

CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE ET MOLÉCULAIRE DE LA RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES PAR ANALYSE DIRECTE D'HÉMOCULTURES POSITIVES

PHENOTYPIC AND MOLECULAR CHARACTERISATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE BY DIRECT ANALYSIS OF POSITIVE BLOOD CULTURES

M'BENGUE GBONON VALÉRIE^{1,2}, AFRAN SIDJÈ ARLETTE^{1,3}, COULIBALY N'GOLO DAVID^{2,4}, KOUAMÉ CLARISSE⁵, TIÉMOKO BAFLAN ISABELLE¹, MARIKO SAFIATOU², TIÉKOURA BERTIN¹, KIPRÉ GUÉDÉ BERTIN¹, TOTY ABALÉ ANATOLE¹, KONAN FERNIQUE¹, BEUDJÉ FÉLICITÉ¹, KAKOU SOLANGE⁴, GUESSENND NATHALIE¹

RÉSUMÉ

Contexte/objectif : En cas de septicémie, une identification rapide et spécifique et surtout du profil de sensibilité de la bactérie responsable est cruciale pour guider les cliniciens à prendre dans l'immédiat les bonnes décisions thérapeutiques et par la même occasion accroître la survie des patients par l'administration d'un traitement antibiotique approprié et efficace. L'objectif de cette étude a été d'une part de réaliser l'antibiogramme direct à partir des bouillons d'hémocultures positives et d'autre part de mettre en place une technique de détection rapide du gène *mec A* chez des souches de *Staphylococcus sp* résistantes à la méticilline mises en culture dans du sang négatif.

Matériel et méthodes : Cette étude a porté sur des hémocultures positives, 30 souches de *Staphylococcus* résistantes à la méticilline mises en culture dans du sang stérile. Les tests bactériologiques ont été appliqués directement aux hémocultures positives

et les souches de *Staphylococcus* ont fait l'objet de la PCR classique pour la détection du gène *mec A*. Le coefficient de KAPPA et l'évaluation des critères de la FDA ont été

Résultats : Au total, 30 hémocultures positives ont été incluses dans la présente étude. L'analyse des résultats de la technique de l'antibiogramme direct a montré une concordance absolue avec ceux de la méthode standard. La prévalence du gène *mec A* chez les staphylocoques était comprise entre 16,6 % et 23,3 %.

Conclusion : Au-delà de ses nombreux avantages, l'antibiogramme direct offre une concordance absolue avec la technique standard. Des limites ont été observées dans le cas de la PCR pour les souches de *Staphylococcus* résistantes à la méticilline.

Mots-clés : Antibiogramme direct - Hémoculture - résistance aux antibiotiques- septicémie

ABSTRACT

Background/objective: In cases of sepsis, rapid and specific identification of the causative bacteria and above all, the determination of their antibiotic susceptibility profile is crucial to guide clinicians in making appropriate immediate therapeutic decisions. This timely approach increases patient survival by enabling the administration of effective and targeted antibiotic therapy. The aim of this study was to perform direct antibiotic susceptibility testing on positive blood culture broth and to establish a rapid detection method for the *mecA* gene in methicillin-resistant *Staphylococcus spp.* strains cultured from sterile blood.

Material and methods: In this study, 30 strains of methicillin-resistant *Staphylococcus* were cultured in sterile blood from positive blood cultures. Bacteriological tests

were applied directly to the positive blood cultures, and the *Staphylococcus* strains were subjected to conventional PCR for detection of the *mec A* gene. Calculation of the KAPPA coefficient and FDA criteria were used to assess concordance or discordance between the direct and standard antibiograms. The relationship between positive PCR results was demonstrated using the Chi² test, at a significance level of $\alpha = 5\%$.

Results: A total of 30 positive blood cultures were included in the present study. Analysis of the results of the direct antibiogram technique showed absolute concordance with those of the standard method. The prevalence of the *mec A* gene in *Staphylococcus* ranged from 16.6% to 23.3%.

