microbiologie de l'hôpital Avicenne de Marrakech.

Les prélèvements ont été réalisés au lit du patient, par ponction veineuse directe. Le recueil de sang par cathéter a été effectué uniquement dans le cadre de suspicion d'une infection sur dispositif vasculaire (DIV), et ce en parallèle du prélèvement par ponction veineuse direct.

Il a été admis que les différentes étapes des prélèvements, suivant un protocole strict, ont été respectées ; à savoir :

- La Fermeture de la porte de la chambre du patient au moment du prélèvement
- Le port d'un masque de type chirurgical par le préleveur
- La friction des mains du préleveur avec une solution hydro-alcoolique
- L'asepsie du point de ponction avec de l'alcool à 70°C puis avec un produit iodé
- La désinfection de l'opercule des flacons d'hémoculture avec l'alcool à 70°C ou un produit iodé
- Respect du temps de contact des produits aseptiques (30 secondes pour la polyvidone iodée, immédiat pour l'alcool à 70%)

1.2 Conservation et acheminement au laboratoire :

L'étiquetage et les renseignements cliniques des prélèvements reçus au laboratoire ont été vérifiés. Les flacons d'hémocultures acheminés rapidement ou conservés en moins de 24h à l'abri de la lumière dans une température ambiante, ont été mis en incubation dans l'automate de détection des hémocultures positives Versatek.

2 Phase analytique :

2.1. Détection des hémocultures positives :

La détection des hémocultures positives au service de microbiologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech durant la période entre 2020 et 2022 se pratiquait grâce à l'automate Versatek.



Figure 3: L'automate de détection des hémocultures positives utilisé au laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech



Figure 4 : Les flacons d'hémoculture Versatek

2.2. L'identification bactérienne :

L'identification bactérienne au niveau du laboratoire s'est basée sur les caractères morphologiques, culturels, biochimiques et antigéniques conventionnelles:

Les flacons détectés positifs par le Versatek sont déchargés de l'automate et analysés. Une partie du spécimen est étalée sur différents milieux gélosés sélectifs ou non (gélose au sang, gélose Chapman, gélose chocolat) pour obtenir des colonies; la durée de cette étape est conditionnée par la croissance des bactéries, elle peut prendre entre 18 à 24 heures pendant lesquelles les géloses sont incubées à 37°C. Une étude à l'état frais, une coloration de Gram sont réalisés.

L'identification précise des bactéries s'est réalisée par l'automate Phoenix 100BD (Figure). Ce dernier est muni de cartes composées de plusieurs puits réactionnels contenant des substrats fluorescents séchés. Le choix des cartes est conditionné par les résultats de la coloration Gram. Onensemence les puits par un inoculum constitué de colonies bactériennes suspendues dans une solution saline atteignant une concentration de 0,5 McFarland (selon les recommandations du fabricant). Toutes les 20 min, une lecture optique automatique de la carte

permet d'interpréter les éventuels changements dans les puits. Cette analyse conduit à l'identification des microorganismes en quelques heures (3h en moyenne). L'activité des enzymes bactériennes et leur capacité à croître en présence de substrats particuliers constituent la base de fonctionnement du Phoenix 100BD. Ce dernier permet l'identification du genre et l'espèce de la plupart des isolats bactériens.

L'automate Phoenix 100BD est validé et conforme aux normes du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CA-SFM.



Figure 5: L'automate utilisé au laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech.

2.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

Les techniques phénotypiques habituellement utilisées au laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech pour l'identification de la sensibilité aux antibiotiques sont l'antibiogramme standard sur milieu gélosé et l'antibiogramme automatisé en milieu liquide.

La détection des phénotypes de résistance est complétée par la méthode conventionnelle de diffusion des disques en milieu gélosé. Les critères de lecture et d'interprétation sont ceux du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM/EUCAST 2018) [6].

La liste des ATB à tester avec leurs concentrations et diamètres critiques en fonction des bactéries étudiées, selon les recommandations du CA-SFM/EUCAST2018, est représentée dans les tableaux (I,II,III).

a. L'antibiogramme automatisé :

L'automate d'analyse BD Phoenix permet en plus de l'identification bactérienne (genre et espèce), la détermination de leur sensibilité en milieu liquide à une large gamme d'antibiotiques par la méthode des concentrations minimales inhibitrices CMI [7].

b. L'antibiogramme standard :

Une ou plusieurs boîtes selon le cas, contenant le milieu gélosé (gélose Miller Hinton pour les bactéries non exigeantes, gélose au sang pour les streptocoques), sont inocuées par inondation à l'aide de la suspension bactérienne préalablement calibrée. Les disques imprégnés d'antibiotiques sont alors disposés à la surface de la gélose inocuée et séchée; et l'antibiotique diffuse rapidement de manière concentrique autour de chaque disque. Les boîtes peuvent alors être mises en incubation à 37°C dans les conditions requises. La lecture consiste à mesurer les diamètres d'inhibition des cultures autour de chaque disque.

c. Détection des Staphylocoques résistants à la méticilline :

La résistance des staphylocoques à la méticilline est recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30 µg) dans les conditions standards de l'antibiogramme. Les souches de staphylocoque résistantes à la céfoxitine ou possédant un gène mec additionnel (mecA, mecC) ou exprimant une PLP2 additionnelle (PLP2a) après induction par une bêta-lactamine, sont interprétées résistantes à toutes les bêta-lactamines, sauf à la ceftaroline et au ceftobiprole qui possèdent une activité sur les staphylocoques résistants à l'oxacilline. Les S.aureus caractérisés par des CMI de la céfoxitine >4 mg/L sont résistants à la méticilline principalement du fait de la présence d'un gène mec additionnel.

d. Détection des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu:

Elle consiste à la recherche d'une synergie entre deux disques sur l'antibiogramme standard: on utilise un disque de CTX, CAZ et CEP et un disque contenant de l'acide clavulanique distants de 30 mm des disques de céphalosporine. La présence d'une BLSE s'exprime par l'apparition d'une synergie en « bouchon de champagne » (figure) [6].

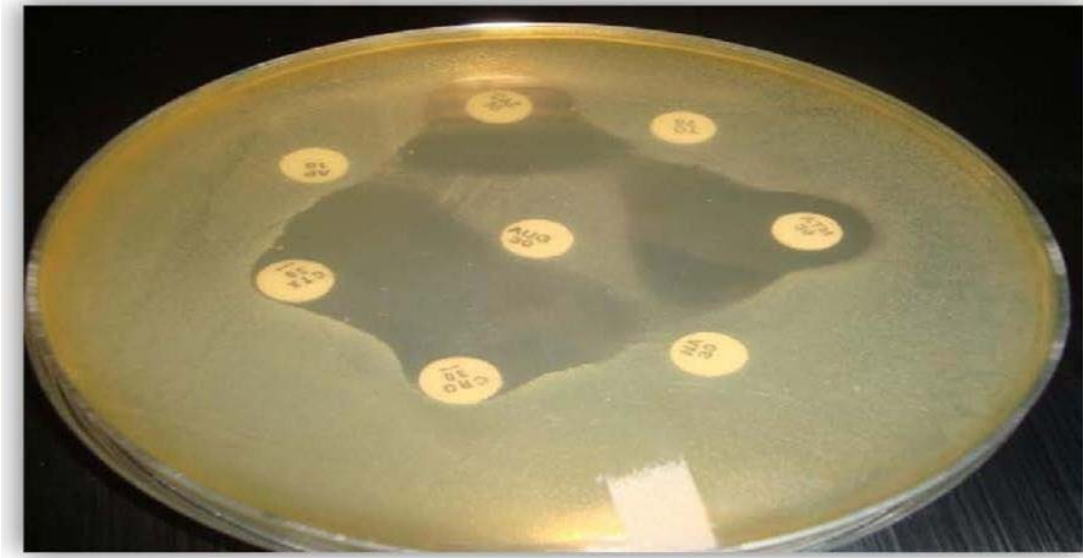


Figure 6 : Le test de synergie en bouchon de champagne [8]

Une souche catégorisée «intermédiaire» ou «résistante» au CTX et/ou CAZ en l'absence de synergie entre ces molécules et l'acide clavulanique est évocatrice d'une souche hyper- productrice de céphalosporinase chromosomique ou plasmidique. La réalisation d'un antibiogramme standard sur gélose Mueller-Hinton additionnée de 250 mg/L de cloxacilline (inhibiteur de céphalosporinase) permet de vérifier si la résistance observée est bien liée à ce type de mécanisme (restauration de la sensibilité lorsqu'il n'y a pas d'autre mécanisme de résistance aux β -lactamines).

3 Préparation :

La cassette FilmArray® est un système fermé jetable qui contient l'ensemble des réactifs chimiques et enzymatiques nécessaires pour l'extraction, l'amplification et la détection d'acides nucléiques des agents pathogènes présents dans l'échantillon.

La partie rigide de la cassette est divisée en différentes cloisons cylindriques qui contiennent les réactifs et enzymes lyophilisés nécessaires pour l'analyse. La partie souple de la cassette contient plusieurs chambres de réactions qui permettent via l'action de l'automate l'extraction, l'amplification et la détection des acides nucléiques recherchés (Figure).

Avant l'analyse, l'utilisateur prépare la cassette en y injectant la solution d'hydratation et 200 µL d'échantillon combiné avec son tampon de lyse. Le temps de manipulation n'est que de 2 minutes.

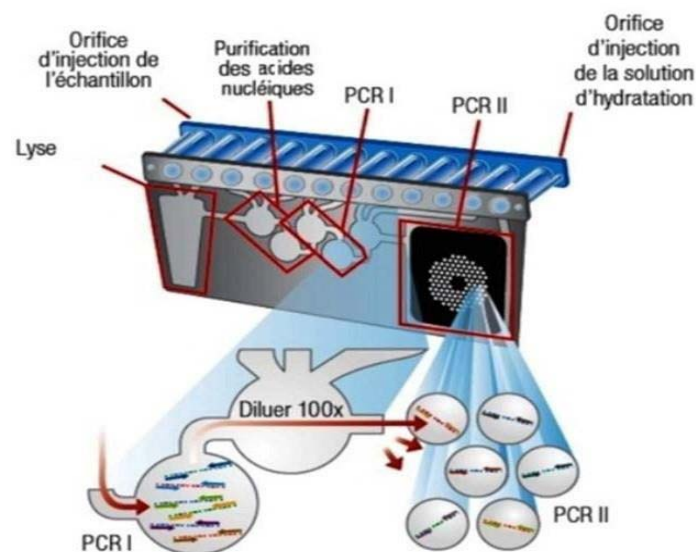


Figure 7 : Représentation schématique d'une cassette FilmArray [9].

La procédure se divise en 5 étapes principales (Figure) :

La cassette est retirée de son enveloppe sous vide et placée dans la station de chargement (Un portoir en plastique rigide ; Figure) et les tubes d'injection d'échantillon (tube rouge) et d'hydratation (tube bleu) sont placés dans le portoir.

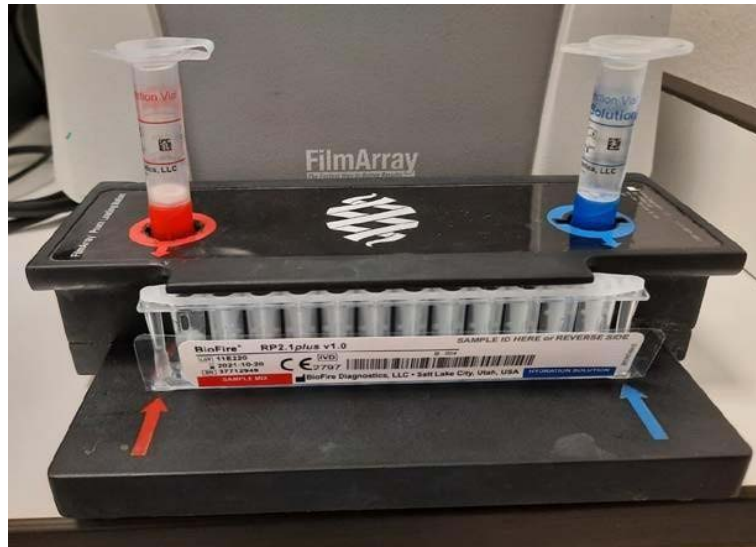


Figure 8: Station de chargement de la cassette.

Les réactifs sont hydratés en injectant la solution d'hydratation dans la cassette au port d'injection à l'aide de l'aiguille du tube d'hydratation. Le portoir doit être utilisé pour dévisser le capuchon qui protège l'aiguille du tube d'hydratation.

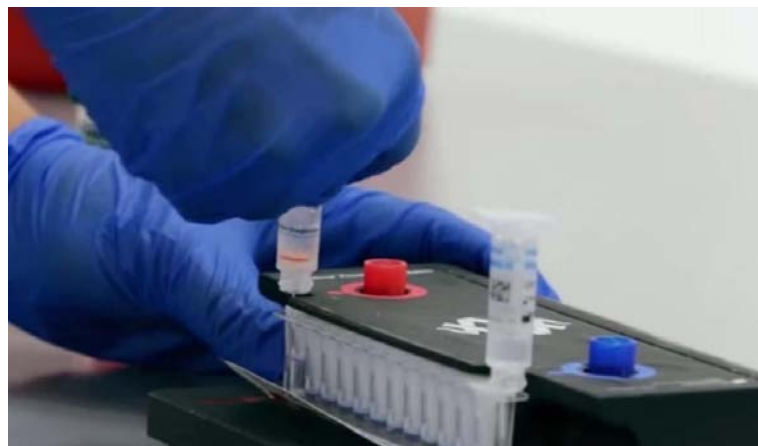


- 1) L'échantillon doit ensuite être préparé. L'ampoule de tampon d'échantillon doit être pincée pour libérer ce dernier.

Une fois fait, le tube (rouge) est ouvert et une quantité donnée d'échantillon est ajoutée au tampon avec la pipette de transfert en plastique fournie. Le tube est refermé et le contenu est mélangé en inversant 3 fois le tube.



- 2) Le tube contenant l'échantillon est ensuite injecté dans l'orifice d'échantillon de la cassette. Pour ce, on doit dévisser le capuchon qui protège l'aiguille d'injection et insérer celle-ci dans le port d'injection d'échantillon.



- 3) La cassette est prête alors pour l'analyse automatisée : elle est placée dans l'automate FilmArray et le programme d'analyse est lancé.

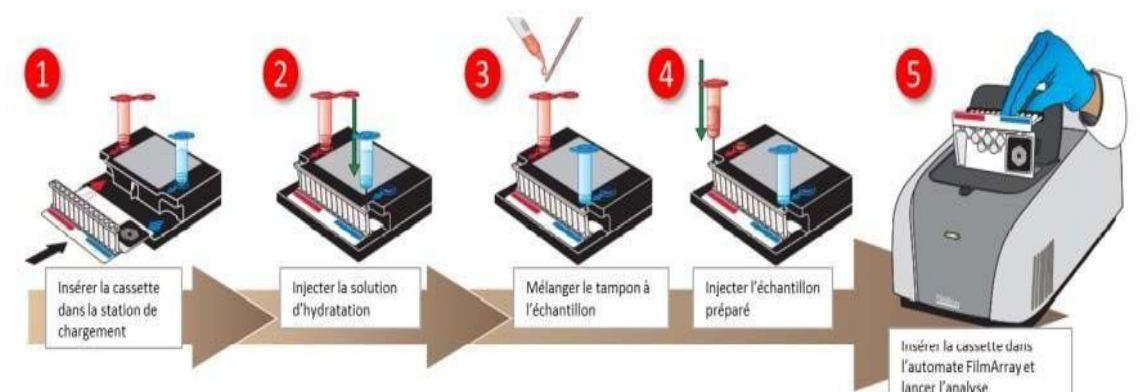


Figure 9 : Sommaire des étapes pour la détection d'agents pathogènes avec l'automateBiofire (10)

4. Principe :

Les processus qui se produisent pendant une exécution de FilmArray sont les suivants :

➤ **Extraction et purification de l'acide nucléique :**

Les acides nucléiques sont libérés des cellules par l'action combinée de tampons dénaturants, de billes de céramique et d'un batteur à billes. Une fois lysées, les cellules sont transférées dans un blister contenant des billes magnétiques qui se lie aux acides nucléiques libérés.

Après application d'un aimant et plusieurs lavages, les acides nucléiques sont élués et déplacés vers des sites de PCR pour amplification. Cette étape se produit dans les trois premières cloques de la cassette et dure environ dix minutes.

➤ **Amplification :**

Les acides nucléiques alors transférés vers la chambre de PCR vont subir une transcription inverse pour convertir l'ARN viral en ADNc.

Une PCR nichée (Nested-PCR) est ensuite réalisée. Elle consiste en une première amplification multiplexe, puis les produits sont dilués afin de limiter le nombre d'amorces restantes. La mixture est ensuite complétée avec un mix réactionnel de PCR « frais » et aliquotés dans chaque puits de la puce, préalablement préchargés avec un nouveau couple d'amorces, afin de pouvoir réaliser la seconde étape de la PCR nichée. Ces amorces sont destinées pour s'hybrider à des régions contenues à l'intérieur des fragments issus de la première étape multiplexe de la PCR.

Cette seconde étape est quant à elle monoplexe, puisqu'un seul couple d'amorces spécifiques est contenu dans chaque puits. Ce type de PCR a pour but d'éliminer les amplifications non spécifiques que l'on peut rencontrer lors de PCR multiplexes classiques.

Au cours de la deuxième étape de la PCR, LCGreen® Plus, un colorant fluorescent intercalant l'ADN, est incorporé dans l'ADN au fur et à mesure de son amplification.

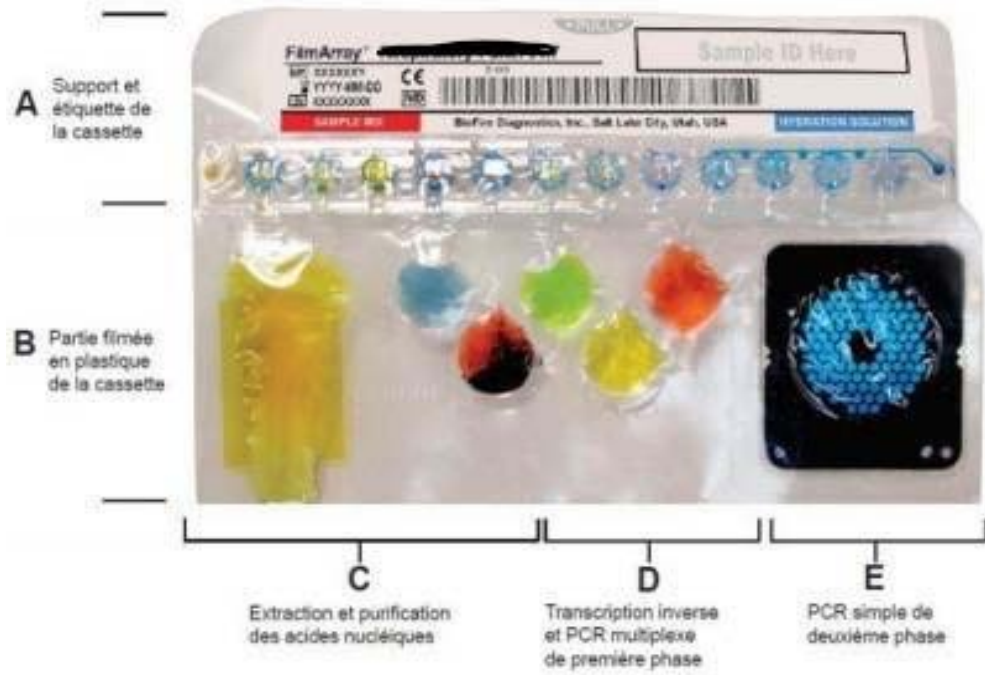


Figure 10 : Cassette montrant le siège de chaque étape.

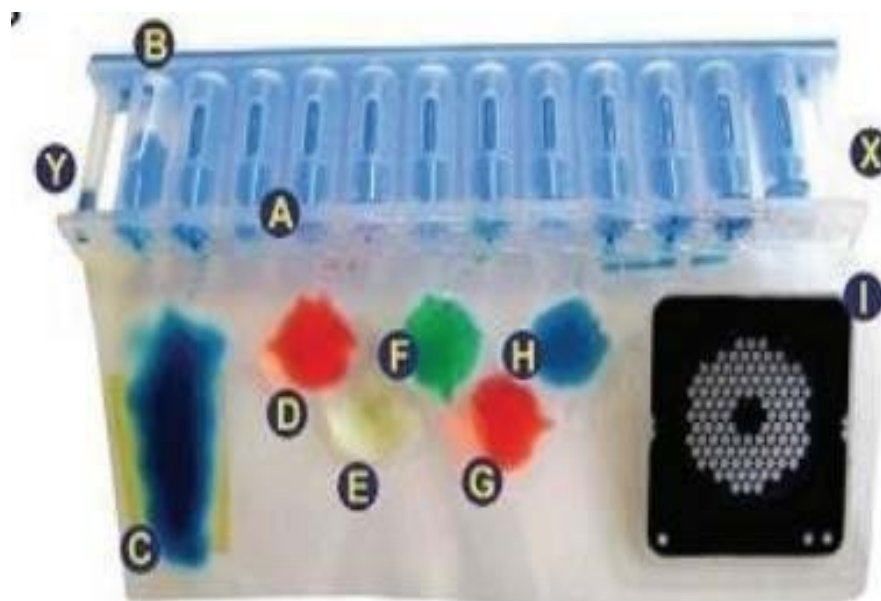


Figure 11 : Cassette remplie avec différents colorants afin de matérialiser tous les compartiments (A :réservoir d'injection, B :piston, C :chambre de lyse, D à H :chambres réactionnelles, I :puits de la puce, Y :port d'injection, X :port d'hydratation).

➤ **Détection :**

Après la 2ème étape de la PCR, la température est lentement augmentée et la fluorescence dans chaque puits du réseau est surveillée et analysée pour générer une courbe de fusion de l'ADN du produit amplifié ; cette courbe est la base sur laquelle sont déterminées les réactions positives.