Conclusion: Beyond its many advantages, direct antibiotic susceptibility testing offers absolute concordance with

- 1- Unité des Antibiotiques, des Substances naturelles, de la Surveillance des Résistances des Microorganismes aux anti-Infectieux, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire
- 2- Plateforme de Génétique Moléculaire, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire
- 3-Laboratoire de Biotechnologie, Agriculture et Valorisation des Espèces, Université Félix Houphouët Boigny, 01 BP V 34 Abidjan 01, Côte d'Ivoire
- 4- Plateforme de Biologie Moléculaire, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire
- 5- Unité de Bactériologie Clinique, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

Auteur correspondant: valeriecarole@yahoo.fr

the standard technique. Limitations were observed in the case of PCR for methicillin-resistant *Staphylococcus* strains.

Keywords: Direct antibiogram- Blood culture- Antibiotic resistance- Septicemia

1. INTRODUCTION

La septicémie encore appelé « sepsis » est une infection grave du sang en général due à une bactérie (bactériémie) associée à un réponse inflammatoire généralisée (Forrester et Spain, 2024). Elle constitue le plus souvent l'issue finale de nombreuses infections. La septicémie touche environ 49 millions de personnes dans le monde et est responsable d'environ 11 millions de décès annuels (OMS, 2025). Bien que ce soit une urgence médicale, la septicémie requiert, pour la prise en charge thérapeutique des patients, l'identification d'agents écologiques et la détermination d'une antibiothérapie appropriée. Pour ce faire, l'examen standard recommandé est l'hémoculture. En cas de positivité, cet examen combiné aux méthodes biochimiques traditionnelles d'identification nécessite un délai de 48 à 72 heures pour l'obtention de résultats (Marco, 2017). Il a été démontré qu'après l'apparition de l'hypotension chez les patients en choc septique, chaque heure de retard dans l'administration d'un traitement antibiotique adéquat était associée à une diminution de la survie du patient de 8% (Kumar et al., 2006). Par ailleurs, une identification rapide et spécifique et surtout du profil de sensibilité de la bactérie responsable de l'infection est cruciale pour

guider les cliniciens à prendre dans l'immédiat les bonnes décisions thérapeutiques et par la même occasion accroître la survie des patients par l'administration d'un traitement antibiotique approprié et efficace. L'application de tests phénotypiques et moléculaires d'étude de la sensibilité aux antibiotiques directement à partir des prélèvements du sang pour hémocultures permettrait de réduire de façon conséquente les délais (Marco, 2017). Il existe des automates de détection directe de gènes de résistance notamment le filmarray de Biomerieux mais les coûts élevés d'analyses rendent ces outils diagnostic quasiment hors de portée dans notre contexte socio-économique africain.

Par ailleurs, les souches de *Staphylococcus* sp notamment l'espèce *aureus* est l'espèce la plus fréquemment isolée des hémocultures (Kourtis et al., 2019 ; Belew et al., 2023).

L'objectif de cette étude a été d'une part de réaliser l'antibiogramme direct à partir des bouillons d'hémocultures positives et d'autre part de mettre en place une technique de détection rapide du gène *mec A* de souches de *Staphylococcus* sp mises en culture dans du sang négatif.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. TYPE, SITES ET PÉRIODES D'ÉTUDE

Il s'agit d'une étude expérimentale qui s'est déroulée sur deux périodes : de février 2019 à mars 2019 et d'avril 2021 à mai 2021 à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

2.2. MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Le matériel biologique était constitué de 30 souches de *Staphylococcus* dont 17 souches de *Staphylococcus aureus* et 13 souches de *Staphylococcus* à coagulase négative résistantes à la méticilline isolées du sang et d'autres produits biologiques collectées de 2016 à 2018 et conservées à la Biobanque, des hémocultures positives et du sang stérile provenant de l'unité de Bactériologie clinique.