Chaque cible est exécutée en triple, dans trois puits distincts du micro réseau. La courbe de fusion de chaque répliquât individuel pour chaque cible est mesurée après amplification, et une réaction positive est déterminée si la forme et le pic de la courbe de fusion se situent dans des plages préétablies.

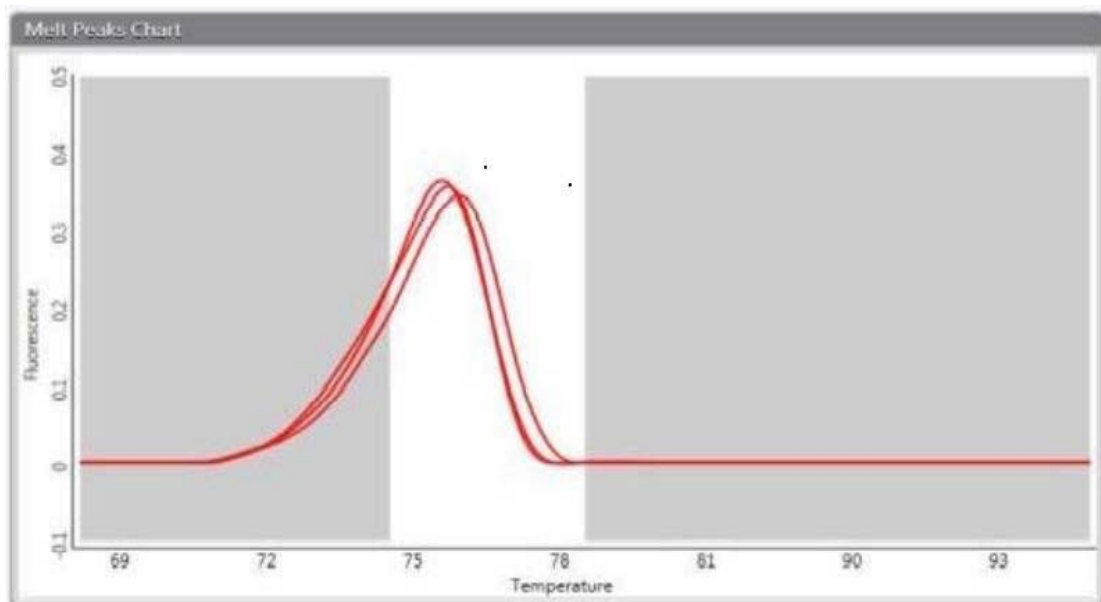


Figure 12 : Courbes de fusion positives.

➤ **Contrôle de qualité :**

Le contrôle de l'instrument est effectué automatiquement par le logiciel FilmArray. Chaque cassette FilmArray contient deux contrôles internes :

- Un contrôle de processus ARN qui cible un transcrit d'ARN de la levure *Schizosaccharomyces pombe* (lyophilisé dans le sachet et réhydraté lors de l'ajout de l'échantillon, qui a été réalisé à travers toutes les étapes du processus de test).

- Un PCR2 contrôle qui détecte une cible d'ADN séchée dans les puits de la matrice (ce qui garantit que la PCR de deuxième étape est réussie). Les exécutions du FilmArray BCID Panel sont considérées comme valides si l'analyse se termine normalement et les deux contrôles internes sont réussis.

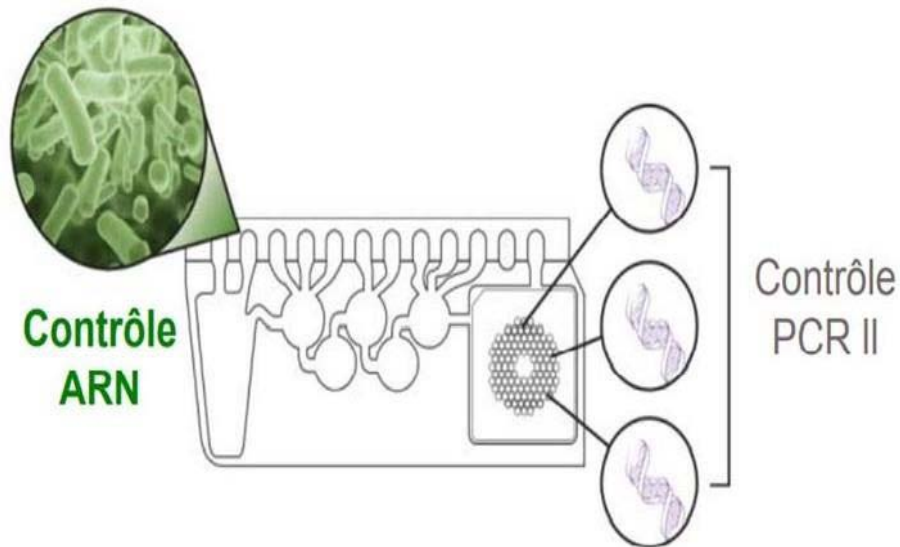


Figure 1 3 : Schéma montrant les contrôles intégrés du système FilmArray.

➤ **Interprétation :**

Le logiciel FilmArray effectue une analyse automatisée des résultats avec chaque cible dans une analyse valide signalée comme « détectée » ou « non détectée ». Si l'un des contrôles internes échoue, le logiciel fournit automatiquement un résultat « invalide » pour tous les analyses du panel.

Ainsi, le logiciel FilmArray fournit un rapport de test simple à comprendre (Figure) en une heure ; et la traçabilité des échantillons et des cassettes FilmArray est totale




 FilmArray® BCID Panel			
www.BioFireDx.com			
Run Summary			
Sample ID:		Run Date:	
Organisms Detected:	<i>Neisseria meningitidis</i>	Controls:	Passed
Applicable Antimicrobial Resistance Genes:			
Result Summary - Interpretations			
Antimicrobial Resistance Genes			
⊗ N/A	KPC (carbapenem-resistance gene)		
⊗ N/A	<i>mecA</i> (methicillin-resistance gene)		
⊗ N/A	<i>vanA/B</i> (vancomycin-resistance genes)		
 NOTE: Antimicrobial resistance can occur via multiple mechanisms. A Not Detected result for the FilmArray antimicrobial resistance gene assays does not indicate antimicrobial susceptibility. Subculturing is required for species identification and susceptibility testing of isolates.			
Gram Positive Bacteria			
Not Detected	<i>Enterococcus</i>		
Not Detected	<i>Listeria monocytogenes</i>		
Not Detected	<i>Staphylococcus</i>		
Not Detected	<i>Staphylococcus aureus</i>		
Not Detected	<i>Streptococcus</i>		
Not Detected	<i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B)		
Not Detected	<i>Streptococcus pneumoniae</i>		
Not Detected	<i>Streptococcus pyogenes</i> (Group A)		
Gram Negative Bacteria			
Not Detected	<i>Acinetobacter baumannii</i>		
Not Detected	<i>Enterobacteriaceae</i>		
Not Detected	<i>Enterobacter cloacae</i> complex		
Not Detected	<i>Escherichia coli</i>		
Not Detected	<i>Klebsiella oxytoca</i>		
Not Detected	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
Not Detected	<i>Proteus</i>		
Not Detected	<i>Serratia marcescens</i>		
Not Detected	<i>Haemophilus influenzae</i>		
✓ Detected	<i>Neisseria meningitidis</i>		
Not Detected	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
Yeast			
Not Detected	<i>Candida albicans</i>		
Not Detected	<i>Candida glabrata</i>		
Not Detected	<i>Candida krusei</i>		
Not Detected	<i>Candida parapsilosis</i>		
Not Detected	<i>Candida tropicalis</i>		

Figure 14 : Exemple de résultat FilmArray BCID.



RÉSULTATS



I. Caractéristiques épidémiologiques des bactériémies :

1. Répartition selon les services demandeurs :

Les échantillons documentés durant la période de l'étude provenaient majoritairement des patients hospitalisés (93.9%) contre (7.1%) des prélèvements externes.

Sur les 26 patients hospitalisés

- 76.9% de la réanimation médicale.
- 19.2% de la réanimation Covid.
- 3.9% de la cardiologie.

Durant la période étudiée, le service de réanimation est le service le plus demandeur de la PCR Multiplex.

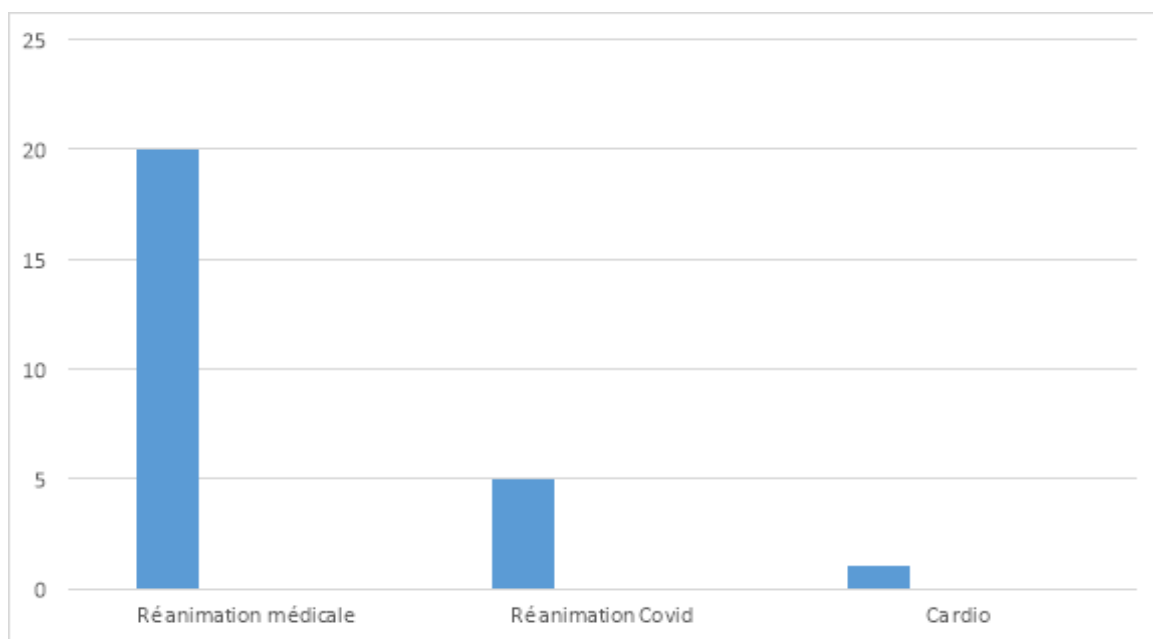


Figure 15 : Répartition des échantillons selon les services demandeurs

2. Répartition selon le sexe :

Sur les 28 patients inclus dans l'étude :

- 20 étaient de sexe masculin (71%).
- 8 étaient de sexe féminin (29%).
- Le sexe ratio H/F était de 2.5.

On a noté alors une prédominance masculine dans notre série.

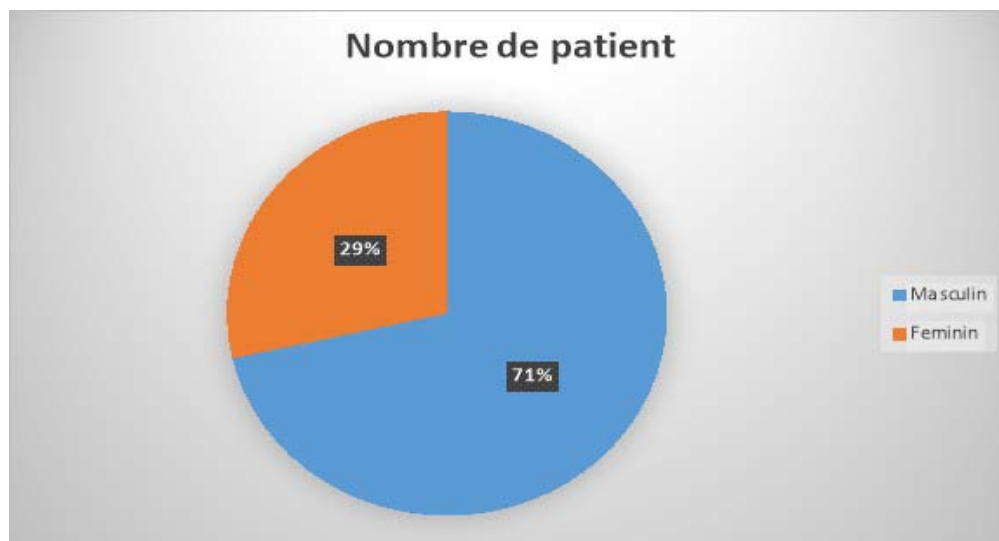


Figure 16 : Répartition des échantillons selon le sexe des patients.

3. Fréquence selon les années :

Au laboratoire de microbiologie de l'HMA de Marrakech, 20 échantillons ont été traités par PCR Multiplex type FilmArray BCID Panel en 2020 (71% des prélèvements étudiés), 8 en 2021 (29%).

Tableau I : Répartition des échantillons selon l'année

Année	Nombre d'échantillons
2020	20
2021	8

II. Evaluation des performances diagnostiques du Panel BCID

FilmArray :

1. Taux de positivité total :

Parmi les 28 échantillons reçus au laboratoire de microbiologie durant la période d'étude, le panel FilmArray BCID a détecté au moins un agent pathogène dans 21 échantillons, soit un taux de positivité de 75%.

Tableau II : Résultats des échantillons analysés par FilmArray

Echantillons	Nombre
Positif	21
Négatif	7

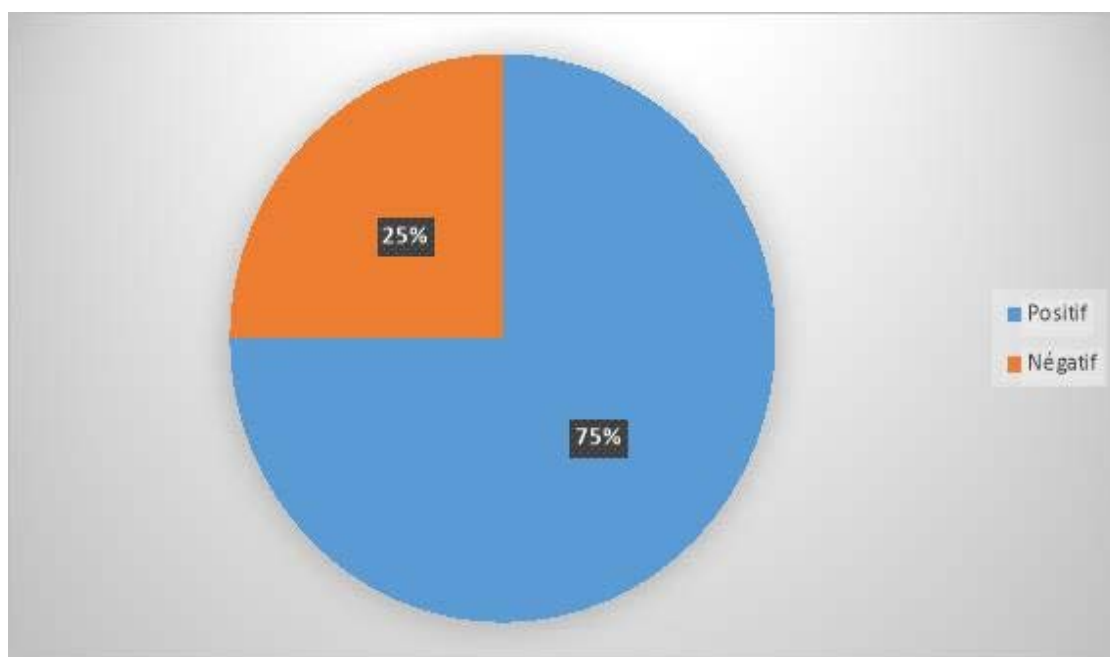


Figure 17 : Taux de positivité par FilmArray des échantillons analysés

2. Détection des co-infections :

Dans cette série, FilmArray a détecté 14 échantillons qui contiennent un seul pathogène, soit un taux de 50% des mono infections dans la population étudiée.

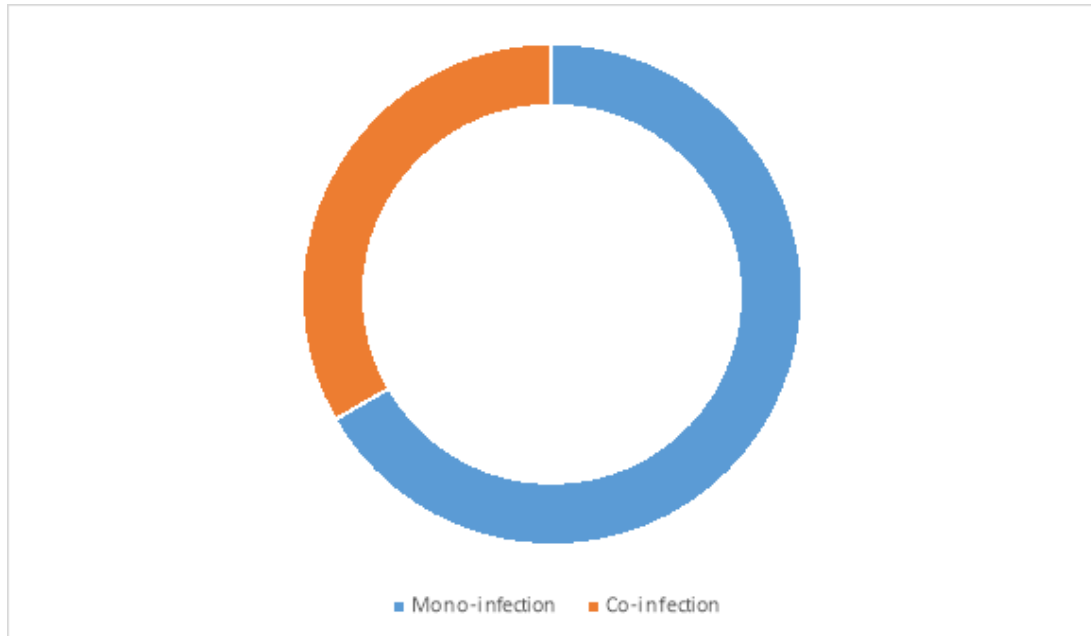


Figure 18: Proportion des mono-infections des bactériemies dans la population étudiée

Tableau III : Nombre des mono et co-infections détectées par rapport aux échantillons négatifs.

Résultat	Nombre
Négatif	7
Mono-infection	14
Co-infection	7

3. Totalité des pathogènes détectés :

Un total de 22 pathogènes a été détecté dans notre étude, les bactéries à gram négatif étant le groupe de pathogènes le plus détecté.

Tableau IV : Les pathogènes détectés par FilmArray avec leurs taux de positivité

	Pathogène	Nombre de positif	Taux de positivité
Les bacilles à gram négatif	Klebsiella pneumoniae	2	10%
	Pseudomonas aeruginosa	1	4%
	Enterobacter cloacae complex	3	13%
	Klebsiella oxytoca	2	10%
	Acinetobacter baumannii	3	13%
Les bacilles à gram positif	Staphylococcus coag -	1	4%
	Staphylococcus Aureus	6	28%
	Enterococcus	2	10%
Les levures	Candida tropicalis	1	4%
	Candida albicans	1	4%

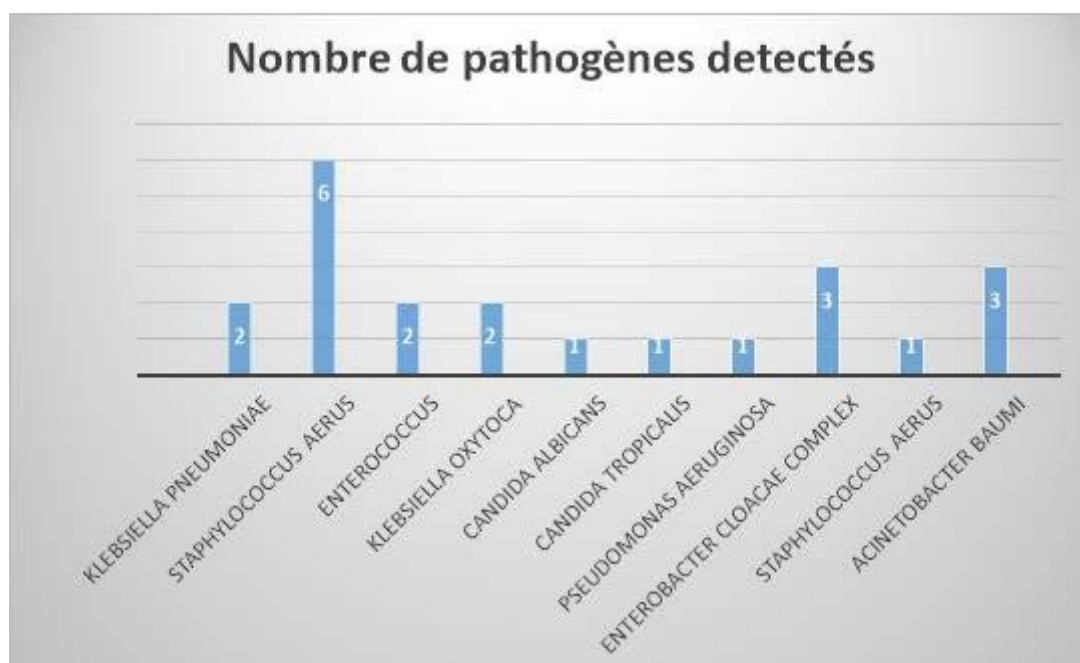


Figure 19 : Pathogènes détectés par FilmArray

4. Répartition selon les germes en cause des bactériémies :

4.1. Répartition selon l'agent pathogène :

Les agents infectieux incriminés dans les bactériémies incluses dans notre étude étaient prédominés par des bactéries (90.9%) ; les levures sont nettement minoritaires réalisant 9.1% d'échantillons positifs.

Tableau V : Répartition des bactériémies selon le germe causal.

Type de germe	Nombre détecté
Bactérie	20
Levure	2

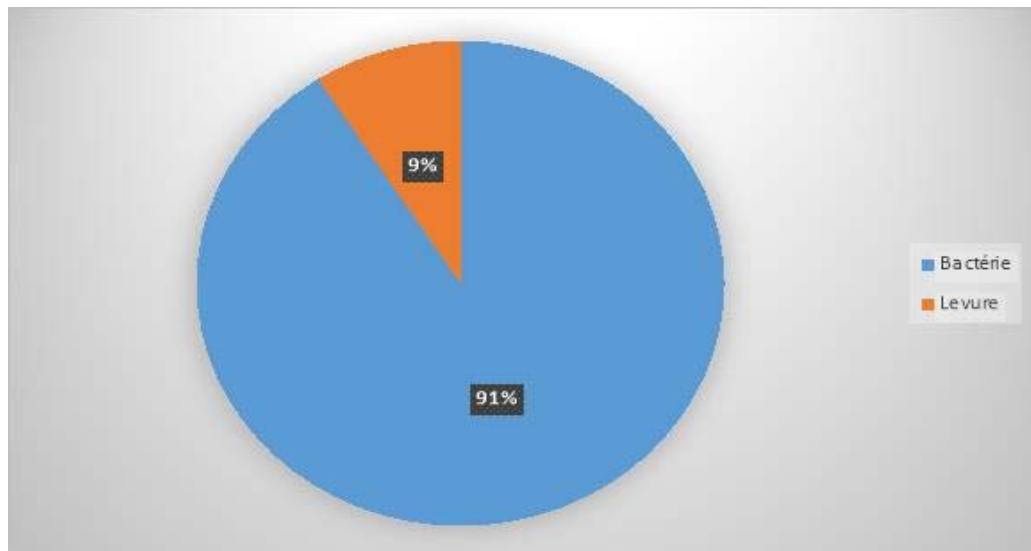


Figure 20 : Répartition des bactériémies selon l'agent causal.

4.2. Répartition des bactériémies selon les bactéries causales :

Le staphylococcus aureus était en tête des bactéries incriminées dans les bactériémies avec un taux de positivité de 28%, suivi au 2^{ème} rang de et Enterobacter cloacae complex du Acinetobacter baumi avec un taux de positivité commun de 13% ; tandis que la klebsiella pneumoniae, la klebsiella oxytoca et l'Enterococcus occupaient le 3^{ème} rang avec un taux de positivité de 10% pour chacun.

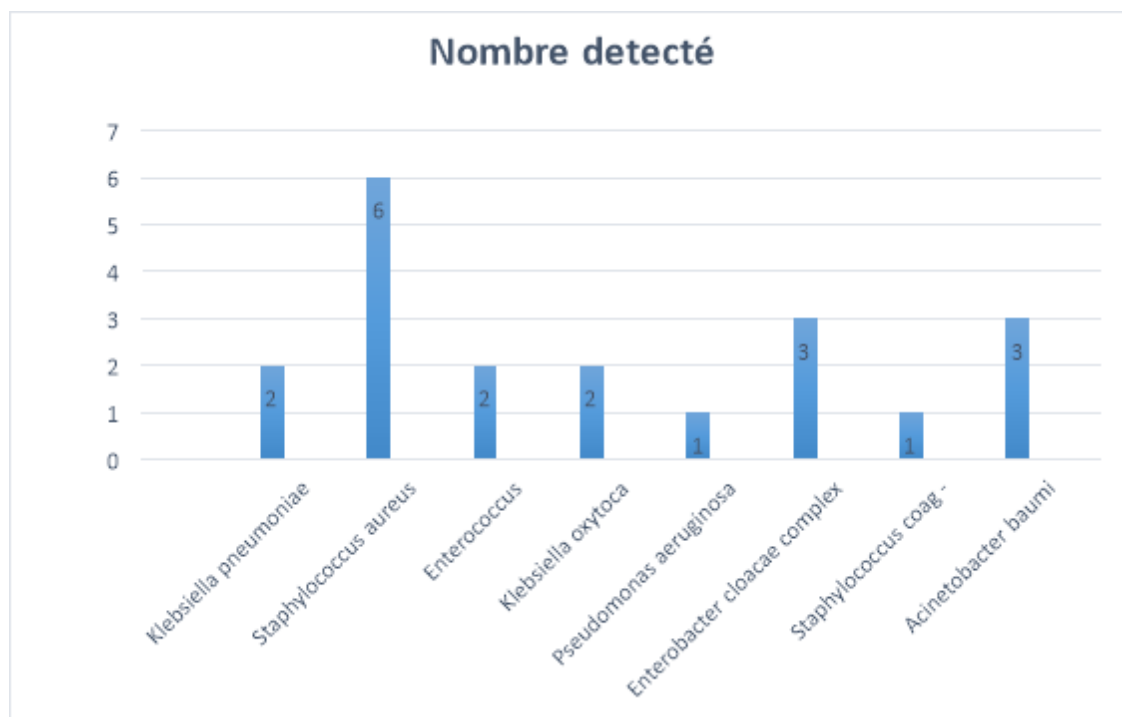


Figure 21: Nombre de chaque bactérie détectée par FilmArray

On a noté l'absence de détection du *Streptococcus* dans notre série d'échantillons durant la période de l'étude.

Tableau VI : Les bactéries détectés par FilmArray

Pathogène	Nombre de positif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
<i>Staphylococcus Aureus</i>	6
<i>Enterococcus</i>	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	3
<i>Staphylococcus coag -</i>	1
<i>Acinetobacter baumi</i>	3

4.3. Répartition des bactériémies d'origine fongiques :

Sur les 22 prélèvements avérés positifs par le panel FilmArray BCID, la Candida Albicans et la Candida Tropicalis étaient responsables de bactériémies.

III. Pathogènes détectés par culture :

1. Taux de positivité total :

Dans notre série, 12 agents pathogènes ont été détectés par culture, soit un taux de positivité total de 42.8%.

Le staphylococcus aureus était le germe le plus détecté, réalisant 14.2% des bactéries détectées par culture.

Les autres germes détectés étaient : l'Acinetobacter Baumannii, le staphylococcus coagN, le Klebsiella Pneumoniae et le Klebsiella oxytoca.

Tableau VII : Nombre de pathogènes détectés par culture

Pathogène	Nombre détecté
Staphylococcus Aureus	4
Acinetobacter Baumannii	2
Staphylococcus haemolyticus	2
Klebsiella Pneumoniae	1
Enterococcus foecium	1
Klebsiella oxytoca	1
Acinetobacter haemolyticus	1

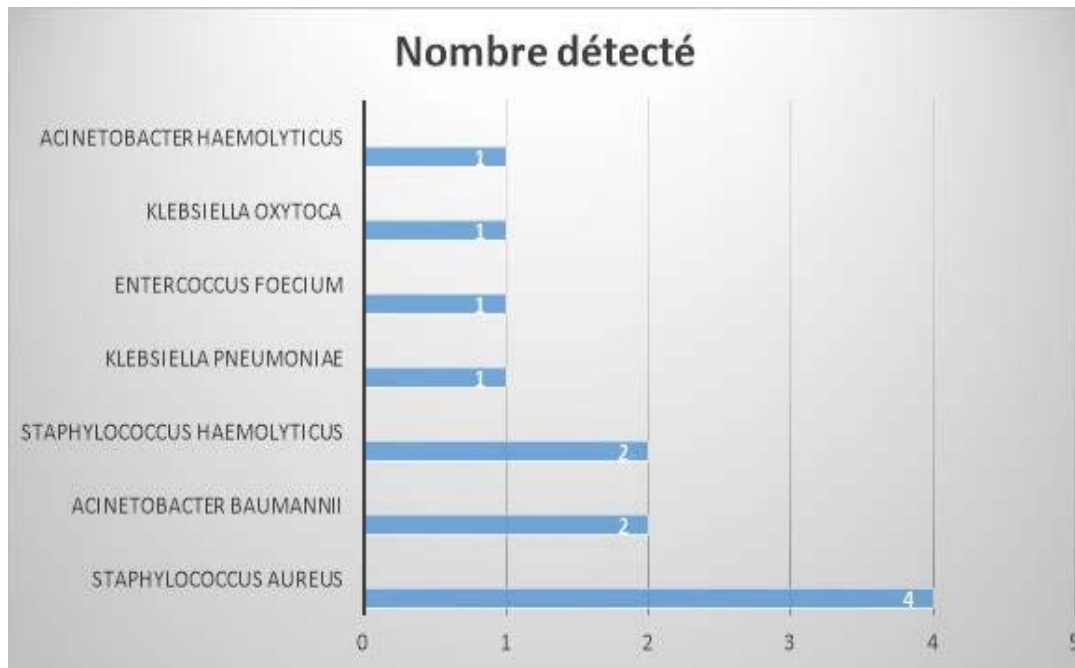


Figure 22: Pathogènes détectés par culture.

2. Résultats de l'antibiogramme :

On a testé la sensibilité de chacune des souches bactériennes identifiées vis-à-vis de différents antibiotiques sélectionnés en se référant au comité de l'antibiogramme de l'association française et européenne de microbiologie (CASFM/EUCAST).

- Sur les 4 staphylococcus aureus détectés, 2 staphylococcus étaient résistants à tous les antibiotiques testés y compris toutes les bêtalactamines, alors qu'ils présentent une sensibilité à la gentamicine et la levofloxacine.
- Les 2 Acinetobacter baumannii isolés étaient résistants aux bêtalactamines, aux quinolones et aux sulfaméthoxazoles mais sensibles à la colistine et l'amikacine.
- Le seul isolat de Klebsiella Pneumoniae était sensible à la céphalosporine, les fluoroquinolones et la gentamicine mais résistants à la tobramycine et sulfaméthoxazoles
- Le staphylococcus aureus était résistants à la pénicilline G et aux aminosides mais sensible aux bêtalactamines.

La Klebsiella oxytoca était sensible aux céfoxitine imipenem, bactrim, la ciprofloxacine et la lévofloxacine et résistante à les aminosides et les C1G, C2G et C3G sauf céfoxitine.

3. Comparaison et concordance avec le panel BCID FilmArray :

La PCR multiplex type FilmArray a pu détecter Enterococcus, Klebsiella pneumoniae et la Candida tropicalis sur l'échantillon révélé positif à klebsiella pneumoniae par culture.

Tableau VIII : Résultats de la PCR multiplex sur les échantillons positifs sur la culture.

Nombre d'échantillon	Pathogène détecté par culture	Résultat du FilmArray sur le même prélèvement
2	Enterobacter cloacae complex	Pseudomonas aeruginosa Enterobacter cloacae complex Klebsiella pneumoniae
2	Acinetobacter Baumannii	Staphylococcus Acinetobacter baumannii
4	Staphylococcus aureus	Staphylococcus aureus
1	Klebsiella Pneumoniae	Enterococcus Klebsiella Pneumoniae Candida tropicalis
1	Acinetobacter Baumii	Klebsiella oxytoca Candida albicans
1	Klebsiella oxytoca	Klebsiella oxytoca Candida albicans
1	Enterococcus	Enterococcus Staphylococcus aureus

En termes de concordance entre la culture et le FilmArray, nous avons obtenu un taux de 92.8% pour le staphylococcus aureus.

Tableau IX : Concordance du FilmArray avec la culture conventionnelle dans la détection des bactéries.

Bactérie Détectée	Culture (total: 28 prélèvements)	FilmArray	Taux de concordance culture/FilmArray
Staphylococcus aureus	4 (14.2%)	6 (21.4%)	92.8%

IV. Utilisation du panel FilmArray BCID sur des prélèvements testés négatifs par la culture conventionnelle :

Le FilmArray a permis le diagnostic de 7 bactériémies dont la culture conventionnelle est négative.

Tableau X : Prélèvements négatifs par culture détectés par FilmArray.

Nombre de prélèvements	Culture	Panel FilmArray BCID
4	Négative	Staphylococcus aureus
1	Négative	Enterococcus
1	Négative	Enterobacter cloacae complex
1	Négative	Acinetobacter baumi

V. Délai de rendu des résultats :

Différentes étapes sont réalisées avant de rendre le résultat, il faut prendre en compte :

- Le délai d'envoi du prélèvement par le service (30 minutes en moyenne) ;
- L'enregistrement de l'analyse (5 minutes) ;
- La phase pré-analytique (préparation de l'échantillon, de la cassette) (3 minutes) ;
- La phase analytique (analyse par le système FilmArray®) (1 heure) ;

- La phase post-analytique (communication du résultat, validations techniques et biologiques) (3 Heures 40 minutes).

Dans notre série, le délai médian de rendu des résultats mesuré était de : 6 h pour le panel BCID FilmArray®.

Le délai de rendu des résultats par les méthodes conventionnelles est entre 24 heures et 120 heures dans notre service.

VI. Impact sur le coût de prise en charge du patient :

Dans notre étude le coût direct de l'analyse est de 1800 DH/test environ à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech.

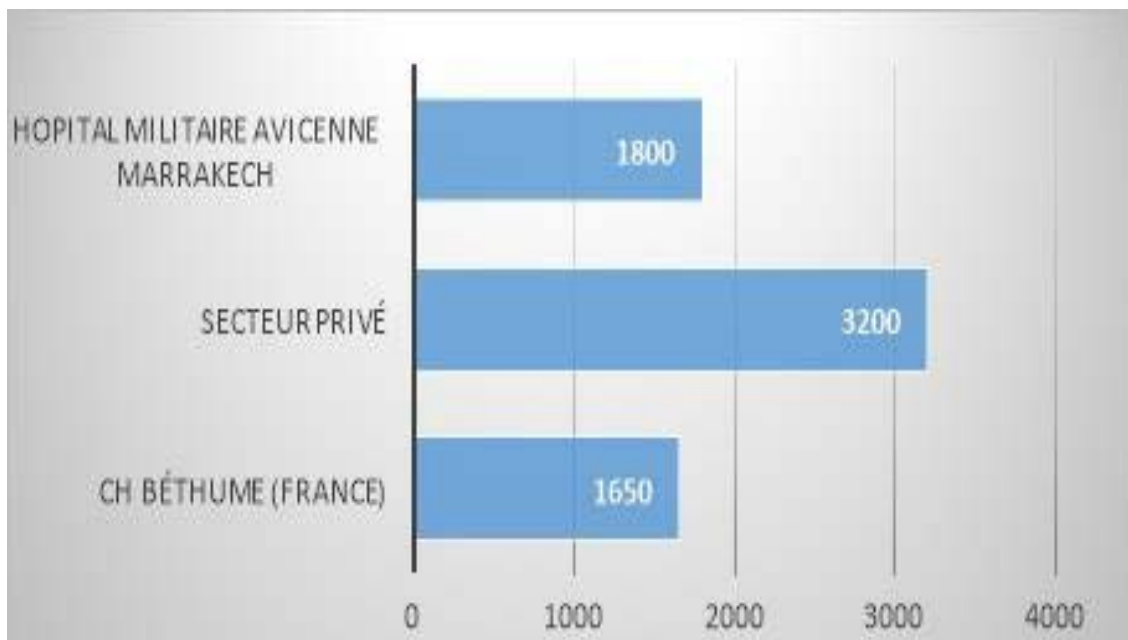


Figure 23 : Comparaison du coût de l'analyse dans les différents établissements



DISCUSSION



I. Définitions :

Le sang circulant, normalement stérile, peut être contaminé par des bactéries à la suite d'une blessure, ou à cause d'une certaine perméabilité des parois de l'intestin. Chez des personnes en bonne santé, de tels événements sont parfaitement maîtrisés par le système immunitaire et restent asymptomatiques. Lorsqu'il s'agit d'immunodéprimés ou que les bactéries se retrouvent en quantité importante dans le sang, on parle de septicémie (18). Ce terme couvre un spectre large de présentations cliniques hétérogènes et de pronostic variable mais dotées de mécanismes physiopathologiques communs. (14) Toutefois le manque de définitions uniformément acceptables a rendu difficile la description et l'interprétation de l'impact épidémiologique de la septicémie sur la population. En 1992, une conférence de consensus parrainée par «*the American college of chest physicians*» (ACCP) et «*the society of critical care medicine*» (SCCM) a proposé un ensemble uniforme de définitions pour améliorer le diagnostic au lit du malade, la standardisation des protocoles de recherches, la diffusion et l'application des informations provenant des études cliniques et épidémiologiques. C'est alors qu'ils ont mis en place les premières définitions du syndrome inflammatoire de la réponse systémique (SIRS), de la septicémie et syndrome apparentés (15,16), suggérant ainsi que la septicémie est présente lorsque l'activation systémique des voies inflammatoires est déclenchée par l'infection. Ce modèle estime que la septicémie est causée par une infection qui initie une cascade de réactions de coagulation et de réactions immunologiques (cytokines inflammatoires et éosinophiles) qui se propagent indépendamment du site initial de l'infection (17,18,19). La figure 33 indique que la septicémie est définie par la co-existence de l'infection et du SIRS mais il n'est pas clairement proposé que l'infection incontrôlée entraîne le développement de SIRS.

Par la suite, les définitions de la septicémie et syndromes apparentés ont été révisées par la SCCM, la Société européenne de médecine intensive (ESICM), l'ACCP et les Sociétés d'infections chirurgicales (SIS) (20,21)

1. Bactériémie physiologique :

Une bactériémie est définie par la présence de bactérie(s) viable(s) dans le sang, authentifiée par l'hémoculture, après élimination d'une éventuelle contamination du prélèvement sanguin [22-23]. Le meilleur indicateur pour différencier une contamination d'une bactériémie réelle est l'identité du germe [24,25]. Le Comité Technique des Infections Nosocomiales et du Conseil Supérieur d'Hygiène et de Santé Publique de la France définit une bactériémie par l'existence d'au moins une hémoculture positive, sauf pour les bactéries suivantes: staphylocoques à coagulas négatif, Bacillus sp., Corynebacterium sp., Propionibacterium sp., Micrococcus sp. ou autres bactéries saprophytes ou commensales à potentiel pathogène comparable, pour lesquelles au moins deux flacons d'hémoculture positifs correspondant à des ponctions différentes sont nécessaires [26].

❖ Une bactériémie peut être transitoire, intermittente ou persistante [27] :

- La bactériémie transitoire dure quelques minutes ou quelques heures, et survient au début d'infections bactériennes aiguës ou après la réalisation de geste invasif, par exemple lors d'interventions dentaires, de biopsie, de cathétérisme percutané, ou après un drainage chirurgical ou le débridement d'une plaie [28]. Une bactériémie transitoire peut être rencontrée aussi suite à de simples gestes quotidiens tels que le brossage des dents ou mastication [29].
- La bactériémie intermittente est due à une décharge intermittente d'un germe dans la circulation sanguine et elle est souvent associée à une infection focale, telle qu'une pneumonie, une ostéomyélite, une spondylodiscite ou un abcès quel que soit sa localisation.

- La bactériémie persistante est le résultat d'une décharge permanente d'un germe dans la circulation sanguine, elle est rencontrée le plus souvent dans l'endocardite infectieuse et dans les infections intra-vasculaires [28,30], et peut survenir également de façon permanente pendant les premiers stades des infections bactériennes systémiques, telles la brucellose et la fièvre typhoïde [28].

❖ **Selon le lieu de son acquisition, la bactériémie peut être:**

- Bactériémie communautaire : L'origine de la bactériémie est définie comme communautaire lorsque les hémocultures sont prélevées dans les 48h après l'admission ou plus de 48 heures après l'admission chez un patient présentant des signes d'infection à l'admission ou lors d'une séance de dialyse ambulatoire [31].
- Bactériémie nosocomiale : L'origine de la bactériémie est définie comme nosocomiale lorsque les hémocultures sont prélevées dans un délai de plus de 48h après l'admission chez un patient sans signes infectieux à l'admission. Ou alors dans un délai de moins de 48h après l'admission chez un patient avec une hospitalisation antérieure datant de moins de 7 jours et présentant une bactériémie avec un germe nosocomial, ou chez un patient opéré dans le mois précédent (ou dans l'année si port d'un matériel prothétique) et présentant des signes d'infection du site opératoire. Un épisode est défini comme nosocomial externe lorsque les hémocultures sont prélevées dans un délai de moins de 48h après l'admission chez un patient avec une hospitalisation antérieure dans un autre établissement de soins datant de moins de 7 jours et présentant une bactériémie avec un germe nosocomial [31].

❖ **Selon son origine, on parle de bactériémie :**

Secondaire » à un autre foyer infectieux documenté, ou « primaire » si aucune autre infection n'est diagnostiquée ou s'il s'agit d'une infection liée aux cathéters [32]. Le type secondaire se présente plus fréquemment dans le cadre de bactériémies communautaires. Les

foyers les plus couramment identifiés sont alors respiratoires (20.6%), abdominaux (20.1%) et génito-urinaires (19.8%), mais les bactériémies primaires représentent tout de même 29.2% [33].

Dans le cas des infections nosocomiales, environ 2/3 des cas sont primaires [32], la moitié de ces cas étant en lien avec une origine inconnue et l'autre moitié avec une infection de cathéters [34]. Lorsqu'un foyer est documenté, on retrouve plus souvent une origine respiratoire ou urinaire [35, 36]. Concernant les bactériémies liées aux soins, elles sont les plus souvent causées par des cathéters intra-vasculaires, suivis par les foyers urinaires, respiratoires et abdominaux en proportions environ égales [37,38]

2. Sepsis :

L'origine du terme sepsis provient du mot grec ancien 'σηπω'(sêpsis) qui se référait à la «décomposition» de la matière animale, végétale ou organique » [39, 40]. Le mot sepsis a été en fait cité dans le poème d'Homère 'Iliade' 700 ans avant J.C. sous forme de 'sepo', qui signifie je 'pourris' [41].

Jusqu'à 1990, le terme de sepsis désignait la présence de micro-organisme(s) pathogène(s) ou de leurs toxines dans le sang ou les tissus [42]. L'amélioration croissante des connaissances autour de la physiopathologie du sepsis durant les années 80's a permis de décrire le sepsis comme un état dérégulé de l'hôte face à l'agression d'un pathogène [43]. C'est alors qu'en 1991 lors d'une conférence internationale de consensus qu'il s'est mis d'accord sur une première définition permettant le diagnostic du sepsi

❖ Sepsis-1 (1991) :

La conférence a introduit pour la première fois la notion du syndrome de réponse inflammatoire systémique « SRIS », et définit le sepsis comme un syndrome clinique associant une infection à un SIRS.