2. METHODES

2.1. Antibiogramme direct à partir d'hémocultures positives

2.1.1. Analyses bactériologiques des hémocultures positives

Des hémocultures positives ont fait l'objet d'un état frais, d'une coloration de Gram, et d'une mise en culture sur des milieux de culture spécifiques. Les milieux de culture utilisés ont été la gélose au sang cuit (GSC), la gélose sélective aux bacilles à Gram négatif et aux staphylocoques (respectivement gélose EMB et gélose Chapman). Pour ce faire, une goutte de sang a été déposée sur ces milieux de culture et la technique d'ensemencement en quatre cadran en stries a été réalisée.

L'incubation des géloses à l'étuve s'est faite en atmosphère normale à 37 °C ou enrichi à 5% de CO₂ pour les bactéries exigeantes éventuelles pendant 18-24 h. Après l'incubation, une série d'identification s'en est suivie.

Tableau I : Dilutions pour la réalisation d'antibiogramme direct à partir d'hémocultures positives.

Dilution	BGN	Staphylocoques	Streptocoques
Dilution	1/50 ^e	1/50 ^e	1/5 ^e
Equivalent en gouttes	15 gouttes/9 ml NaCl 0,9%	15 gouttes/9 ml NaCl 0,9%	15 gouttes/1 ml NaCl 0,9%

b- Réalisation du test de sensibilité bactérienne aux antibiotiques

La technique utilisée pour tester la sensibilité des souches aux antibiotiques (antibiogramme) a été la technique de diffusion des disques d'antibiotiques en milieu gélosé ou méthode de Kirby-Bauer. Parallèlement à l'antibiogramme réalisé avec des hémocultures positives, un antibiogramme des souches bactériennes isolées des mêmes hémocultures a été effectué afin de mettre en évidence entre une concordance ou une discordance entre ces deux méthodes.

2.1.3. Analyses statistiques

Dans le cas de l'antibiogramme direct sur des hémocultures positives, des données qualitatives relatives à la catégorisation clinique (sensibilité, intermédiaire, résistant) des souches aux antibiotiques ont été recueillies selon les *breaks points* de l'EUCAST /CASFM 2021 version 1.0. L'accord catégoriel dans les deux techniques (la technique directe et la technique de référence) a été enregistré comme une concordance. Les divergences de catégorisation dans les deux techniques ont été classées en discordance très majeures (DTM : résistant dans la méthode de référence et sensible dans la méthode directe = faux sensible), en discordance majeures (DM : sensible dans la méthode de référence et résistant dans la méthode directe = faux résistant), et en discordances mineures (dm : toutes les autres divergences). Les données obtenues ont servi pour le calcul du coefficient de Kappa et à l'évaluation des critères de la FDA (*Food and Drug Administration*/ conférence EUCAST/CASFM 2021).

Critères de la FDA

Concordance de catégorisation > 90%

Taux d'erreurs très majeures (R rendu S) < 1,5%

Taux d'erreurs majeures (S rendu R) < 3%

2.1.2. Antibiogramme direct par dilution

a- Préparation de l'*inoculum*

L'*inoculum* a été préparé à l'aide du bouillon d'hémoculture dilué dans une solution saline 0,9 % conformément au tableau I.

La méthode de calcul du degré de concordance a été la suivante :

Couple bactérie/Antibiogramme		Méthode de référence			
		S	I	R	t
Méthode	S	A			
Directe	I		b		
	R			C	
	T				T

$$\text{Coefficient de Kappa} = (CC - CA) / (1 - CA)$$

$$CC : \text{Coefficient de concordance} = (a + b + c) / T$$

$$CA : \text{concordance attendue} = (T1L \times T1C) + (T2L \times T2C) + (T3L \times T3C) / T2$$

T1L : total 1^{ère} ligne

T1C : total 1^{ère} colonne

T : grand total

Interprétation du Coefficient de Kappa

< 0	Grand désaccord
0 - 0,20	Accord très faible
0,21 - 0,40	Accord faible
0,41 - 0,60	Accord moyen
0,61 - 0,80	Accord satisfaisant
0,81 - 1,00	Accord excellent

2.2. Détection du gène *mecA* directement à partir du sang d'hémoculture

2.2.1. Revivification bactérienne des souches de *Staphylococcus sp* résistantes à la méticilline

Les souches de *Staphylococcus* résistantes à la méticilline ont été revivifiées dans 1 mL de bouillon cœur cervelle puis incubées à 37 °C pendant 3 heures. Les précultures obtenues ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile puis ensemençées sur la gélose éosine bleu de méthylène (EMB) et incubées à

37 °C pendant 18 h pour des colonies bactériennes jeunes et isolées.