❖ **SIRS :**

Un patient est atteint d'un SIRS, s'il présente au moins deux des critères suivant :

- Température >38,00 ou <36,00.
- Fréquence cardiaque >90/min.
- Fréquence respiratoire >20 cycles/ min ou une $paCO_2$ <32mmHG.
- Leucocytes > 12.000/mm³ ou <4000/mm³ ou >10% de PNN immatures.

❖ **Sepsis-2 (2001):**

En raison de la faible spécificité par rapport à la grande sensibilité qu'engendraient la définition du sepsis-1, une deuxième conférence de consensus internationale été tenue en 2001 [35]. Le but était de d'examiner et de réviser les progrès réalisés quant à la dernière conférence de consensus. Il a été retenu dès lors, de garder la définition du sepsis-1 tout en reconnaissant qu'elle présente des limites. Cependant de nouveaux critères diagnostiques ont été élaborés. (Tableau XI)

<p>Etat général</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Température <36 ou >38.3 • Fréquence cardiaque >90bat/min • Fréquence respiratoire >20cycles/min ou une paCO₂ <32mmHG. • Œdème récemment installé • Hyperglycémie en absence de diabète.
<p>Variables inflammatoires</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Leucocytes >12.000 ou leucopénie <4000 ou PNN immatures 10% • Protéine C réactive plasmatique (> 2 DS de la valeur normale • Procalcitonine plasmatique > 2 DS de la valeur normale
<p>Variables hémodynamiques</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Hypotension artérielle (PAS <90 mmHg, PAM <70 mmHg ou diminution de 40 mmHg de la PAS)
<p>Dysfonction d'organe</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Hypoxémie artérielle (PaO₂ / FiO₂ <40). • Utilisation de la ventilation mécanique en cas d'insuffisance respiratoire aiguë • Oligurie aiguë (débit urinaire <0,5 mL/kg/h ou <45 mL/h pendant au moins 2h) • Augmentation > 45 µmol/L de la créatinine • Anomalies de la coagulation (INR > 1,5 ou TCA > 60 sec) • Thrombocytopénie (plaquettes <100.000/mm³). • Iléus intestinal (sons intestinaux absents). • Hyperbilirubinémie (bilirubine > 70 µmol / L).
<p>Anomalies de perfusion tissulaire</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Temps de recoloration >3s • Marbrures • Hyperlactatémie >3mmol/L

❖ **Sepsis –3 (2016) :**

Au cours des 15 années succédant le sepsis–2, des études cliniques et de nouvelles connaissances sur la physiopathologie du sepsis ont rendu obsolète l'ancienne définition. La nouvelle définition établit en 2016 décrit le sepsis comme un syndrome d'anomalies physiologiques, pathologiques et biochimiques induites par une infection. Il s'agit un dysfonctionnement d'organe menaçant le pronostic vital, causé par une réponse dérégulée de l'hôte à une infection. Le dysfonctionnement d'organe –associé à un taux de mortalité supérieure

à10%– peut être mesuré par une augmentation d'un score SOFA (Sepsis Organ Failure Assessment score) de 2 points ou plus [46]. (Tableau VIII)

Un score qSOFA (quickSOFA) a également été introduit lors du sepsis–3, il permet d'identifier cliniquement les patients présentant une forte suspicion de sepsis et chez qui une dysfonction d'organe devrait immédiatement être recherchée. Ce score est retenu positif en présence d'au moins deux des paramètres suivants [46] :

- **Fréquence respiratoire >22 cycles/min.**
- **Altération de la conscience.**
- **Pression artérielle systolique \leq 100 mm HG**

Tableau XII : Score SOFA

Calcul du score SOFA	0 point	1 point	2 points	3points	4points
PaO ₂ /FiO ₂	>400	301-400	201 -300	101 et VA	≤100 et VA
Plaquettes x10 ³ /mm ³	>150	101-150	51-100	21-50	≤20
Bilirubine, mg/L (mmol/L)	<12 (<20)	12-19 (20-32)	20-59 (33-101)	60-119 (102-204)	>120 (>204)
Hypotension	PAM≥70mmHG	PAM<70mmHG	Dopamine≤ 5 ou dobutamine (toute dose)	Dopa > 5 ou adrénaline≤0,1 ou noradré ≤ 0,1	Dopamine > 15 ou adr > 0,1 ou noradré >0,1
Score de Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	<6
Créatinine, mg/L (μmol/L) ou Diurèse	<12 (<110)	12-19 (110-170)	20-34 (171-299)	35-49 (300-440) ou <500mL/j	>50 (>440) ou<200mL/j

VA: Ventilation Assistée. PAM: pression artérielle moyenne [estimée par (PAS + 2 x PAD) / 3]. Amines: dose en μg/kg/mn.

❖ **Sepsis sévère :**

La notion de sepsis sévère définie auparavant dans les conférences de consensus de sepsis-1 et sepsis-2, a été abandonnée après l'avènement du sepsis-3 [46]. Elle était définie par un état d'infection présumé associée à un degré d'atteinte d'organe [45]. La nouvelle définition permet

ainsi de supprimer la confusion en pratique courante entre sepsis et sepsis sévère.

3. Choc septique :

Selon les définitions de Sepsis-1 et Sepsis-2, le choc septique était défini comme un état d'insuffisance circulatoire aiguë caractérisé par une hypotension artérielle persistante inexplicée par d'autres causes. L'hypotension était définie par une pression artérielle systolique inférieure à 90 mm Hg, une pression artérielle moyenne inférieure à 60 mm Hg ou une réduction de la pression artérielle systolique de plus de 40 mmHg par rapport à la pression artérielle de base, malgré un remplissage volumique adéquate.

Le choc septique dans le Sepsis-3 représente sous-groupe du sepsis avec des anomalies circulatoires et métaboliques importantes et une mortalité lourde d'environ 40%. Le tableau clinique du choc septique associe un sepsis, une hypotension persistante requérant des vasopresseurs pour maintenir une PAM \geq 65mmHg et une lactatémie >2 mmol/L malgré un remplissage adéquat.

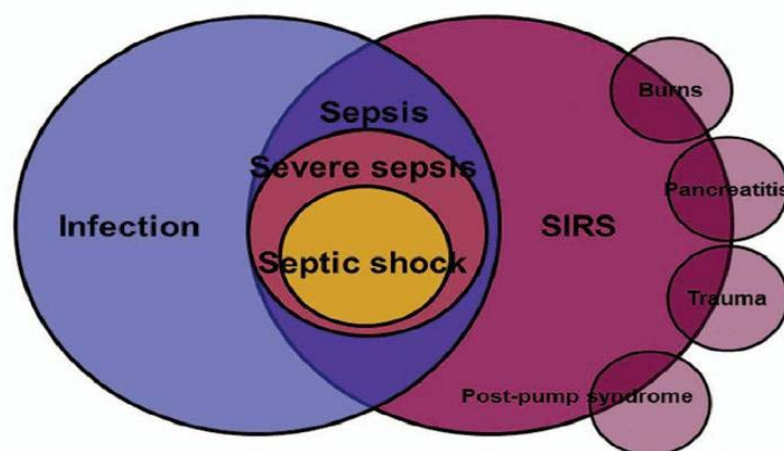


Figure 24 : Relation entre infection, SIRS, sepsis, sepsis sévère et choc septique (19)

II. Physiopathologie :

La conception classique de la physiopathologie de la septicémie repose en grande partie sur un postulat selon lequel la réaction inflammatoire déclenchée par le pathogène est considérée comme la principale responsable des défaillances d'organes et de la mortalité (48). Le sepsis sévère et le choc septique reflètent le résultat final des interactions complexes entre micro-organismes pathogènes et l'hôte, exprimant ainsi une réponse inappropriée par ce dernier à cette agression. Le «décalage» de la réponse de l'hôte à l'intensité du stimulus pathogène est l'élément clé qui décrit les événements physiopathologiques dans le choc septique qui aboutit soit à une lésion, soit à un dysfonctionnement d'organe, avec ou sans hypotension. Ce décalage génère un profil immunitaire qui pourrait être principalement pro- inflammatoire (SIRS), mixte (syndrome de réponse antagoniste mixte (MARS)) ou anti- inflammatoire (syndrome de réponse anti- inflammatoire compensatoire (CARS)) (49,21). Ceci montre que le concept de réaction inflammatoire systémique est indispensable pour le dépistage précoce de la septicémie. Les patients à risque peuvent ainsi déjà être identifiés sur la base de symptômes et signes cliniques et d'examens de laboratoire appropriés, indépendamment des résultats microbiologiques. Les critères de la réaction inflammatoire ne sont pas pour autant spécifiques et ne définissent pas l'étiologie de la réaction inflammatoire systémique (50, 51,52)

D'un point de vue physiopathologique plus récent, la septicémie chez l'homme a été largement étudiée, mais sa complexité laisse subsister des zones d'ombre. L'infection débute lorsqu'un pathogène dépasse les premières barrières défensives de l'hôte et se multiplie dans les tissus. Afin de contenir l'infection, l'organisme développe une réponse inflammatoire locale puis généralisée face à cette agression microbienne (SIRS). La chronologie de cette réponse est maintenant mieux connue : stimulation de facteurs non spécifiques comme la coagulation, l'activation du système du complément, l'activation et le recrutement de polynucléaires et l'activation des monocytes, cellules cruciales de l'immunité innée. Parmi les fonctions clés mises en jeu, l'expression et la libération des médiateurs pro- inflammatoires est une réponse normale de

défense de l'organisme afin d'orchestrer correctement la destruction des microbes, la cicatrisation des lésions tissulaires et la mise en place d'une immunité plus ou moins durable. De façon quasi-concomitante à cette réponse pro-inflammatoire, le système immunitaire suppressif va aussi générer des médiateurs anti-inflammatoires afin de moduler, voire d'arrêter la synthèse des médiateurs pro-inflammatoires et d'en atténuer les effets tissulaires (55). Cependant, le rôle du type d'agent pathogène dans cette interaction complexe hôte-pathogène est probablement très important et relativement peu étudié. La pathogénicité de bon nombre de microbes réside dans leurs capacités à résister et neutraliser les mécanismes de défense de l'hôte. De plus, ces mêmes pathogènes sont aussi capables de favoriser et d'utiliser pour leur propre compte les réponses immunitaires innée et acquise (40,41). De très nombreux composants bactériens, viraux ou parasitaires sont capables de moduler les réponses inflammatoires et les réponses immunes et cette capacité de modulation diffère d'un micro-organisme à l'autre, mais aussi selon les classes voire d'une souche à une autre. Le polymorphisme génétique des agents pathogènes associés au polymorphisme génétique humain et aux différents sites d'infection, rendent ainsi extrêmement complexes l'étude des mécanismes physiopathologiques des états septiques (42)

Au cours des dix dernières années, des avancées majeures ont été réalisées dans la compréhension des interactions entre hôtes et pathogènes. Ces avancées ont abouti à un modèle physiopathologique dans lequel le sepsis est considéré comme étant essentiellement la conséquence d'une réaction inflammatoire exacerbée et déclenchée par des constituants bactériens reconnus par les récepteurs de type Toll (*Toll-like receptors* : TLRs) (figure 34) Ils sont notamment exprimés par les cellules de l'immunité innée (polynucléaires, monocytes, macrophages, cellules dendritiques) et par les cellules en contact avec l'extérieur (épiderme, épithélia respiratoire et digestif, endothélium) (43,44,45).

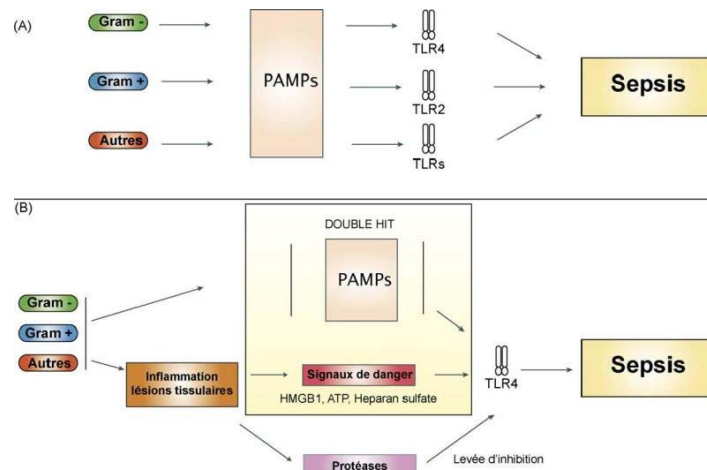


Figure 25 : Schéma de la physiopathologie du sepsis A) modèle classique, seules les interactions directes des dérivés bactériens sur les récepteurs de type Toll sont responsables de la réponse immunitaire de l'hôte et de la réaction inflammatoire. B) Des avancées récentes permettent de proposer un modèle plus complexe, dans lequel l'association de plusieurs signaux exogènes (dérivés bactériens) et signaux de danger endogènes déclenchent et entretiennent la réponse immunitaire. La multiplicité des signaux déclencheurs assure ainsi une meilleure régulation de l'activation du système immunitaire. (60)

Les TLRs jouent un rôle majeur dans l'initiation de la réponse inflammatoire précoce en réponse à une infection, mais également dans l'organisation et l'orientation de la réponse immunitaire adaptative en favorisant l'interaction entre les cellules présentatrices d'antigènes et

Les lymphocytes T (60,62,63). Les constituants bactériens qui sont identifiés par le système immunitaire inné de l'hôte et décrits comme des modèles moléculaires associés à un pathogène ou *pathogen associated molecular patterns (PAMPs)* ou plus exactement modèles moléculaires associés à un micro- organisme ou *microbial associated molecular patterns (MAMPs)*, car le mécanisme avec lequel le système immunitaire inné distingue entre les signaux des micro- organismes pathogènes et commensaux n'est pas clair. Les PAMPs comprennent : des composants lipopolysaccharides (LPS) de la paroi cellulaire des bactéries Gram négatives, l'acide lipotéichoïque (LTA) des bactéries Gram positives ainsi que le CpG ADN (ADN bactérien riche en cytosine-phospho-diester-guanosine) et les flagellines bactériennes (64,65). Cependant, certaines observations

expérimentales, soutenues par les résultats négatifs d'essais cliniques ont permis de faire évoluer ce concept et d'en affiner sa compréhension. Ainsi, la mise en évidence de molécules endogènes agissant comme des signaux de danger a notamment permis de mieux comprendre les mécanismes gouvernant la réponse immunitaire innée au cours du sepsis. Ces signaux, aussi appelés DAMPs (*damage associated molecular patterns*) vont stimuler certains récepteurs TLR, de façon synergique avec les dérivés bactériens, pour contrôler, amplifier et prolonger la réponse immunitaire induite par les MAMPs (Figure 34). Ces signaux de danger pourraient permettre d'expliquer la symptomatologie de la septicémie dans des infections à bactéries ne possédant pas de LPS ou dans des infections avec de faibles niveaux plasmatiques de LPS (60)

III. Diagnostic positif :

1. Anamnèse :

L'interrogatoire du patient et de l'entourage recherche les premiers arguments étiologiques, il doit déterminer :

- Le diabète, les pathologies cancéreuses, les patients présentant une déficience d'organe majeure, les granulocytopenies et les pathologies chroniques liées à une défaillance d'un ou de plusieurs organes en général.
- L'utilisation de corticostéroïdes au long cours et des immunosuppresseurs.
- La radiothérapie et les chimiothérapies anticancéreuses agressives.
- L'âge des patients : les sujets âgés sont à risque par rapport au sepsis en raison de leur capacité restreinte à résister à l'infection et de leur propension plus grande à avoir une pathologie sous-jacente. De même, les nouveau-nés sont plus disposés à développer un sepsis.
- L'utilisation croissante de dispositifs médicaux implantables (prothèse, pace-maker) ou encore l'emploi des cathéters et sondes urinaires.

- La large utilisation d'antibiotiques sans discrimination qui favorise la sélection de germes résistants.
- Un facteur probablement prédominant, encore mal compris, le terrain génétique sous-jacent favorisant tant les infections communautaires que les infections nosocomiales.

Et surtout une antibiothérapie récente (risque de décapiter une bactériémie) et la notion d'allergie connue à un antibiotique

2. Clinique :

2.1. Facteurs prédictifs d'un sepsis :

a. En fonction du type d'infection :

L'invasion du sang par un pathogène provient le plus souvent d'une source infectieuse focale s'étant disséminée, moins souvent d'une source primaire non identifiable. Si une endocardite mène toujours à une bactériémie, certains autres types d'infections restent localisés dans la plupart des cas. La source de l'infection nous permet de stratifier les patients en trois groupes : ceux à bas risque (< 14%), à moyen risque (19-25%) et à haut risque (38-69%) de bactériémie.

Tableau XIII: Prédiction de bactériémie en fonction du type d'infection [89]

Niveau de risque	Probabilité prétest de bactériémie
Faible <ul style="list-style-type: none">• Cellulite• Patients traités en ambulatoire• Pneumonie acquise en communauté• Fièvre acquise en communauté, avec hospitalisation ultérieure	0,02 0,02 0,07 0,13
Moyen <ul style="list-style-type: none">• Pyélonéphrite	0,19-0,25 selon les études
Haut <ul style="list-style-type: none">• Sepsis sévère• Méningite bactérienne aiguë• Choc septique	0,38 0,53 0,69

b. Prédiction de bactériémie en fonction de la température et des frissons

La présence ou l'absence d'état fébrile ne permet pas d'augmenter ou de diminuer la probabilité qu'un patient soit bactériémique. Les frissons et particulièrement solennels semblent plus prédictifs avec des RV+ allant jusqu'à 4,7 pour les frissons solennels [89].

Tableau XIV: Rapports de vrai semblance de certains paramètres à la positivité d'une hémoculture

Symptôme	RV positif	RV négatif
Frissons, patient fébrile	2,2	0,56
Frissons, tous les patients	1,6	0,84
Fièvre subjective	1	0,95
Frissons solennels	4,7	
Température, 37,8° à > 40° C	0,3 à 1,9	0,5 à 1,1

c. Scores pour la prédiction d'une bactériémie :

❖ **Score de Shapiro :**

Le score de Shapiro permet de stratifier les patients en :

- ❖ Bas risque : 0-1 point
- ❖ Risque intermédiaire : 2-5 points
- ❖ Haut risque : 6points ou plus

Tableau XV: Score de Shapiro [89]

Critères majeurs	Critères mineurs (1 point chacun)
<ul style="list-style-type: none">• Suspicion d'endocardite: 3 points• Température > 39,4° C: 3 points• Cathéter en place: 2 points	<ul style="list-style-type: none">• Température 38,3° à 39,3° C• Age > 65 ans• Frissons• Vomissements• Leucocytes > 18 G/l• Déviation gauche > 5%• Plaquettes < 150 G/l• Créatinine > 176 µmol/l

❖ **Score de Jones et Lowes :**

Tient en compte les critères du syndrome de réponse inflammatoire systémique (SRIS), retenu si \geq 2 critères parmi :

- ❖ Température $>38^{\circ}\text{C}$ ou $<36^{\circ}\text{C}$
- ❖ Fréquence cardiaque $>90\text{bpm}$
- ❖ Rythme respiratoire $>22/\text{min}$
- ❖ Glycémie $>7,7\text{mmol/l}$
- ❖ Leucocytose $>12\text{G/l}$ ou $<4\text{G/l}$ ou $>10\%$ de formes immatures
- ❖ Altération de fonctions supérieures
- ❖ Temps de recoloration capillaire $> 2\text{seconde}$
- ❖ Lactatémie $>2\text{mmol/l}$

Le score de Jones et Lowes prédit la positivité d'une hémoculture avec une sensibilité de 93 à 96%, si au minimum deux des critères sont présents.

A noter que la spécificité du score de Shapiro et celui de Jones et Lewis étant médiocre, leur utilisation nous permet principalement de renoncer aux hémocultures chez les patients à faible risque, mais n'évite pas les faux positifs [89].

3. Paraclinique :

3.1. Intérêt de la procalcitonine dans la prédiction d'une bactériémie :

La procalcitonine (PCT) est un marqueur fiable d'un sepsis, tant dans la population adulte que pédiatrique. Son rôle dans la détection d'une bactériémie est de mieux en mieux étudié, avec notamment plusieurs méta-analyses traitant de ce sujet.

Ainsi, il a été démontré que non seulement la valeur de la PCT permet de prédire une bactériémie, mais également – en fonction de son élévation – de suspecter le germe à l'origine de

l'infection. Une étude observationnelle, incluant plus de 35 000 patients, a montré qu'avec des seuils allant de $<0,5$ ng/ml, la PCT a une valeur prédictive négative (VPN) excellente, quel que soit le germe (de 98,4% pour les bactéries Gram positifs à 99,9% pour les anaérobies). La PCT médiane pour les bactériémies à Gram négatifs (germes associés à la plus haute élévation de la PCT) est à 2,2 ng/ml. En revanche, en l'absence de bactériémie, la médiane s'abaisse à 0,3 ng/ml. La sensibilité de la PCT est constamment supérieure à la spécificité, rendant ce test principalement utile pour exclure une bactériémie, et non pour la confirmer [89].

3.2. Intérêt de l'hémoculture dans le diagnostic des bactériémies :

Le diagnostic de la bactériémie se fait grâce à une hémoculture, prélèvement qui consiste à mettre en culture du sang circulant qui est normalement stérile, afin de pouvoir rapidement détecter et identifier l'agent infectieux responsable

Que l'on ait recours à des hémocultures surveillées de manière manuelle ou automatisée, on ensemence généralement deux flacons pour chaque prélèvement, un flacon aérobie et un flacon anaérobie. Puisque l'isolement de bactéries anaérobies dans les hémocultures est en constante diminution, l'opportunité du flacon anaérobie pourrait être discutée, sauf lors de suspicion d'infections à point de départ gynécologique, oto-rhino-laryngologique ou colorectal. Cependant, certaines souches de streptocoques et d'entérocoques ont une croissance facilitée par une atmosphère anaérobie, et de nombreuses bactéries aéro-anaérobies, voire aérobies strictes (*Pseudomonas aeruginosa* en présence de nitrates) peuvent cultiver en anaérobiose. Enfin, le principal gain tient au fait que l'ensemencement du flacon anaérobie double le volume de sang mis en culture [57].

a. Milieux d'hémoculture :

❖ Nature du milieu de l'hémoculture :

Actuellement, quatre milieux sont utilisés comme base [57] :

Trypticase soja pour les flacons SA[®] (aérobies) et SN[®] (anaérobies) dépourvus de charbon de l'automate BacT/ALERT[®] (bioMérieux), les flacons BD Bactec[®] des automates Bactec[®] (Becton

Dickinson) ainsi que pour les flacons manuels Signal® (Oxoid);

Trypticase soja + cœur-cervelle pour les flacons FA® (aérobies) et FN® (anaérobies) comportant du charbon de l'automate BacT/ALERT® (bioMérieux);

Trypticase soja enrichi en caséine-peptone supplémenté en acides aminés pour les flacons FA Plus® (aérobies), FN Plus® (anaérobies) et PF Plus® (pédiatriques) avec billes polymériques adsorbantes de l'automate BacT/ALERT® (bioMérieux);

Bouillon à base de peptones pour les flacons VersaTREK REDOX® de l'automate VersaTREK® (Trek Diagnostic System).