*2.2.2. Inoculation des hémocultures positives à partir du sang stérile et des souches de *Staphylococcus* sp résistantes à la méticilline*

Les bouillons d'hémocultures ont été tout d'abord inoculés avec du sang stérile (5 mL pour les bouillons enfants de 40 mL et 10 mL pour les bouillons adultes de 40 mL). Une à deux colonies des souches de *Staphylococcus* ont été ensuite émulsionnées dans un tube contenant 2 mL d'eau physiologique NaCl 0,85% (BioMérieux, référence 08026E) et le tout a été homogénéisé. Puis la densité du mélange a été ajustée sorte à avoir 0,5 MacFarland. À l'aide d'une seringue de 10 CC, un volume de 1 mL de l'*inoculum* bactérien a été prélevé et injecté dans les hémocultures préalablement inoculées avec du sang stérile faisant ainsi un volume final de 51 mL pour les bouillons adultes et 46 mL pour les bouillons pédiatriques. Les bouillons ont été ensuite incubés au l'automate Bact/ALERT®, pendant un à quatre jours. En cas de présence bactérienne, des tests biochimiques d'identification ont été réalisés.

*2.2.3. Extraction de l'ADN des souches de *Staphylococcus* Méti-R à partir hémocultures inoculées pour la recherche du gène *mec A**

- Expérience 1 : à partir de 5 mL du bouillon

Après incubation des bouillons dans le Bact/ALERT®, un volume de 5 mL du surnageant des hémocultures positives à *Staphylococcus* Méti-R a été prélevé dans des tubes à hémosévése stériles, puis centrifugés à 3500 tours par minute pendant 5 min. Une partie du surnageant a été récupérée dans des microtubes de 2 mL. Une centrifugation a été effectuée à 15000 tours pendant 5 min. Le culot a été récupéré puis additionné à 500 µL. La suspension a été congelée à -20°C pendant 15 min. Après congélation, les suspensions bactériennes ont été chauffées dans un thermo bloc à 95°C pendant 10 min. Une dernière centrifugation à 15 000 tours par minute pendant 25 min a été réalisée afin de recueillir l'ADN dans le culot. Le surnageant a été éliminé et l'ADN obtenu a été conservé à -20°C dans 200 µL d'eau physiologique.

Dans le but d'optimiser nos résultats et de voir si la PCR des souches inoculées dans l'expérience

1 ne serait pas liée la quantité du bouillon, une deuxième a été effectuée à partir d'une quantité plus grande du bouillon.

- Expérience 2 : à partir de 40 mL. de bouillon

Une plus grande quantité du bouillon d'hémoculture a été recueillie dans un tube à fond conique de 40 mL puis centrifugée à 3500 tours pendant 10 min. Le surnageant a été récupéré dans des tubes de 10 mL et une deuxième centrifugation a été effectuée à 15000 tours pendant 5 min. Le culot obtenu a été additionné à 500 µL. La suspension a été congelée à -20°C pendant 15 min. Après congélation, les suspensions bactériennes ont été chauffées dans un thermo-bloc à 95°C pendant 10 min. Une dernière centrifugation à 15 000 tours pendant 25 min a été réalisée afin de recueillir l'ADN dans le culot. Le surnageant a été éliminé et l'ADN obtenu a été conservé à -20°C dans 200 µL d'eau physiologique.

*2.2.4. Amplification du gène *mec A**

Pour chaque souche bactérienne, un milieu réactionnel de 50 µL a été constitué. Ce milieu réactionnel comprenait 1 µL de chaque amorce 20 mM, 5 µL d'ADN génomique, 1 µL de dNTP 10 mM, 3 µL de MgCl₂ à 25 mM, 5 µL de chaque tampon coloré et incolore, 0,2 µL de Taq polymérase (Promega, USA) et 28,8 µL de H₂O. Le programme d'amplification a été le suivant :

- une dénaturation initiale pendant 5 min à 94 °C, suivie de 35 cycles comprenant chacun ;
- une dénaturation à 94 °C pendant 30 s ;
- une hybridation à 60 °C pendant 1 min ;
- une elongation à 72 °C pendant 1 min ;
- une extension finale à 72 °C pendant 7 min.

2.2.5. Analyse des produits d'amplification

Les produits amplifiés ont été révélés par une électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5% dans un tampon TBE à 120 volts pendant 45 min et visualisés à l'aide de SYBER SAFE par l'automate Gel DocTM EZ Image (BioRad).

2.2.6. Analyses statistiques

La relation entre les résultats positifs de la PCR des deux expériences a été mise en évidence par le test de Chi2, au seuil de significativité $\alpha = 5\%$. Ce test est une approche permettant de tester si deux variables aléatoires sont indépendantes.

3. RÉSULTATS

Un total de 30 bouillons d'hémocultures positives a été inclus dans la présente étude. Les patients étaient majoritairement de sexe masculin (73 % ; 22/30). Ces bouillons provenaient à 30 % (9/30) du service de pédiatrie et à 20 % (6/30) du service de néphrologie.

a- Répartition des bactéries selon la morphologie observée après la coloration de Gram directe

La coloration de Gram a permis de dénombrer 22 (soit 73%) de cocci à Gram positif et 8 (soit 27%) de bacilles à Gram négatif.

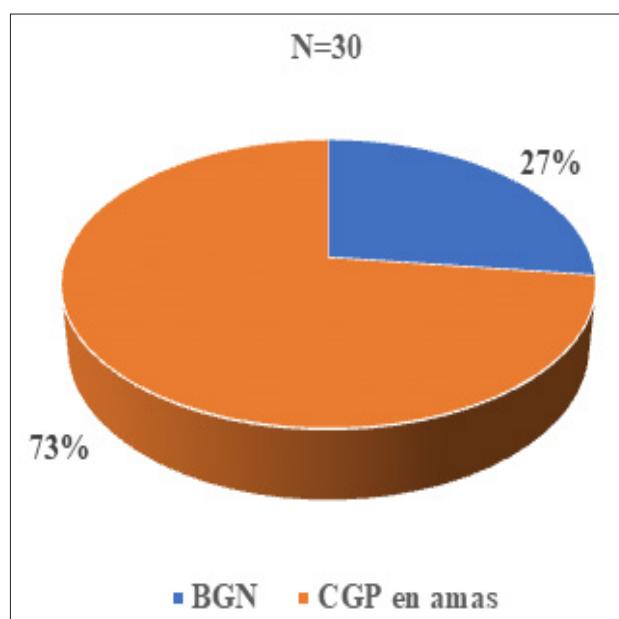


Figure 1 : Répartition des bactéries selon la coloration de Gram directe.
BGN : Bacille à Gram Négatif. CGP : Coccin à Gram Positif.

N : Effectif

b- Répartition des bactéries isolées après des tests d'identification bactérienne

Les bacilles à Gram négatif identifiés sont constitués de 50 % (4/8) de souches de *Enterobacter aerogenes*, 25 % (2/8) de *Salmonella sp.*, 12,5 % (1/8) de *Klebsiella pneumoniae* et 12,5 % (1/8) de *Acinetobacter sp.*. Quant aux cocci à Gram positif, ils sont composés de 41 % (9/ 22) de *Staphylococcus sp.*, 36 % (8/22) de *Staphylococcus à coagulase négative* et 23 % (5/9) de *Staphylococcus aureus*.

c- Evaluation de la concordance de catégorisations clinique de la méthode directe à la méthode de référence selon l'EUCAST/CASFM 2021 V1.0 du couple BGN / antibiotique

Le couple BGN/antibiotiques a présenté une concordance de catégorisation supérieure à 90 %. La DTM était inférieure à 1,5% et la DM était inférieure à 3%. La corrélation est conforme aux exigences de la FDA, de plus, le coefficient de kappa a témoigné d'une concordance absolue entre les 2 méthodes (Tableau II). La discordance très majeure observée a porté sur la molécule, le mécillinam.