Tous ces milieux sont supplémentés avec des nutriments et des facteurs de croissance (vitamines, hémine, hydrates de carbone, cystéine, etc.) permettant la culture des microorganismes retrouvés en pathologie humaine.

❖ **Conditions physicochimiques et additifs présents dans les milieux :**

Quels que soient les systèmes et les flacons utilisés, on joue sur plusieurs facteurs [47] :

• **Pression :**

Les flacons utilisés pour les hémocultures sont fabriqués sous pression réduite (sousvide) permettant un ensemencement direct du flacon au travers d'un opercule.

• **Atmosphère :**

La plupart des flacons commercialisés comportent une atmosphère enrichie en CO₂ afin de favoriser la culture des germes exigeant une atmosphère enrichie en CO₂ tels que Brucella, Neisseria, Haemophilus, Streptococcus et Campylobacter, ce CO₂ constituant un facteur de croissance ou un facteur de départ pour de nombreuses espèces. En général, l'atmosphère des différents flacons est constituée de gaz tels que CO₂ et O₂ pour les flacons aérobies et CO₂ et H₂ ou N₂ pour les flacons anaérobies.

- **Anticoagulant :**

Le polyanéthol sulfonate de sodium (SPS) est l'anticoagulant le plus couramment utilisé dans les bouillons d'hémocultures. Le SPS possède des activités inhibitrices vis-à-vis de l'activité bactéricide du sérum, de la phagocytose cellulaire, du complément, du lysozyme, ainsi que sur certains antibiotiques tels que les aminosides. Toutefois, une concentration trop importante de SPS peut inhiber la culture de certaines souches de *Neisseria spp.*, de *Peptostreptococcus anaerobius* ou de *Streptobacillus moniliformis*.

- **Neutralisation des antibiotiques :**

Pour certains flacons d'hémocultures, les fabricants ajoutent soit des résines adsorbantes de cations (Bactec®), soit du charbon activé (BaCT/ALERT®), soit des billes polymériques adsorbantes échangeuses d'ions (BaCT/ALERT®), substances qui auraient un effet neutralisant sur les antibiotiques. De toute manière, si le patient reçoit des antibiotiques, il est toujours conseillé de pratiquer le prélèvement à la « vallée », c'est-à-dire juste avant réadministration des

antibiotiques, moment où leurs concentrations sanguines sont les plus faibles, ou après avoir pratiqué une « fenêtre thérapeutique ». Les résines interviendraient aussi dans la lyse cellulaire, permettant la libération des bactéries intracellulaires.

b. Prélèvement pour hémoculture :

- **Mode de prélèvement :**

Le prélèvement doit être réalisé après une aseptie rigoureuse. Toute contamination par des germes cutanés ou ambiants peut compromettre la culture de la bactérie recherchée et/ou gêner l'interprétation du résultat. Le port de gants est indispensable mais, au préalable, le préleveur doit impérativement se laver les mains avec une solution hydro-alcoolique. L'asepsie de la peau du patient au point de ponction doit être une antiseptie cutanée en cinq temps :

- Détertion avec le savon doux stérile ;
- Rinçage à l'eau stérile ;

- Séchage avec des compresses stériles;
- Application d'un antiseptique majeur alcoolique (PVPI ou Chlorhexidine);
- Séchage spontané

Le bouchon du flacon d'hémoculture est désinfecté soigneusement avec de la polyvidone iodée. Le système de prélèvement est généralement constitué d'une tubulure munie à chaque extrémité d'une aiguille, l'une servant à pratiquer la ponction veineuse et l'autre l'inoculation du flacon grâce à un adaptateur.

La ponction veineuse constitue la méthode de prélèvement habituelle des hémocultures, les autres sites de ponction, cathéters veineux ou artériels par exemple, augmentant la fréquence des contaminants. Cependant, il faut bien garder à l'esprit que la peau possède une flore bactérienne où l'on retrouve principalement des staphylocoques et apparentés (*Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophytiques*, *Micrococcus*, etc.) et des corynébactéries aérobies. Le nombre de bactéries cutanées est estimé entre 10^2 et 10^5 par cm^2 , d'où l'importance d'une asepsie rigoureuse avant le prélèvement pour éviter tout risque de contamination des flacons par ces germes [57].

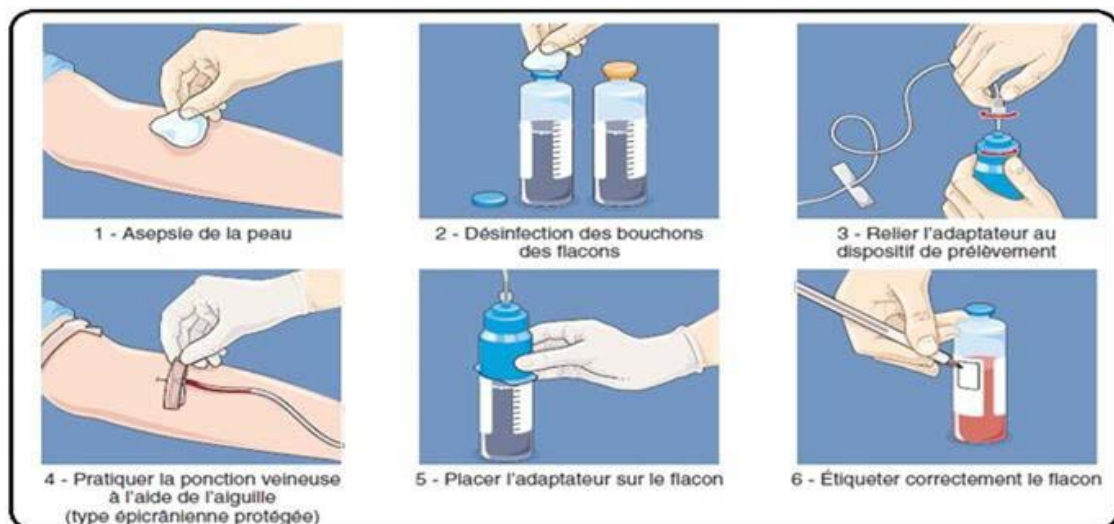


Figure 26 : Procédures de prélèvement direct des flacons d'hémoculture [58]

- **Moment du prélèvement :**

Pour éviter tout faux négatif, il est impératif de pratiquer le prélèvement le plus tôt possible au cours de la maladie et surtout avant toute mise en route d'antibiothérapie. Dans le cas contraire, une fenêtre thérapeutique de 48 à 72 heures est recommandée. À l'exception des infections du système vasculaire où la bactériémie est continue, le moment du prélèvement est important car la bactériémie est discontinue, ce qui peut modifier la qualité du prélèvement. Les signes évocateurs sont très variés, notamment en fonction du foyer initial; toutefois, on peut retrouver :

- Des fièvres prolongées et inexpliquées ou évoluant par pics, signant la présence de bactéries dans le sang
- Une hypothermie notamment pour des septicémies à cocci ou bacilles à Gram négatif
- témoignant d'un état infectieux sévère
- La survenue de frissons, de marbrures ou de sueurs Une splénomégalie ;
- Une suspicion d'endocardite ;
- Tout signe traduisant un trouble de la coagulation sanguine, tel un purpura
- **Nombre et volume des prélèvements :**

Chez l'adulte, un volume de 10 ml constitue donc un minimum et un doublement du volume (20 ml) augmente de 30% la positivité des prélèvements. Deux à trois hémocultures par 24 heures sont généralement suffisantes pour isoler le germe responsable de la bactériémie. Un grand nombre de prélèvements exposant à une augmentation du risque de contamination, il est recommandé de ne pas dépasser 3 hémocultures par 24 heures, mais aussi maintenant de les réaliser en un seul et unique prélèvement, les trois à la suite. Chez le nourrisson et l'enfant, la densité bactérienne étant plus élevée (souvent supérieure à 1000 UFC/ml), un volume de 1 à 2 ml est suffisant [57].

- **Acheminement Les hémocultures :**

Les hémocultures doivent être acheminées le plus rapidement possible au laboratoire afin d'être introduites dans l'automate le plus tôt possible. Chaque hémoculture doit être étiquetée correctement et accompagnée d'une demande sur laquelle figureront : nom, prénom et date de naissance du patient; le service d'origine ; la date, l'heure et le mode de prélèvement (veineux direct ou sur cathéter ou autre dispositif) ainsi que la température du patient au moment où il est effectué, sans oublier de mentionner une éventuelle antibiothérapie et la nature de celle-ci.

- **Incubation des flacons :**

Une incubation à 35 °C pendant 7 jours est recommandée pour les systèmes manuels. La lecture est visuelle et doit être réalisée deux fois par jour au cours des 48 premières heures, puis seulement une fois par jour pour les 5 jours suivants. L'observateur va rechercher la présence d'un trouble du milieu provoqué par la croissance bactérienne, d'une hémolyse, d'un coagulum, de colonies au fond du flacon ou de production de gaz. En revanche, pour les systèmes automatisés, une incubation de 5 jours suffit. Au-delà de ce délai, les bactéries détectées sont généralement des contaminants qui étaient en très faible quantité.

c. Traitement des flaconsensemencés :

Devant toute suspicion de positivité (système manuel ou automatique), un examen microscopique et une mise en culture sont réalisés sur les flacons [57].

- **Examen microscopique :**

Le bouillon est prélevé de façon aseptique après avoir désinfecté l'opercule du flacon à l'aide d'une seringue et du dispositif fourni par le fabricant. L'examen du bouillon est effectué en deux étapes :

- Etat frais afin d'observer la morphologie et la mobilité des bactéries;
- Coloration de Gram pour déterminer plus précisément la morphologie des bactéries, cocci ou bacille et leur affinité tinctoriale, caractère à Gram positif ou négatif.

Pour certains germes, on peut avoir recours à d'autres colorations (bleu de méthylène, acridine orange, etc.). Tout résultat positif de l'examen direct doit être communiqué rapidement au clinicien, notamment si plusieurs flacons sont positifs, si l'examen direct est évocateur de Clostridium ou de Neisseria, ou si les patients sont à risque (immunodéprimés, aplasiques, tableaux de choc, etc.). L'examen direct, morphologie et Gram, peut être trompeur et l'orientation initiale pourra être corrigée lors de l'examen direct des repiquages [57].

- **Ensemencement :**

Les repiquages des flacons suspects sont effectués en fonction de l'examen direct. Les cultures étant généralement mono microbiennes, des milieux gélosés non sélectifs seront utilisés : géloses Columbia avec 5% de sang incubées en aérobiose pendant 48 heures et en anaérobiose pendant 5 jours, géloses au sang cuit enrichies placés sous CO₂ pendant 48 heures lorsqu'un Haemophilus spp. ou une Neisseria spp. sont évoqués. Si à l'examen direct un mélange de bactéries est suspecté, des milieux sélectifs pourront alors être utilisés : la gélose ANC (acide nalidixique–colistine) ou la gélose CAP (colistine–aztréonam) pour isoler sélectivement les bactéries à Gram positif et la gélose CLED pour les bacilles à Gram négatif. Le choix de l'atmosphère (aérobiose, CO₂ ou anaérobiose) pour l'incubation de ces milieux à 37 °C dépend du diagnostic présomptif. Les flacons sont conservés à température ambiante pour un éventuel nouveau repiquage ultérieur si les cultures sont restées négatives

d. Interprétation des résultats de l'hémoculture :

- ❖ **Hémoculture positive :**

L'interprétation des hémocultures positives est simple si le même germe est retrouvé à partir de plusieurs prélèvements et si la clinique est évocatrice. De plus, lorsqu'un pathogène spécifique (Brucella spp., Listeria spp., Salmonella spp., Haemophilus spp., Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, Groupe HACEK, Pasteurella spp., Campylobacter spp., Bacteroides spp. et éléments fongiques) est retrouvé, même à partir d'une seule hémoculture positive, l'étiologie de l'infection ne fait aucun doute. En revanche, lorsqu'un germe commensal est isolé sur les deux

flacons d'une seule hémoculture ou à partir d'un seul flacon, le bactériologiste doit tenter de faire une distinction entre souillure et véritable infection. Cette interprétation est impossible sans une étroite collaboration avec le clinicien, ce d'autant plus que les germes isolés (dans certains cas *Staphylococcus aureus* et souvent staphylocoques à coagulas négatif, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. et *Propionibacterium* spp.) appartiennent généralement à la flore cutanée et/ou environnementale. Par conséquent, la réalisation d'une hémoculture unique devrait être bannie de la pratique clinique puisque son interprétation en cas de positivité est très délicate. Ce problème se rencontre aussi lorsque le patient est porteur de matériel étranger, cathéter et prothèse, puisque des staphylocoques à coagulas négative, particulièrement *Staphylococcus epidermidis*, sont majoritairement isolés d'hémocultures [57].

❖ **Hémoculture négative :**

Les hémocultures négatives signent le plus souvent une absence réelle de bactéries dans le sang. Cependant, devant un contexte clinique évocateur de sepsis, d'endocardite infectieuse ou de tout autre syndrome infectieux, il faut toujours penser à une fausse négativité. Les causes d'échec de cultures sont nombreuses : prélèvement effectué au moment non optimal, trop tardivement au cours de la maladie ; prélèvement pratiqué sous antibiothérapie ; quantité insuffisante de sangensemencé ; infection localisée sans bactériémie ; micro-organisme de culture impossible, ou enfin origine non bactérienne. Des repiquages négatifs d'hémocultures peuvent aussi être dus à un micro-organisme de culture difficile, le choix des conditions de subcultures n'étant pas adapté et/ou le temps de culture trop court. En effet, pour certains microorganismes ayant des exigences nutritives particulières, les subcultures pourront se faire sur des milieux différents et en atmosphère adaptée en fonction de la morphologie et du contexte clinique, notamment pour les bactéries comme *Brucella* spp., *Campylobacter* spp., *Legionella* spp., *Mycoplasma* spp., les bactéries du groupe HACEK, ou des bactéries anaérobies[57].

3.3. Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic infectieux

Bien que de nombreuses techniques de microbiologie demeurent traditionnelles (examen direct, culture bactérienne, sérologie, tests biochimiques), la biologie moléculaire a pu s'implanter rapidement dans les laboratoires de microbiologie clinique.

L'étude des agents infectieux à l'aide des outils de biologie moléculaire est ainsi devenue indispensable dans certaines indications.

a. Techniques de la biologie moléculaire :

❖ **Séquençage :**

Les acides nucléiques sont constitués d'un enchaînement de nucléotides. Leur séquençage consiste donc à déterminer cet enchaînement. À l'origine, ces méthodes ne permettaient de séquencer que de petits morceaux de génome, mais depuis, avec notamment l'arrivée de la PCR, les techniques ont gagné en rapidité. Aujourd'hui les techniques de séquençage sont même dites « haut débit ». Ce séquençage pourrait permettre de généraliser à tous les secteurs de la médecine l'utilisation des données génétiques, pour pratiquer une médecine plus précise et individualisée.

❖ **Électrophorèse :**

Électrique. Le transfert en biologie moléculaire désigne un ensemble de techniques permettant de rechercher la présence d'une molécule déterminée (ADN, ARN, protéines...) dans un milieu. Elles consistent à transférer les molécules à analyser sur un support solide (par exemple une membrane de nitrocellulose ou de nylon) puis à utiliser une sonde spécifique (fragment d'ADN ou d'ARN, anticorps, etc.) de la cible recherchée pour la détection.

❖ **La PCR (Polymerase Chain Reaction) [62]**

L'amplification en chaîne par polymérisation (PCR) est une méthode de biologie moléculaire d'amplification génique *in vitro*, qui permet de dupliquer en grand nombre (facteur de multiplication de l'ordre du milliard) une séquence d'acides nucléiques connue à partir d'une faible

quantité d'acide nucléique servant de matrice. La PCR est une technologie qui a bouleversé la biologie moléculaire.

C'est une technique basée sur une répétition de cycles de transition de température selon les trois étapes suivantes :

- ❖ Dénaturation : séparation des deux brins de l'acide nucléique à amplifier grâce à une température élevée (>95 °C). Cette étape ne vaut que pour l'amplification de l'ADN, l'ARN étant par nature simple brin ;
- ❖ Hybridation de l'amorce (fragment d'acide nucléique complémentaire d'un morceau de la séquence à amplifier) sur la séquence à amplifier à une température d'environ 60°C ;
- ❖ Elongation de l'acide nucléique grâce à la polymérisation de nucléotides. Cette étape utilise des enzymes appelées « polymérases » et se déroule à 72 °C. Cette technique est automatisée sur des appareils capables de gérer plusieurs cycles de températures : les thermocycleurs. La détection des produits issus d'une PCR peut se faire via une électrophorèse. Les fragments d'acides nucléiques, de charges négatives, migrent sous l'influence d'un champ électrique. En utilisant un agent intercalant comme le bromure d'éthidium et une lampe UV, chaque fragment d'acide nucléique amplifié peut être observé. Bien que la fluorescence soit en partie proportionnelle à la quantité d'acide nucléique amplifié, cette méthode n'est pas quantitative.

Plusieurs autres techniques ont dérivé de la PCR, parmi elles :

- La PCR multiplexe, permettant l'amplification, dans un même tube, de fragments différents d'ADN ;
- La PCR quantitative (ou PCR en temps réel), permettant de calculer, à chaque cycle, la quantité d'acide nucléique amplifié, grâce à l'utilisation de sondes fluorescentes comme le SYBGreen. Cette méthode utilise donc des thermocycleurs particuliers.

❖ **La TMA (Transcription Mediated Amplification) :**

La TMA est une technique d'amplification isotherme des acides nucléiques. Elle est inspirée des mécanismes naturels de la transcription et emploie deux enzymes successives. La première est une transcriptase inverse (reverse transcriptase ou RT), qui recopie le brin d'acide nucléique servant de matrice en ADNc (dit complémentaire) à partir d'une amorce spécifique. Cette reverse transcriptase dégrade ensuite la matrice grâce à son activité RNase (dégradation d'ARN). La seconde enzyme est une ARN polymérase qui recopie l'ADNc nouvellement synthétisé en ARN de façon exponentielle. Cette technique permet une accumulation d'ARN identiques à un ARN cible (amplification d'un facteur 100 en quelques cycles).

4. Intérêt de la biologie moléculaire :

Les techniques conventionnelles de détection des pathogènes sont basées sur :

- La culture bactérienne et l'identification de la souche à l'aide d'antibiogrammes ;
- La sérologie qui recherche les anticorps produits par le donneur à la suite du contact avec un agent pathogène (par exemple VIH, CMV, VHB, VHC...) et les anticorps anti-HBs. Ces anticorps sont recherchés par des tests immuno-enzymatiques (Elisa, IF, Western-Blot, EIA, etc.).

Les cultures bactériennes ont l'inconvénient d'être longues à mettre en place et nécessitent des milieux souvent bien particuliers. Certaines souches sont même difficilement cultivables.

En ce qui concerne la sérologie, l'inconvénient majeur réside dans « la fenêtre sérologique ».

C'est le temps pendant lequel tout contact avec un agent pathogène ne pourra pas être connu par la recherche d'anticorps, car leur production ne s'est pas encore mise en place.

L'avantage de la biologie moléculaire est de s'affranchir de ces différentes difficultés afin d'obtenir une réponse plus rapide et au plus près de l'infection. Ainsi, lors de la recherche des ARN des virus VIH, VHC et VHB par biologie moléculaire, la fenêtre sérologique diminue de 50% pour le VIH (22 jours à 11 jours), de 90% pour le VHC (66 jours à 7 jours) et de 45% pour le VHB (56 jours à

31 jours). Par ailleurs, là où d'autres techniques ne peuvent travailler que sur un nombre limité de type d'échantillons (sang, urines), la biologie moléculaire travaille sur un nombre beaucoup plus important de type d'échantillons (sperme, salive, LCR, etc.).

IV. Traitement :

1. But :

Les buts du traitement consistent à :

- Stériliser le sang en éliminant le(s) germe(s) pathogène (s)
- Traiter la porte d'entrée
- Eviter la survenue des complications, les prendre en charge dans le cas échéant.
- Traiter les localisations secondaires éventuelles

2. Moyens :

2.1. Antibiothérapie :

Elle en est la base, et nécessite une maîtrise de la prescription. Le principe de l'antibiothérapie comme dans toutes les infections sévères bactériennes repose sur une association de deux antibiotiques actifs sur la souche, à bonnes doses, de façon précoce, initialement administrée par voie intraveineuse, pendant au moins trois semaines. Cette antibiothérapie devra être guidée par l'étude du germe in vitro. Le but d'associer plusieurs antibiotiques est :

- D'obtenir un effet synergique,
- D'augmenter la vitesse de bactéricidie,
- D'élargir le spectre d'activité.
- L'association d'antibiotiques présente cependant des inconvénients, à savoir un coût plus élevé, le cumul des effets secondaires des classes médicamenteuses associées, le risque d'émergence de germes de plus en plus résistants à plusieurs classes

d'antibiotiques. Le choix de l'antibiothérapie dépend :

- Du spectre d'activité contre les bactéries pouvant être responsables de l'infection en cause
- Des caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamique, laissant prévoir une pénétration adéquate au site de l'infection et une activité suffisante en fonction de la gravité de l'infection
- Le moindre risque potentiel d'accident toxique ou allergique
- Le minimum de dommage écologique.

2.2. Moyens de réanimation :

Les différents moyens de réanimation sont :

- L'oxygénation
- L'intubation trachéale
- La ventilation assistée
- Le cathétérisme veineux central et périphérique
- La sonde urinaire et naso-gastrique
- Les catécholamines.

2.3. Moyens Chirurgicaux :

Ils s'appliquent généralement à la porte d'entrée et éventuellement aux localisations secondaires septiques :

Retrait d'un dispositif intravasculaire infecté, d'une sonde vésicale, ou d'une sonde d'intubation incision d'un abcès, drainage chirurgical, ponction, parage d'une plaie, une escarre.

3. Indications :

En l'absence de choc septique, le choix de l'antibiotique dans le traitement empirique repose sur la connaissance du site de l'infection qui oriente d'emblée vers un agent pathogène, et de l'épidémiologie locale des agents pathogènes [107], ainsi :

- Si la porte d'entrée est urinaire, faisant évoquer une infection par une bactérie Gram négatif (ex : Escherichia coli) il sera utilisé de préférence l'association : Céphalosporine de 3ème génération (céfotaxime ou ceftriaxone) + gentamicine en parentérale.
- Si la porte d'entrée est cutanée, l'antibiothérapie ciblera avant tout une bactérie Gram positif, telle que le staphylocoque. Les associations seront alors, soit une pénicilline M en IV + gentamicine, soit avec glycopeptides (vancomycine) en IV en cas de suspicion de méticillino-résistance.
- S'il s'agit d'une brûlure cutanée, l'orientation se fera vers le Pseudomonas, le traitement sera l'association ceftazidime+ tobramycine ou ceftazidime + fluoroquinolone.
- En l'absence de tout foyer évident, l'association de préférence sera C3G+ métronidazole.
- La poursuite de l'antibiothérapie sera adaptée en fonction des résultats de l'antibiogramme.

En présence d'un choc septique, en plus du traitement antibiotique de base, des gestes d'urgence doivent être exécutés avec plus de rapidité et de précision, chez un malade bien installé à plat sur un lit, jambes légèrement surélevées, il faudra obligatoirement veiller à:

- La perméabilité des voies aériennes à la ventilation,
- L'oxygénation par masque, par sonde nasale, ou ventilation assistée après intubation si nécessaire, sous contrôle de la gazométrie artérielle,
- Le maintien d'une PaO₂ au-dessus de 60mmhg,
- Remplissage vasculaire

- Si l'objectif de PAM supérieure à 65 mmHg n'est pas atteint, le recours aux vasopresseurs et en particulier à la noradrénaline est indiqué.
- En fonction du tableau hémodynamique avec en particulier une forte composante de défaillance cardiaque la dobutamine peut être utilisée [61].

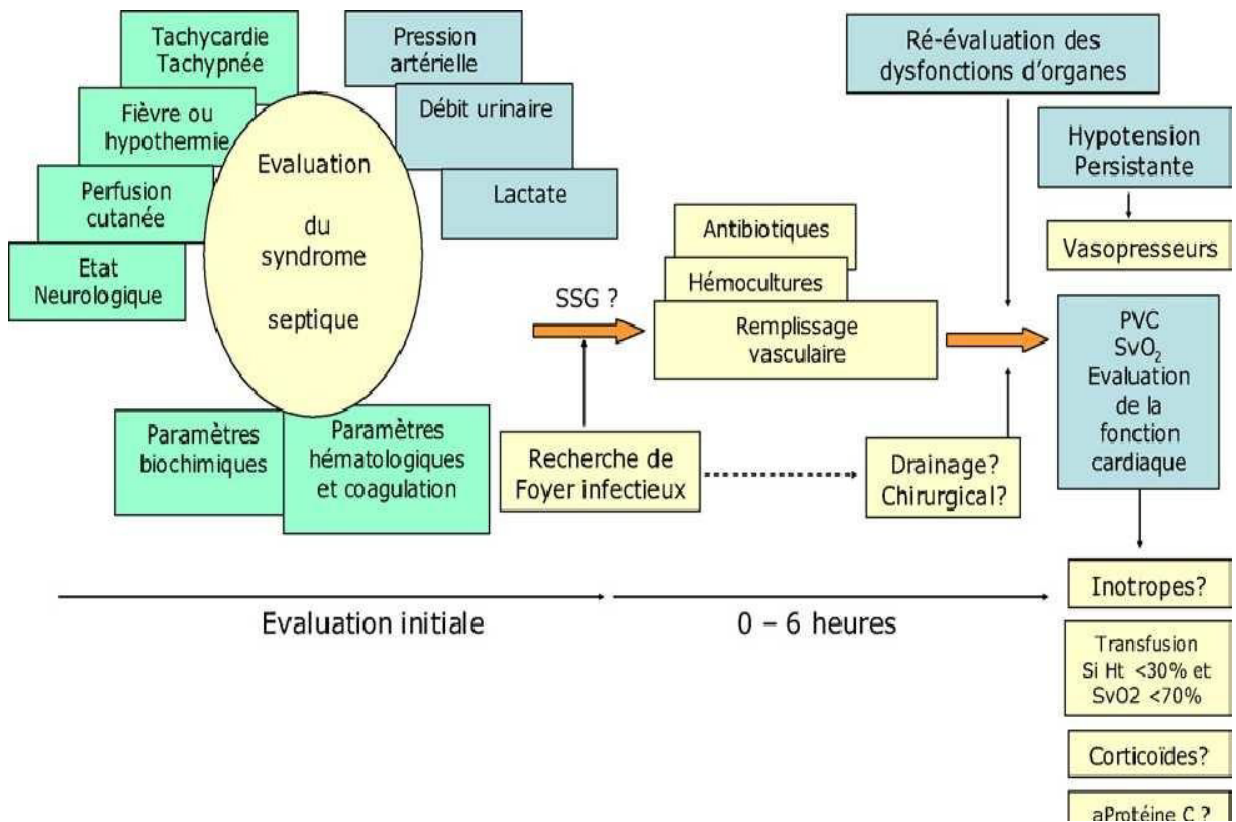


Figure 27: Démarche diagnostique et thérapeutique initiale devant un syndrome septique (62)

Discussions de nos résultats

À travers cette étude, on a évalué l'impact qu'apporte la recherche simultanée de 28 agents pathogènes par la technologie FilmArray dans le diagnostic étiologique des bactériémies au sein du Laboratoire de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech par rapport aux méthodes microbiologiques conventionnelles particulièrement la culture. Ce travail a permis alors une estimation du gain potentiel que procure cette innovation dans l'ensemble de la prise en charge des bactériémies, les sepsis et les choc septiques.

I. Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic des bactériémies :

Une bactériémie est définie par la présence de bactérie(s) viable(s) dans le sang) qui peut entraîner une morbidité et une mortalité importantes. Un diagnostic rapide est essentiel pour l'optimisation des résultats et de l'utilisation des ressources, mais la confirmation d'une étiologie infectieuse est souvent difficile et prend du temps.

Ces dernières années, des tests d'amplification d'acide nucléique (TAAN) (par exemple, PCR en temps réel) ont été développés pour permettre la détection et l'identification rapides d'agents infectieux dans les prélèvements sanguins. Cependant, à ce jour, ces tests ont généralement ciblé un seul (ou parfois deux) pathogène (s), et par conséquent, les prestataires doivent commander un certain nombre de tests ensemble, en fonction de la présentation clinique du patient et d'autres résultats de laboratoire et de radiologie.

Les tests moléculaires multiplex représentent une avancée dans la capacité des laboratoires cliniques à détecter et à identifier rapidement et de manière fiable les causes des maladies infectieuses.

Le panel FilmArray BCID, entièrement automatisé, détecte et identifie simultanément 27 pathogènes bactériens et fongiques en environ une heure directement à partir de 200 µl de sang

- Les bactéries à gram positif : Enterococcus, Listeria monocytogenes Staphylococcus, Staphylococcus aureus, Streptococcus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus pyogenes et

Streptococcus pneumoniae.

- Les bactéries à gram négatif : *Acinetobacter baumannii*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobacteriaceae, *Enterobacter cloacae* complex, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*, *Serratia marcescens*
- Les levures sont : *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* et *Candida tropicalis*.

La plus grande étude connue évaluant la performance du panel BioFire FilmArray BCID constitue un essai contrôlé multicentriques réalisés par Salimnia et al. en 2016 dans le États -Unis d'Amérique (É.-U.). Dans cette étude, 2207 échantillons de hémoculture positifs (1568 échantillons cliniques et 639 échantillons ensemencés) ont été testés avec le panel BioFire FilmArray BCID et méthodes d'identification phénotypiques. De même que les résultats de notre l'étude, l'essai a montré une sensibilité et une spécificité globales élevées pour détection d'organismes. La sensibilité et la spécificité de chaque organisme cible sur le panel dépassaient 96% et 99% respectivement. (86)

La détection d'organismes par le panel FilmArray BCID était précise à 92,6% lorsque les organismes qui figuraient dans le répertoire de la trousse ont été pris en considération, comparativement aux méthodes combinées (méthode de référence utilisée dans le laboratoire d'étude). La détection des marqueurs de résistance antimicrobienne fournis par le panel et la méthode de référence ont démontré une uniformité de 100%. Des hémocultures avec un seul organisme ont été identifiées avec précision à 93,8% par FilmArray, tandis que des hémocultures avec plus d'un organisme ont été identifiées à 85,7%. (86)

II. Épidémiologie :

1. Sexe :

Durant la présente étude, le sexe-ratio (H/F) est de 2,5. Ce résultat est similaire à celui de l'étude Marocaine réalisée à l'hôpital militaire de Meknès (H/F=2,1) et proche du résultat retrouvé dans l'étude Ivoirienne (H/F=1,87) [74,77]. La prédominance masculine a été objectivée également dans d'autres séries mais avec des sexe-ratios différents [72,76,78]. Cependant, les deux travaux qu'ont été menés par Lakhe N. et al au Sénégal [65] et par Bitew A. et al en Éthiopie [73] ont notés une légère prédominance féminine avec des sexe-ratios respectivement de 0,79% et de 0,83%.

En effet, la plupart des maladies infectieuses semblent inégalement être réparties entre les deux sexes [79]. Ce dimorphisme sexuel est confirmé par plusieurs études épidémiologiques objectivant une prédominance masculine des patients présentant un sepsis [80,81,82]. Toutefois, les différences liées aux expositions professionnelles, au style de vie et aux activités de loisirs sont des raisons plausibles pour expliquer ce dimorphisme entre les deux sexes. Les variabilités génétiques et des hormones sexuelles entre les deux sexes peuvent également participer à ce dimorphisme [81]. En fait, Le chromosome X, code pour un certain nombre de gènes essentiels impliqués dans la régulation de l'immunité, notamment les récepteurs de type Toll 7 et 8 ; le FOXP3 qui est un facteur de transcription pour les cellules T régulatrices; la CD40L (CD154) qui est une molécule appartenant à la famille des facteurs de nécrose tumorales (TNF); et la CD132 (ou IL-2R γ), dont la mutation de son gène peut être responsable du déficit immunitaire combiné sévère lié à l'X [83]. Enfin, il a été démontré que les hormones sexuelles régulent la transcription de nombreux gènes impliqués dans le développement et la maturation des cellules immunitaires, la régulation des réponses immunitaires et la modulation des voies de signalisation immunitaires. Ces différents facteurs peuvent influencer sur la réponse immunitaire aux agents pathogènes [84].

Le tableau (XI) résume les résultats de différentes études en fonction des taux de bactériémies par rapport au sexe des patients :

Tableau XVI: Le sexe-ratio des bactériémies selon différentes études

Séries	Pays	Sexe Masculin (%)	Sexe féminin (%)	Sexe-ratio (H/F)
Maman R. [74]	Maroc (Meknès)	67,6	32,4	2,1
Akoua-Koufi C. et al [77]	Côte d'ivoire	65,1	34,9	1,87
Mnif C. [76]	Tunisie	60,37	39,63	1,64
Takehita N. [72]	Japan	60,6	39,4	1,53
Bitew A. et al [73]	Ethiopie	45,5	54,5	0,83
Lakhe N. et al [75]	Sénégal	44,3	55,7	0,79
Banik A. et al [78]	Inde	55,2	44,8	1,23
Notre série	Maroc (Marrakech)	71	29	2,5

2. Services demandeurs :

Dans notre étude, le service le plus demandeur du test FilmArray BCID panel en hospitalier était le service de réanimation médicale (79.9% des échantillons traités), suivi du service de réanimation Covid (19.2%).

De même, dans l'étude sud africaine de R. Rule et al., a évalué 78 flacons d'hémoculture positifs uniques obtenus auprès de patients septiques gravement malades. Trente-neuf hémocultures ont été patients admis dans l'unité de soins intensifs chirurgicale, 20 dans l'unité de soins intensifs médicale, 9 de l'unité de soins intensifs neurochirurgicale, 9 de l'unité de soins intensifs coronaire et 1 de l'unité de soins intensifs cardiothoracique. [85]

III. Evaluation des performances diagnostiques de la technologie

FilmArray :

1. Taux de positivité :

Parmi 28 échantillons, nous avons détecté au moins 1 pathogène dans 21 échantillons grâce au panel BCID FilmArray® soit un taux de positivité de 75%.

L'analyse moléculaire des hémocultures permet donc une augmentation significative du taux de positivité par rapport aux méthodes conventionnelles déjà testés dans d'autres publications, notamment grâce à sa sensibilité supérieure et à la variété de pathogènes ciblés par une seule analyse.

Le panel BioFire FilmArray BCID a obtenu des résultats remarquables dans l'étude R.Rule et al, avec une sensibilité globale élevée de 96,5% et une spécificité de 99,7%. étude, par rapport à l'étalon-or, l'hémoculture conventionnelle. Ces résultats sont cohérents avec ceux d'autres études (86 ; 87 ; 91 ; 92 ;104).

2. Co-détections :

Le panel FilmArray BCID a la capacité à détecter à la fois des cibles bactériennes et fongiques dans la même analyse.

Dans notre série d'échantillons, le test FilmArray a pu détecter 7 échantillons qui contiennent plusieurs agents pathogènes, soit un taux de co-infection de

25% de la totalité des infections.

Dans l'étude de Salimnia et al, FilmArray BCID est capable de détecter des organismes dans des cultures mixtes. Parmi les échantillons cliniques prospectifs, (5,2%) contenaient des organismes multiples (deux à quatre) détectables par la BCID (86). Cependant, d'autres études sur la BCID ont montré que la présence de plusieurs organismes favorise l'obtention de résultats discordants (86,7)..

Les hémocultures polymicrobiennes se produisent de plus en plus fréquemment. et sont associées à des taux de mortalité élevés (89). Il est impératif que les organismes à l'origine des infections polymicrobiennes soient détectés rapidement et avec précision. Bien que les performances du panel BCID BioFire FilmArray performances soient excellentes dans l'ensemble, un certain nombre d'études ont montré que la précision de la détection des organismes dans les cultures polymicrobiennes n'est pas aussi que dans les cultures monomicrobiennes (90 ; 91, 92 ; 93). ont démontré une sensibilité de 93,8% pour les cultures monomicrobiennes. (91). Ceci est en contraste avec les cultures polymicrobiennes qui ont démontré une sensibilité plus faible de 87,7% (92).

Les types d'associations peuvent poser un problème d'interprétation et une difficulté dans le choix de mise en place d'un traitement. Le développement d'analyses moléculaires permettant la quantification des pathogènes serait aussi un vrai plus pour palier à ce problème.

3. Détection de pathogènes :

Concernant les types d'agents pathogènes détectés dans notre étude, les bactéries étaient prédominants avec 91% d'échantillons positifs, les levures sont minoritaires avec 9% d'échantillons positifs.

Notre résultat concorde avec différentes études [94], [95] et [96], où les agents infectieux responsables de bactériémie sont prédominés par les bactéries réalisant 69.6%, 96.4% et 86.6% des échantillons positifs respectivement ; suivis des levures à 31.4%, 3.6% et 13.4% des échantillons positifs respectivement ;

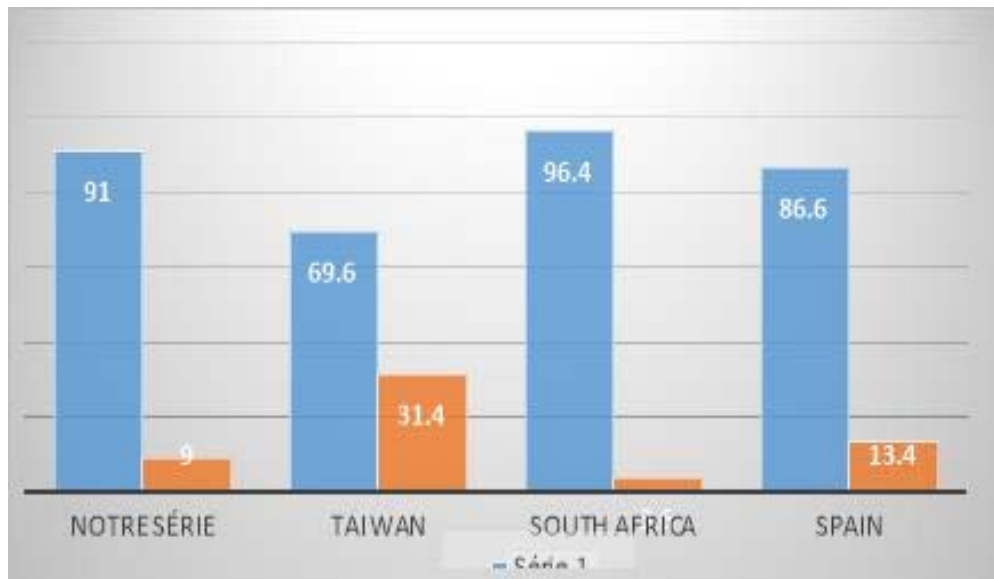


Figure 28 : Répartition des agents pathogènes selon différentes études.

4. Bactéries

➤ Staphylococcus aureus :

Le staphylococcus aureus était le plus fréquent parmi les bactéries détectées dans notre étude avec un taux de positivité de 28%.

Similairement, la multicentrique américaine de Salmania et al. et une étude taiwanienne récente en 2020 ont trouvé que le Staphylococcus aureus occupait la première place dans la liste des bactéries détectées par FilmArray BCID avec un taux de positivité de 38.5% et 13.7% respectivement.

Par contre, dans une étude menée en Etat-Unis le Staphylococcus aureus –avec un taux de positivité de 14,9% n’était pas l’agent infectieux le plus incriminé dans les bactériémies diagnostiquées par test FilmArray BCID [97].

Tableau XVI: Taux de positivité du Staphylococcus aureus selon les études.

Série	Pays	Taux de positivité du Staphylococcus Aureus
Notre étude	Maroc	26%
Salmania et al, 2016	Etats-Unis	38.5%
Chun et al, 2020	Taiwan	13,70%
A.J. Blaschke et al,2012	États-Unis	14.9%

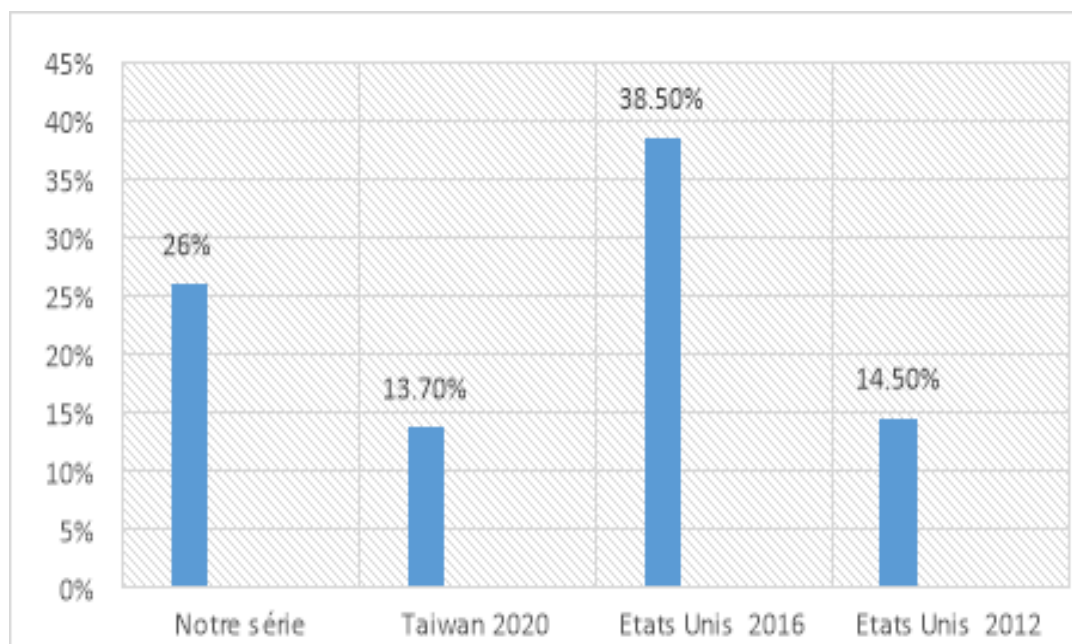


Figure 2 9 : Taux de positivité du staphylococcus aureus selon différentes études.

➤ **Acinitobacter Baumni :**

3 échantillons ont été positifs à ce germe dans notre étude réalisant un taux de 13%.

Des taux plus faibles ont été communiqués dans l'étude de Salmania et l'étude taiwanienne la plus récente : 7.1% et 2.4% respectivement des échantillons positifs [86][94].

Par ailleurs, aucun Acinitobacter Baumnu n'a été détecté dans une étude en 2012 [97].

➤ **Enterococcus et kiebsiella oxytoca :**

Dans notre étude, le FilmArray BCID a mis en évidence autant de Enterococcus que de Kiebsiella oxytoca ; chacun à un taux de positivité de 10%.

Différentes études ont communiqué des taux de positivité de Kiebsiella oxytoca approximatifs à 2% [85,86].

Pour l'Enterococcus, les taux de positivité rapportés dans la littérature variaient de moins de 7.2% à 7.8% [94,95].

➤ **Autres bactéries :**

Nous avons aussi mis en évidence un Klebsiella pneumoniae, un Pseudomonas aeruginosa et un Staphylococcus coag N avec un taux de positivité similaire de 4% des échantillons, montrant leur rôle non négligeables dans les épidémies des bactériémies.

D'autres auteurs ont découvert des taux similaires comme l'étude de Rule et al et Salmania et al [85 ;86]

➤ **Levures:**

Dans notre étude, les levures sont minoritaires avec 9% d'échantillons positifs. le FilmArray BCID a mis en évidence autant de Candida albicans que C.tropicolis ; chacun à un taux de positivité de 4%.

Dans l'étude de R.Rule et al en sudafrique aucune C.albicans et C.tropicolis n'ont été détecté par l'examen Filmarray parmi 78 échantillons, alors que C.glabatra,C.krusei et C.parapsilosis ont été détecté avec un taux de positivité ne dépasse pas 3.5%, par contre ce taux dépasse 31.4% dans l'étude de Chun et al. [94;95]

IV. Concordance du test FilmArray BCID avec les autres méthodes:

28 échantillons ont été testés au total la corrélation entre la détection d'agents pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* par PCR et le résultat de la culture était élevée : 92.8%. Les résultats discordants pouvaient s'expliquer par le fait que l'organisme cultivé n'avait pas de cible sur le panel ou par la détection par PCR de bactéries potentiellement non viables dans l'échantillon; les autres échantillons étaient négatifs par PCR malgré la culture d'un organisme avec une cible présente sur le panel pour cet organisme.

Une étude récente, réalisée par Kang et al. (2020) a analysé un total de 100 hémocultures positive (Kang et al., 2020). Dans leur étude, le panel BioFire FilmArray BCID a démontré une concordance de 94% de l'identification des organismes par rapport aux méthodes de culture conventionnelles (Kang et al., 2020). (85)

V. Impact sur la prise en charge clinique :

1. Impact sur le délai de rendu des résultats :

Dans notre étude nous avons mesuré les délais de rendu des résultats par FilmArray®.

Les délais médians mesurés étaient de : 6h pour le panel BCID FilmArray® vs 120 heures pour la hémoculture.

D'autres études ont obtenu des délais de rendu de résultat relativement similaires aux nôtres avec un temps moyen de 4.10 heures pour le FilmArray® contre 51,28 heures pour la hémoculture pour l'étude de R.Rule et al et 1 heures vs 24 heures (FilmArray® vs hémoculture) pour l'étude de Pulido et al. Et 20 heures pour FilmArray vs 120 min pour la hémoculture dans l'étude de P. Ny. [100;98;99]

Ces résultats montrent l'un des avantages majeurs du panel BCID FilmArray® : la rapidité d'analyse, qui est un vrai plus, notamment pour la bactériologie.

Il faut rappeler que l'analyse FilmArray® était entrée dans le fonctionnement de routine du

laboratoire de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech avec une réalisation de cette analyse 5j / 7 de 8.30h à 15h, un prélèvement arrivant la nuit était donc traité le lendemain matin. De même pour une analyse non terminée en fin de poste du technicien de jour (15h), son résultat n'était rendu que le lendemain matin.

La rapidité de cette analyse apporte donc un gain majeur pour le diagnostic positif et étiologique des bactériémies, disciplines pour lesquelles les examens de routine sont longs à réaliser et un traitement anti-infectieux est susceptible d'être instauré.

Il existe un autre apport majeur du FilmArray® grâce à sa rapidité, la proportion de patients sortant avec un résultat complet a augmenté.

Tableau XVIII : Délai de rendu de résultats du FilmArray BCID par rapport à celui de la microbiologie conventionnelle

	Notre étude	Roxanne et al. (2016)	Pulido et al (2018)	P.Ny et al. (2019)
FilmArray BCID Panel	6 heures	4.10 heures	1h	20h
Méthodes conventionnelles	24-120 heures	51 heures 17 min	12h-24h	120 heures

2. Impact du panel FilmArray sur l'usage des antibiotiques :

Les lignes directrices de la campagne Surviving Sepsis recommandent l'administration d'une thérapie antimicrobienne empirique appropriée par voie intraveineuse dans l'heure qui suit le diagnostic de sepsis, les hémocultures étant réalisées avant l'administration des agents antimicrobiens afin d'optimiser le rendement de la détection des pathogènes [102]. Une dose et/ou une fréquence inappropriée ou inadéquate d'antibiotiques s'est avérée être significativement associée à la mortalité dans de nombreuses études, avec des taux de mortalité documentés allant de 10 à près de 40% [101,103,85]. Une étude de prévalence sur une journée menée par Paruk et al. dans des

unités de soins intensifs privées et publiques d'Afrique du Sud en 2012 a démontré que 54,9% des patients ayant reçu des antibiotiques empiriques étaient traités de manière inappropriée ou inadéquate [93]. Le taux de mortalité associé à une antibiothérapie inappropriée dans cette étude était de 27% ($p = 0,01$) [103].

Durant notre étude nous n'avons pas pu évaluer l'impact du panel FilmArray sur la prescription des antibiotiques vu le caractère rétrospective de l'étude étalé sur 2 ans, ce qui va influencer les résultats. Toutefois, il est important de souligner l'impact de cette technologie sur le bon usage des antibiotiques qui était décrit dans plusieurs études.

Selon l'étude sud-africaine de R. Rule le panel BioFire FilmArray BCID a clairement fourni des informations précieuses à un stade précoce et a influencé les décisions de gestion. Le panel a permis d'ajuster plus tôt la thérapie antimicrobienne chez 32% des patients. Dans le sous-groupe de patients qui ont bénéficié d'une adaptation du traitement antimicrobien, les résultats du panel BioFire FilmArray BCID ont été communiqués en moyenne 2 jours, 8 heures et 55 minutes plus tôt que les méthodes de culture conventionnelles. (100)

Une étude récente menée par Verroken et al (2019) a trouvé un impact similaire à la présente étude, avec 31,8% des 110 patients ayant subi un ajustement antimicrobien en réponse aux résultats de la BCID de BioFire FilmArray [104]. La plupart des cas impliquaient l'initiation d'agents antimicrobiens appropriés, suivie d'une désescalade et d'un élargissement de la couverture antimicrobienne [104]. Comme dans la présente étude, le temps nécessaire à l'instauration d'un traitement antimicrobien optimal a été considérablement réduit avec BioFire FilmArray par rapport aux méthodes conventionnelles (4 heures 39 minutes contre 14 heures 41 minutes, respectivement) [104].

3. Impact sur le coût global de prise en charge du patient :

Dans notre étude le coût direct de l'analyse est de 1800 DH/ test environ à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech.

L'impact médico-économique de l'implantation du FilmArray® n'a pas été évalué au sein de notre établissement. Cependant, une étude récente de J. Pardo et al. [105] a évalué cet impact en comparant à un groupe contrôle : le nombre de journées d'antibiothérapie, les tests additionnels, les examens d'imagerie et la durée d'hospitalisation.

Cette étude conclut que le FilmArray® a permis une diminution significative du nombre de tests additionnels, d'examen d'imagerie et de la durée d'hospitalisation chez l'adulte (mesurée après la date du prélèvement).

Finalement, les interventions chez les patients dont les cultures sont contaminées ont permis d'économiser environ 30 000 dollars par 100 patients testés.

Une autre étude américaine a montré l'impact de l'utilisation du panel BCID sur les résultats des patients, y compris les coûts directs et indirects des soins de santé les coûts directs

et indirects des soins de santé, le délai de mise en place d'un traitement antimicrobien efficace et optimal, la durée de l'hospitalisation et la mortalité, séjour à l'hôpital et la mortalité. (106)

VI. Limites :

L'analyse comparative entre la PCR Multiplex type FilmArray Panel BCID et les méthodes microbiologiques traditionnelles a permis l'identification de quelques limites de son utilisation :

- **Coût élevé du test FilmArray par rapport aux autres méthodes conventionnelles**
- **Détection de germes non inclus dans le panel :**

Une limitation évidente de toute approche de test de panel moléculaire syndromique est le nombre limité de pathogènes inclus dans le panel. Même si le panel FilmArray BCID comprend un

large éventail d'agents pathogènes, une approbation excessive des résultats négatifs, en particulier dans les régions géographiques avec des agents étiologiques inhabituels deméningite, pourrait conduire à des tests inefficaces.

- **Non-quantification des pathogènes détectés :**
- **Identification de la sensibilité des pathogènes aux antibiotiques :**

Le test FilmArray BCID n'apporte d'aide quant au choix des molécules anti-infectieuses car il détecte un nombre limité des marqueurs de résistance à savoir :

- mecA- résistance à la méticilline
- vanA/B-résistance à la vancomycine
- KPC-résistance aux carbapénèmes

De ce fait, la culture doit être maintenue car c'est le seul moyen de caractériser les souches circulantes, élément essentiel à la surveillance de la résistance aux antibiotiques, à l'établissement de données épidémiologiques et à la mise au point de vaccins.



CONCLUSION



Malgré les progrès réalisés dans le diagnostic et le traitement des infections, les bactériémies restent une cause importante de mortalité et de morbidité. L'issue des patients suspects de bactériémie repose sur un diagnostic rapide et fiable de l'agent pathogène en cause.

Notre travail a été réalisé sur 28 échantillons de prélèvement sanguin de patients suspects de bactériémies et analysés au sein du service de microbiologie- virologie et de biologie moléculaire de l'hôpital Avicenne de Marrakech entre Janvier 2020 et Décembre 2022, et a permis d'évaluer l'impact de l'utilisation d'une PCR multiplex type panel FilmArray® dans le diagnostic des bactériémies en la comparant aux méthodes diagnostiques conventionnelles.

L'ensemble des résultats de notre étude a permis de mettre en évidence de nombreux avantages liés au diagnostic des bactériémies par approche syndromique en utilisant la plateforme FilmArray panel BCID :

➤ **Rapidité de l'analyse :**

- Amélioration nette des délais de rendu de résultat.
- Instauration ou adaptation thérapeutique précoce et donc la diminution de la prévalence de résistance bactérienne.
- Amélioration du pronostic des bactériémies.

➤ **L'approche syndromique ciblant divers agents pathogènes a permis :**

- La détection de pathogènes associés et donc de co-infections non suspectées.
- La confirmation d'une étiologie et l'exclusion d'une autre.

➤ **Performance analytique élevée :**

- Sensibilité et spécificité globales élevées.
- Robustesse diagnostique non altérée par la prise préalable d'antibiothérapie probabiliste.

- Détection d'agents pathogènes sur des échantillons testés négatifs par les techniques classiques.
- Amélioration de la prise en charge globale des bactériémies
- Toutefois, on a relevé des limites qui sont à considérer pour l'utilisation optimale de cette technologie :
 - Coût élevé du test FilmArray en comparaison avec les autres techniques.
 - **Détection d'agents pathogènes absents dans le panel.**
 - **Détermination du profil de sensibilité et de résistance des bactéries détectées.**

Ainsi, le panel FilmArray BCID ne devrait pas être utilisé comme un outil diagnostique autonome indépendamment de la culture ; en effet, ces deux méthodes sont complémentaires et devraient être réalisées en synergie pour améliorer le diagnostic et éventuellement la prise en charge des bactériémies.



RESUME



Résumé

La bactériémie est une pathologie grave potentiellement mortelle, elle est associée à un grand nombre d'hospitalisation, un coût élevé et à une surconsommation d'antibiotiques. Une rapide identification des pathogènes en cause est cruciale pour diminuer le fardeau sanitaire. Le développement récent des nouveaux tests de diagnostic rapide par PCR multiplexe à visée syndromique, capables de détecter plusieurs pathogènes en quelques heures, a entraîné un changement de paradigme en microbiologie et en pratique clinique.

Objectif : Notre étude vise à évaluer l'apport du panel FilmArray BCID dans le diagnostic et la prise en charge des bactériémies en le comparant à la culture conventionnelle, tout en soulignant l'épidémiologie des agents pathogènes en cause.

Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective qui a été réalisée sur 28 prélèvements sanguins provenant de patients cliniquement suspects de bactériémies analysés par méthodes classiques et par le test FilmArray BCID panel. Ce travail est réalisé au sein du laboratoire de microbiologie- virologie et de biologie moléculaire à l'hôpital Militaire Avicenne de Marrakech et qui a duré 27 mois de Janvier 2020 à Mars 2022.

Résultats : Durant la période de l'étude, 28 échantillons ont été documentés. Les prélèvements provenaient en grande partie des patients hospitalisés au niveau de différents services de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech (93.9%) contre 7.1% de prélèvements externes. Le service le plus demandeur était le service réanimation médicale (76.9%). Une prédominance masculine a été notée avec un sex-ratio H/F de 2.5. Le taux de positivité par le panel FilmArray BCID était de 75%. Nous avons détecté un taux de co-infection de 25%. Une étiologie bactérienne a été retrouvée chez 90.9% des patients, prédominée par le *Staphylococcus aureus* avec un taux de positivité de 28%. Une étiologie fongique a été retrouvée dans 9.1% des patients, le taux de concordance pour le *staphylococcus aureus* était alors de 92.8%. Nous avons détecté 7 cas de bactériémies de diverses étiologies par le panel FilmArray BCID dans des

échantillons testés négatifs par culture. Le délai médian de rendu de résultat était de : 6 heures pour le panel FilmArray® BCID contre 24 heures à 120 heures pour les méthodes conventionnelles.

Le coût direct de l'analyse est de 1800 DH/test environ à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech, toutefois, même si le coût direct de l'analyse est élevé par rapport aux techniques conventionnelles, il est à rapporter au coût global de la prise en charge du patient

Conclusion : Le panel FilmArray BCID est un outil de diagnostic simple, rapide et fiable permettant la mise en œuvre d'une stratégie thérapeutique précoce et adaptée et l'amélioration de l'ensemble du parcours de soins. Toutefois, compte tenu de l'importance de l'antibiogramme, l'utilisation des tests moléculaires devrait être réalisée en complément de la microbiologie conventionnelle. Par ailleurs,

Les résultats devraient toujours s'interpréter en fonction du contexte clinico-épidémiologique et en association avec l'ensemble des examens biologiques.

Abstract

Bacterimia is a vital issue and is associated with a large number of hospitalizations, high cost and overuse of antibiotics. Rapid identification of the pathogens involved is crucial in reducing the health burden. The recent development of new syndromic multiplex PCR rapid diagnostic tests capable of detecting multiple pathogens within hours has brought a paradigm shift in microbiology and clinical practice.

Objective : Our study aims to assess the contribution of the FilmArray BCID panel in the diagnosis and management of bacterimia by comparing it to conventional culture, while highlighting the epidemiology of the pathogens involved.

Methods : This is a retrospective study that was carried out on 28 blood samples from patients clinically suspected of bacterimia and analyzed by conventional methods and by the FilmArray BCID panel test. This work is carried out in the microbiology–virology and molecular biology laboratory at the Avicenne Military Hospital in Marrakech and which lasted 27 months from January 2020 to Mars 2022.

Results : During the study period, 28 samples were documented.

During the study period, 28 samples were documented. Most of the samples came from patients hospitalized in various departments of the Avicenne Military Hospital in Marrakech (93.9%), compared to 7.1% of external samples. The department with the highest demand was the medical intensive care unit (76.9%). A male predominance was noted with a sex ratio of 2.5. The positivity rate by the FilmArray BCID panel was 75%. We detected a co–infection rate of 25%. A bacterial etiology was found in 90.9% of patients, predominantly *Staphylococcus aureus* with a positivity rate of 28%. A fungal etiology was found in 9.1% of patients, with a concordance rate of patients, the concordance rate for *staphylococcus aureus* was 92.8%. We detected 7 cases of bacteremia of various etiologies by the FilmArray BCID panel in samples tested negative by culture. The median turnaround time for results was : 6 hours for the FilmArray® BCID panel versus 24

hours to 120 hours for conventional methods.

Conclusion: The FilmArray BCID panel is a simple, rapid and reliable diagnostic tool that allows the implementation of an early and adapted therapeutic strategy and the improvement of the entire care pathway. However, given the importance of antibiotic susceptibility testing, the use of molecular tests should be performed in addition to conventional microbiology. In addition, the results should always be interpreted according to the clinical-epidemiological context and in association with all biological examinations.

ملخص

تجرثم الدم هي قضية حيوية وترتبط بعدد كبير من الاستشفاء والتكلفة العالية والإفراط في استخدام المضادات الحيوية. يعد التعرف السريع على مسببات الأمراض ذات الصلة أمرًا حاسمًا في تقليل العبء الصحي. أحدث التطور الأخير لاختبارات تشخيصية سريعة لمتلازمة تفاعل البوليميراز المتسلسل المتعددة القدرة على اكتشاف مسببات الأمراض المتعددة في غضون ساعات نقلة نوعية في علم الأحياء الدقيقة والممارسة السريرية.

الهدف : تهدف دراستنا إلى تقييم مساهمة لوحة FilmArray BCID في تشخيص وإدارة الجراثيم من خلال مقارنتها بالزراعة الجرثومية التقليدية ، مع تسليط الضوء على الخصائص البوئية لمسببات هاته الأمراض.

الطريقة : هذه دراسة بأثر رجعي تم إجراؤها على 28 عينة دم من مرضى يشتبه سريريًا في إصابتهم بتجرثم الدم وتم تحليلها بالزراعة الجرثومية التقليدية وباختبار لوحة FilmArray BCID. تم تنفيذ هذا العمل في مختبر علم الأحياء الدقيقة و علم الفيروسات والبيولوجيا الجزيئية في مستشفى ابن سينا العسكري في مراكش والذي استمر 27 شهرًا من يناير 2020 إلى مارس 2022.

النتائج : خلال فترة الدراسة، تم توثيق 28 عينة. وجاءت معظم العينات من مرضى مقيمين في مختلف أقسام مستشفى ابن سينا العسكري بمراكش (93.9%)، مقابل 7.1% من العينات الخارجية. كان القسم الأكثر طلبًا هو وحدة العناية المركزة الطبية (76.9%). لوحظ وجود غلبة للذكور بنسبة 2.5. كان معدل الإيجابية بواسطة لوحة FilmArray BCID 75%. اكتشفنا معدل إصابة مشتركة بنسبة 25%. تم العثور على مسببات بكتيرية في 90.9% من المرضى ، في الغالب Staphylococcus aureus بنسبة إيجابية 28%. تم العثور على مسببات فطرية في 9.1% من المرضى، مع معدل توافق للمرضى، وكان معدل التوافق Staphylococcus aureus 92.8%.

اكتشفنا 7 حالات تجرثم الدم من مسببات مختلفة بواسطة لوحة FilmArray BCID في عينات تم اختبارها سلبية عن طريق الزراعة الجرثومية التقليدية. كان متوسط وقت الاستجابة للنتائج: 6 ساعات للوحة FilmArray® BCID مقابل 24 ساعة إلى 120 ساعة للطرق التقليدية.

الخلاصة: تعتبر لوحة FilmArray BCID أداة تشخيصية بسيطة وسريعة وموثوقة تسمح بتنفيذ استراتيجية علاجية مبكرة ومكيفة وتحسين مسار الرعاية بالكامل. ومع ذلك، نظرًا لأهمية اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية، يجب إجراء استخدام الاختبارات الجزيئية بالإضافة إلى علم الأحياء الدقيقة التقليدي. بالإضافة إلى ذلك، يجب دائمًا تفسير النتائج وفقًا للسياق السريري الوبائي وبالاقتران مع جميع الفحوصات البيولوجية.



BIBLIOGRAPHIE



1. **Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM et al.**
Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012.
Intensive Care Med 39:165–228.
2. **Hall MJ, Williams SN, DeFrances CJ, Golosinskiy A.**
2011. Inpatient care for septicemia or sepsis: a challenge for patients and *hospitals*. *NCHS Data Brief* 62:1–8.
3. **Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR.** 2001.
Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 29:1303–1310.
4. **Spellberg B, Gidycz R, Gilbert D, Bradley J, Boucher HW, Scheld WM, Bartlett JG, Edwards J.**
2008. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 46:155–164.
5. **FilmArray ME Panel –**
Diagnostic Clinique | bioMérieux France (biomerieux.fr)
6. **The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.**
Les recommandations EUCAST 2018. Lien : https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2018/12/CASFMV2_SEPTEMBRE2018.pdf.
7. **Snyder, J.W., G.K. Munier, C.L. Johnson.**
Direct comparison of the BD phoenix system with the MicroScan WalkAway system for identification and antimicrobial susceptibility testing of Enterobacteriaceae and nonfermentative gram-negative organisms. *J Clin Microbiol*, 2008
8. **Amhal F.Z.**
Profil épidémiologique actuel des bactéries multirésistantes Expérience de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech.
Thèse n°77, année 2017. Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech

9. **FilmArray ME Panel (Méningite–Encéphalite)** – Diagnostic Clinique | bioMérieux France
(*biomerieux.fr*)
10. **Institut national de santé publique du Québec (inspq)** *guide_pratique_lab0_h5h7_bf.pdf*
(*inspq.qc.ca*)
11. <https://www.biomerieux-nordic.com/product/filmarray-bcid-panel>
12. **FilmArray BCID Panel (Blood culture identification)** – Diagnostic Clinique | bioMérieux France (*biomerieux.fr*)
13. **Bisceglia E.**
Méthodes physiques d'extraction de micro-organismes à partir d'échantillons sanguins à l'aide de micro-systèmes. Thèse de doctorat de l'école normale supérieure de CACHAN 7/11/2013.
14. **Bone RC, Sibbald WJ,**
Sprung CL (1992) The ACCP– SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest 101 : 1481–3.*
15. **Anonymous. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference:**
Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies *in sepsis. Chest 1992; 101: 1644–1655.*
16. **Braun L. Riedel A.A.**
Cooper L.M. Severe Sepsis in Managed Care: Analysis of Incidence, One-Year Mortality, and Associated Costs of Care, *Academy of MANAGED Care Pharmacy 2004 Vol. 10, No.*
17. **Van der Poll T.**
Coagulation and inflammation. *J Endotoxin Res 2001; 7:301–4.*
18. **Van der Poll T, van Deventer SJ.**
Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. *Infect Dis Clin North Am 1999; 13:413–26.*

19. **Kumar A.**
An alternate pathophysiologic paradigm of sepsis and septic shock, *Virulence*, (2014) *5:1*, 80–97.
20. **Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al**
2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 2003;*31(4):1250–6.*
21. **Yadati Sathyanarayana Raju.**
Treatment of Sepsis and Related Syndromes in the Elderly: Indian Scenario section 26 *Geriatrics chapter 176.*
22. **TD. Huang, L.Poirel, P.Bogaerts, et al.**
Timocillin and piperacillin /tazobactam resistance by disc diffusion as antimicrobial surrogate markers for the detection of carbapenemase producing Enterobacteriaceae in geographical areas with high prevalence of OXA-48 producers. *J Antimicrob Chemother J Antimicrob Chemother* (2014) *69 (2): 445–450.*
23. **Schonheyder HC, Sogaard M.**
Existing data sources for clinical epidemiology: The North Denmark Bacteremia Research Database. *Clin.Epidemiol.* 2010;*2:171–178.*
24. **Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, et al.**
The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of *bacteremia and fungemia in adults.* *Clin Infect Dis.* 1997;*24(4):584–602.*
25. **Bates DW, Lee TH.**
Rapid classification of positive blood cultures. Prospective validation of a multivariate algorithm. *JAMA.* 1992;*267(14):1962–1966.*
26. **Dorcas Hésed Exau Eboungabeka.**
Les bactériémies au service des maladies infectieuses et tropicales de Fann à Dakar : étude descriptive de 2013 à 2014 (à propos de 79 cas colligés). Thèse de doctorat, *faculte de medecine de pharmacie et d'odonto - stomatologie de dakar.*

27. **Reimer LG, Wilson ML, Weinstein Député.**
Mise à jour sur la détection de la bactériémie et de la fongémie, *Clin Microbiol Rev*, 1997, vol.dix (p.444-65)
28. **Harald seifert.**
Clinical Infectious Diseases, Volume 48, Issue Supplement_4, 15
May 2009, Pages S238- S245.
29. **Nicolas Fanjeaux.**
Endocardite infectieuse d'origine dentaire: mythes et réalités.
Thèse doctorat chirurgie dentaire,
Universite de Lorraine faculte d'odontologie de Nancy, 2014. (pg 83-92)
30. **Horstkotte D, Follath F, Gutschik E, et al.**
Guidelines on prevention, diagnosis and treatment of infective endocarditis executive summary. Task Force on Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology, *Eur Heart J*, 2004, vol. 25 (pg. 267-76)
31. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).**
Identifying Healthcare-associated Infections (HAI) for NHSN Surveillance.
2016.
32. **Zingg W, Eggimann P, Pittet D.**
Acute Bloodstream Infection.Textbook of Critical Care.Chap 132, 6 e éd.
Saunders; 2011.
33. **Vallés J, Rello J, Ochagavía A, Garnacho J, Alcalá MA.**
Community-acquired bloodstream infection in critically ill adult patients: impact of *shock and inappropriate antibiotic therapy on survival*. *Chest*. 2003 mai;123(5):1615-24.
34. **Vallés J, Ferrer R.**
Bloodstream infection in the ICU. *Infect. Dis. Clin. North Am*.
2009 sept;23(3):557-69.

35. **Garrouste—Orgeas M, Timsit JF, Tafflet M, Misset B, Zahar J—R, Soufir L, et al.**
Excess Risk of Death from Intensive
Care Unit—Acquired Nosocomial Bloodstream Infections: A Reappraisal. *Clin Infect Dis.*
2006 avr 15;42(8):1118–26.
36. **Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB.**
Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a
prospective nationwide surveillance study. Clin. Infect. Dis. 2004 août 1;39(3):309–17.
37. **Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, et al.**
Health Care- Associated Bloodstream Infections in Adults: A Reason To Change the
Accepted Definition of Community–Acquired Infections. *Ann Intern Med.* 2002 nov
19;137(10):791–7.
38. **Vallés J, Alvarez–Lerma F, Palomar M, Blanco A, Escosca A, Armestar F, et al.**
Healthcare-associated bloodstream infections at admission to the ICU. *Chest.* 2011
avr;139(4):810– 5.
39. **Moss M.**
Epidemiology of sepsis: race, sex, and chronic alcohol abuse. *Clin Infect Dis* 2005;
41(Suppl 7):S490–7.
40. **Botero JSH, Pe´rez MCF.**
The history of sepsis from ancient Egypt to the XIX century. 2012. Available at.
[http://www.intechopen.com/books/export/citation/End-Note/sepsis-an-ongoing-and-significant-challenge/
the-history-of-sepsis-from-ancient-egypt-to-the-xixcentury](http://www.intechopen.com/books/export/citation/End-Note/sepsis-an-ongoing-and-significant-challenge/the-history-of-sepsis-from-ancient-egypt-to-the-xixcentury). Accessed August 5, 2015.
41. **DJ Funk, JE Parrillo, Kumar A.**
Sepsis et choc septique: une histoire. *Clinique de soins intensifs.*
2009; 25 (83–101).
42. **Sheagren JN.**
Shock syndromes related to sepsis. In: Cecil Textbook of Medicine. 19 edn. Edited by
Wyngaarden JB, Smith LH, Bennett JC. Philadelphia: W B Saunders Company;
1992: 1584– 1588.

43. **Bone RC, Fisher CJ, Jr., Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA.**
Sepsis syndrome: a valid clinical entity. Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group.
Critical care medicine
1989, 17(5):389-393.
44. **Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al .**
Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*
1992, 101(6):1644-1655.
45. **Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D et al .**
International Sepsis Definitions Conference, 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS. *Intensive care medicine* 2003, 29(4):530-538.
46. **Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al** The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA : the journal of the American Medical Association*
2016, 315(8):801-810.
47. **Neal R.**
Chamberlain. Medical Microbiology, the big picture. chapter
28. pg:297-298
48. **Daviaud F. Pène F.**
Infectiologie en réanimation Edition Springer-Verlag France, Paris, 2013 ; ISBN : 978-2-8178-0388-3.
49. **Ward NS, Casserly B, Ayala A.**
The compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) in critically ill patients.
Clin Chest Med. 2008;29(4):617-25.
50. **Vincent JL.**
Dear SIRS.
Crit Care Med 1997;25:372-4.

51. **Marshall JC.**
SIRS and MODS: what is their relevance to the science and practice of intensive care?
Shock 2000;14:586-9.
52. **Trampuza A. Zimmerlib W.**
pathogénèse et traitement de la septicémie Forum
Med Suisse 2003 No 35.
53. **Anonymous.**
International Sepsis Definitions Conference 2001 Edition Springer-Verlag
2003.
54. **Nduka OO, Parrillo JE.**
The pathophysiology of septic shock.
*Crit Care Clin.*2009;25(4):677-702.
55. **Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA.**
Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process.
Chest 1997;112:235-43
56. **Hornef MW, Wick MJ, Rhen M, Normack S.**
Bacterial strategies for overcoming host innate and adaptative immune responses. *Nature Immunol* 2002;3:1033-40.
57. **Moine P.**
Bénéfices potentiels des traitements non anti-infectieux du choc septique : analyse critique de la littérature *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 26 (2007) 370-375.
58. **Moine P. Asehnoune K. Edouard A. Payen D.**
a Immunomodulation et sepsis - Impact de l'agent pathogène Elsevier 2003. *Médecine et maladies infectieuses* 38 (2008) 18-24.
59. **Huet O, Choukroun G, Mira JP.**
Récepteurs de type Toll, réponse inflammatoire et sepsis. *Réanimation* 2004;13:167-75.

60. **Tesniere A, Pène F, Mira J.–P.**
Immunité innée et sepsis : quand le danger vient de l'intérieur Elsevier Masson, SAS *pour la Société de réanimation de langue française*. 2008.
61. **Johnson GB, Brunn GJ, Samstein B, Platt JL.**
New insight into the pathogenesis of sepsis and the sepsis syndrome.
Surgery 2005;137(4):393–5.
62. **Iwasaki A, Medzhitov R.**
Toll–like receptor control of the adaptive immune responses.
Nat Immunol 2004;5(10):987–95.
63. **Option/Bio, 28(569–570), 17–20.**
Diagnostic moléculaire : PCR simplex ou approche syndromique (2017). Blander JM, Medzhitov R. Toll–dependent selection of microbial antigens for presentation by *dendritic cells*. *Nature* 2006;440 (7085):808–12.
64. **Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell RA.**
Recognition of double–stranded RNA and activation of NF–kappa B by Toll–like receptor 3.
Nature. 2001; 413: 732–73
64. **Kumar V.**
Innate Immune System in Sepsis Immunopathogenesis and Its Modulation as a Future Therapeutic Approach, Inflammatory Diseases – Immunopathology, Clinical and *Pharmacological Bases*, Khatami M. (Ed.) (2012). ISBN: 978–953–307–911–0.
65. **J.–L. Mege, F. Bretelle, and M. Leone.**
Sex and bacterial infectious diseases, *New Microbes New Infect*, v8,
2018 Nov; 26: S100– S103.
66. **F. Garnier, J.–L. Mainardi**
Bactériologie médicale 2016, Elsevier Masson SAS,
chapitre 13, page 123–139.
67. **Biomerieux.**
Procédure de prélèvement direct des flacons d'hémoculture. Consulté le 05/04/19
sur: "Biomerieux.fr/sites/subsidiary_fr/files/brochure_prelevement_hemoculture.pdf.

68. Anonyme.

Groupe transversal sepsis Prise en charge initiale des états septiques graves de l'adulte et de l'enfant Groupe transversal sepsis /
Réanimation 16 (2007) S1- S21.

69. Stahl J.-P., Pavese P., Epaulard O., et al.

Le traitement empirique des bactériémies. *Med Mal Infect.*
2004 ; 34 :S55-S56.

70. Livre Masson 2015.

Choc septique, item 154, disponible sur
<http://www.cnrea.fr/UserFiles/File/national/desc-des/livre-masson-2015/cardio/choc-septique.pdf>

71. Takeshita, N., Kawamura, I., Kurai, H., Araoka, H., Yoneyama, A., Fujita et al.

Unique characteristics of community-onset healthcare-associated bloodstream infections: a multi-centre prospective surveillance study of bloodstream infections in Japan. *Journal of Hospital Infection 2017, 96(1), 29-34.*

72. Bitew N. Et al

"multi-Drug resistance profil of bacteria isolated from blood stream Infection at Tikur anbesa Specialized Hosptal, Addis Ababa, Ethiopia".
EC Microbiology 149.3 (2018): 119-126

73. Maman Rajae.

Profil épidémiologique des bacteriemies a l'hôpital militaire my Ismail de Meknès.
Etude rétrospective sur trois ans (2011-2013).
Thèse de doctorat en pharmacie de la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat- Université Mohamed V 2015. Disponiblesur
<http://ao.um5.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/16704/P0412015.pdf?sequence=1 &isAllowed=y>

74. Lakhe NA, Sylla K, Mbaye KD, Ndiaye R, Diallo VMPC, et al.

Bacteremia: Profile and Antibiotic Resistance at the Infectious and Tropical Diseases Clinicin Fann Hospital, Dakar, Senegal.
J Infect Dis Ther, (2018) 6: 348.

75. **Mnif Chaabene B.**
Hémocultures positives: résultats de l'étude multicentrique prospective. L'antibio-résistance en Tunisie (LART).
27ème congrès STPI. 25 Mai, 2017.
76. **Akoua-Koffi C., Tia H., Plo J.K., Monemo P., Cissé A., Yao C. et al.**
Epidemiology of community-onset bloodstream infections in Bouaké,
Central Côté d'Ivoire 2015,7: 100-104
77. **Amit Banik, Sanjeev H. Bhat, Abhay Kumar, Agnijeet Palit, Kandregula Snehaa.**
Bloodstream infections and trends of antimicrobial sensitivity patterns at Port Blair. 2018
Jul- Sep; 10(3): 332-337.
78. **J.-L. Mege, F. Bretelle, and M. Leone.**
Sex and bacterial infectious diseases,
New Microbes New Infect, v8, 2018 Nov; 26: S100-S103.
79. **Campanelli F, Landoni G, Cabrini L, Zangrillo A.**
Gender differences in septic intensive care unit patients. *Minerv
Anesthesiol 2018;84:504-8.*
80. **Rhee C, Dantes R, Epstein L, Murphy DJ, Seymour CW, Iwashyna TJ, et al.**
Incidence and trends of sepsis in US hospitals using clinical vs. claims data, 2009-2014.
JAMA 2017;318:1241-9.
81. **Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al.**
International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units.
JAMA 2009;302:2323-9.
82. **Klein SL, Jedlicka A, Pekosz A.**
The Xs and Y of immune responses to viral vaccines, *Lancet Infect Dis, 2010, vol. 10 (pg. 338- 49)*

- 83. Jan van Lunzen, Marcus Altfeld.**
Sex Differences in Infectious Diseases–Common but Neglected *The Journal of Infectious Diseases, Volume 209, Issue suppl_3, 15 July 2014, Pages S79–S80*
- 84. Rule R, Paruk F, Becker P, Neuhoff M, Chausse J, Said M.**
Diagnostic accuracy of the BioFire FilmArray blood culture identification panel when used *in critically ill patients with sepsis.*
- 85. Salimnia H, Fairfax MR, Lephart PR, Schreckenberger P, Desjarlais SM, Johnson JK, et al.**
Evaluation of the filmarray blood culture identification panel: Results of a *multicenter controlled trial.*
J Clin Microbiol. 2016; 54(3):687–98. pmid:26739158
- 86. Blaschke AJ, Heyrend C, Byington CI Fisher MA, Barker E, Garrone NF, Thatcher SA, Pavia AT, et al .**
2012. Rapid identification of blood cultures by multiplex PCR using the FilmArray system.
Diagn Microbiol Infect Dis 74:349–355.
- 87. Southern TR, VanSchooneveld TC, Bannister DL, Brown TL, Crismon AS, Buss SN,**
2015. Implementation and performance of the BioFire FilmArray blood culture identification panel with antimicrobial treatment recommendations for bloodstream infections at a midwestern academic tertiary hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis 81:96–101.*
- 88. Florio, W., Cappellini, S., Giordano, C., Vecchione, A., Ghelardi, E., Lupetti, A.**
2019. A new culture–based method for rapid identification of microorganisms in *polymicrobial blood cultures by MALDI–TOF MS. BMC Microbiol. 19*
- 89. Blaschke, A.J., Heyrend, C., Byington, C.L., Fisher, M.A., Barker, E., Garrone, N.F., et al.**
2012. Rapid identification of pathogens from positive blood cultures by multiplex polymerase chain reaction using the FilmArray system.
Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 74 (4), 349–355
- 90. Fhooblall, M., Nkwanyana, F., Mlisana, K.P**
2016. Evaluation of the biofire® filmarray® blood culture identification panel on positive *blood cultures in a regional hospital laboratory in Kwazulu–Natal. Afr. J. Lab. Med. 5 (1), 411.*

91. **Altun, O., Almuhayawi, M., Ullberg, M., Ozenci, " V.**
2013. Clinical evaluation of the filmarray blood culture identification panel in identification of bacteria and yeasts from positive blood culture bottles. *J. Clin. Microbiol.* **51 (12), 4130.**
92. **Southern, T.R., Van Schooneveld, T.C., Bannister, D.L., Brown, T.L., Crismon, A.S., Buss, S.N., et al.**
2015. Implementation and performance of the BioFire FilmArray blood culture identification panel with antimicrobial treatment recommendations for bloodstream infections at a midwestern academic tertiary hospital. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **81 (2), 96-101.**
93. **Chun–Min Kang, Xiang–Jun Chen, Ching–Chin Chih, Chen–Ching Hsu, Ping–Hung Chen, Tai Fen Lee,**
Rapid identification of bloodstream bacterial and fungal pathogens and their antibiotic resistance determinants from positively flagged blood cultures using the BioFire *FilmArray blood culture identification panel*
94. **Rule R, Paruk F, Becker P, Neuhoff M, Chausse J, Said M.**
Diagnostic accuracy of the BioFire FilmArray blood culture identification panel when used *in critically ill patients with sepsis.*
95. **Micó M, Navarro F, de Miniac D, González Y, Brell A, López C,**
Efficacy of the FilmArray blood culture identification panel for direct molecular diagnosis of infectious diseases from samples other than blood.
96. **Anne J. Blaschke, Caroline Heyrend a,b, Carrie L. Byington a, Mark A. Fisher c,d, Elizabeth Barker b, Nicholas F. Garrone**
Rapid identification of pathogens from positive blood cultures by multiplex polymerase chain reaction using the FilmArray system,
97. **Application of BioFire FilmArray Blood Culture Identification panel for rapid identification of the causative agents of ventilator–associated pneumonia.**
Pulido MR, Moreno–Martínez P, González–Galán V, Fernández Cuenca F, Pascual Á, Garnacho–Montero J, Antonelli M, Dimopoulos G, Lepe JA, McConnell MJ, Cisneros JM; *MagicBullet Working Group*

98. **P. Ny, A. Ozaki, J. Pallares, P. Nieberg, A. Wong–Beringer**
Antimicrobial Stewardship Opportunities in Patients with Bacteremia Not Identified by *BioFire FilmArray*
99. **Roxanne Rule, Fathima Paruk, Piet Becker, Matthew Neuhoff, Julian Chausse, Mohamed Said**
Clinical utility of the BioFire FilmArray Blood Culture Identification panel in the adjustment of empiric antimicrobial therapy in the critically ill septic patient
100. **Paolucci M, Landini MP, Sambri V.**
Conventional and molecular techniques for the early diagnosis of bacteraemia. *Int J Antimicrob Agents.* 2010; 36(2 Supp):6. *pmid:21129933*
101. **Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al.**
Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of sepsis and *septic shock*: 2016. *Crit Care Med.* 2017; 45(3):486–552. *pmid:28098591*
102. **Paruk F, Scribante J, Perrie H, Richards G, Mer M, Bhagwanjee S.**
Antibiotic prescription practices and their relationship to outcome in south african intensive care units: Findings of the prevalence of infection in south african intensive *care units (pisa) study.* *S Afr Med J.* 2012; 102(7):613–6. *pmid:22748439*
103. **Verroken A, Despas N, Rodriguez–Villalobos H, Laterre P–F.**
The impact of a rapid molecular identification test on positive blood cultures from critically ill with bacteraemia: A pre–post intervention study. *PLoS ONE.* 2019;14(9):e0223122. *pmid:31557233*
104. **Clinical and economic impact of antimicrobial stewardship interventions with the FilmArray blood culture identification panel**
Joe Pardo, Kenneth P. Klinker, Samuel J. Borgert , Brittany M. Butler, Patricia G. Giglio, *Kenneth H. Rand*

105. Timothy R. Southern a,b, Trevor C. VanSchooneveld, Dianna L. Bannister, TeAnne L. Brown, Amy S. Crismon, Sarah N. Buss, Peter C. Iwen, Paul D. Fey
Implementation and performance of the BioFire FilmArray® Blood Culture Identification panel with antimicrobial treatment recommendations for bloodstream infections at a midwestern academic tertiary hospital
106. Robicsek A., Jacoby G.A., Hooper D.C.
The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance.
Lancet Infect. Dis., 2006a, 6, 629-640

قسم الطبيب

بِاللَّهِ الْعَظِيمِ

أَنْ أَرَأَيْتَ اللَّهَ فِي مِهْنَتِي.

وَأَنْ أَصُونَ حَيَاةَ الْإِنْسَانِ فِي كَأْفَةِ أَطْوَارِهَا فِي كُلِّ الظُّرُوفِ
وَالْأَحْوَالِ بِإِذْنِ اللَّهِ وَسَعْيِي فِي إِنْقَاذِهَا مِنَ الْهَلَاكِ وَالْمَرَضِ
وَالْأَلَمِ وَالْقَلْقِ.

وَأَنْ أَحْفَظَ لِلنَّاسِ كِرَامَتَهُمْ، وَأَسْتُرَ عَوْرَتَهُمْ، وَأَكْتُمَ سِرَّهُمْ.
وَأَنْ أَكُونَ عَلَى الدَّوَامِ مِنْ وَسَائِلِ رَحْمَةِ اللَّهِ، بِإِذْنِ رِعَايَتِي الطَّبِيبَةَ لِلْقَرِيبِ
وَالْبَعِيدِ، لِلصَّالِحِ وَالطَّالِحِ، وَالصَّدِيقِ وَالْعَدُوِّ.

وَأَنْ أَثَابِرَ عَلَى طَلَبِ الْعِلْمِ، وَأَسَخَّرَهُ لِنَفْعِ الْإِنْسَانِ لَا لِأَدَاةٍ.
وَأَنْ أُوقِّرَ مَنْ عَلَّمَنِي، وَأُعَلِّمَ مَنْ يَصْغُرَنِي، وَأَكُونَ أَخًا لِكُلِّ زَمِيلٍ فِي الْمِهْنَةِ الطَّبِيبَةِ
مُتَعَاوِنِينَ عَلَى الْبِرِّ وَالتَّقْوَى.

وَأَنْ تَكُونَ حَيَاتِي مِصْدَاقَ إِيمَانِي فِي سِرِّي وَعَلَانِيَتِي، نَقِيَّةً مِمَّا يُشِينُهَا تَجَاهَ
اللَّهِ وَرَسُولِهِ وَالْمُؤْمِنِينَ.

والله على ما أقول شهيد



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

أطروحة رقم 196

سنة 2022

مساهمة البيولوجيا الجزيئية في تشخيص مرض تجرثم الدم

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2022/06/21

من طرف

السيد معاذ الحضاري

المزداد في 22 غشت 1996 بأسفي

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية :

تجرثم الدم - تفاعل البلمرة المتسلسل - فيلماري - تشخيص

اللجنة

الرئيسة	السيدة	ل. ارسلان
		أستاذة في علم البكتيريا و الفيروسات
المشرف	السيد	س. الزوهير
		أستاذ في علم البكتيريا و الفيروسات
الحكم	السيد	م. ميلودي
		أستاذ في علم البكتيريا و الفيروسات