Tableau II : Evaluation de la concordance de catégorisations clinique de la méthode directe à la méthode de référence selon l'EUCAST/CASFM 2021 V1.0 du couple BGN / antibiotique

	Coefficient de concordance	Kappa	CA	DTM	DM
BGN N=8	98,1%	0,95	0,59	0,9%	0%

d- Evaluation de la concordance de catégorisations clinique de la méthode directe à la méthode de référence selon l'EUCAST/CASFM 2021 V1.0 du couple CGP / antibiotique

Le couple CGP/antibiotiques a présenté une concordance de catégorisation supérieure à 90 %. La DM (S rendu R) était inférieure à 3% mais la DTM (R rendu S) était de 1,5%. Néanmoins, le coefficient de kappa à 0,90 témoignait d'une concordance absolue entre les 2 méthodes (Tableau III). La DTM portait sur le cotrimoxazole, la céfoxidine, l'acide fusidique et les minocyclines. La DM a été observée avec la tétracycline, l'acide fusidique.

Tableau III : Evaluation de la concordance de catégorisations clinique de la méthode directe à la méthode de référence selon l'EUCAST/CASFM 2021 V1.0 du couple CGP / antibiotique

	Coefficient de concordance	Kappa	CA	DTM	DM
CGP N=22	95,3%	0,90	0,46	1,5%	1,5%

e- Taux de résistance des souches de *Staphylococcus* résistantes à la méticilline aux autres antibiotiques

Les souches de *Staphylococcus* résistantes à la méticilline ont présenté des taux de résistance de 66,6 %

à la kanamycine et 56,6 % à la tobramycine suivis de 40 % pour la gentamycine et l'érythromycine (Tableau IV).

f- Prévalence du gène **mec A**

Au niveau de la PCR réalisée à partir de 5 ml de chaque des bouillons inoculés, le gène *mec A* a été amplifié chez 5 bouillons inoculés sur 30, soit 16,6 % de taux de positivité (Figure 2). Dans le cas de la PCR réalisée à partir de 40 mL de chaque bouillon inoculé, le

gène *mec A* a été amplifié chez 7 bouillons inoculés sur 30, soit 23,3% de taux de (Figure 3). La sensibilité de la PCR a été comparée entre les extraits d'ADN obtenus à partir de 5 mL de bouillon de culture et ceux obtenus à partir de 40 mL de bouillons de culture. Aucune différence significative (test du Chi2, $p = 0,157$; $\alpha = 5\%$) n'a été observée entre les deux quantités de bouillons de culture.

Tableau IV : Taux de résistance des souches de *Staphylococcus sp.* résistantes à la méthicilline aux différents antibiotiques.

Antibiotiques	Nombre de souches résistantes (N=30)	Fréquence des souches résistances (%)
Cefoxitine	30	100
Kanamycine (K)	20	66,6
Tobramycine (T)	17	56,6
Gentamycine (G)	12	40
Erytromycine (E)	12	40
Lincomycine (L)	10	33,3
Pristinamycine (PT)	05	16,6
Ciprofloxacine (CIP)	04	13,3
Tétracycline (TE)	06	20
Acide fusidique (FA)	7	23,3
Vancomycine (VA)	00	00
Rifampicine (Rf)	01	3,3
Fosfomycine (Fos)	00	00



Figure 2: Profil électrophorétique des produits d'amplification du gène *mecA* à partir de l'ADN extrait de 5 ml de chaque bouillon inoculé par des souches de *Staphylococcus* résistantes à la méthicilline

Puits 1, 2, 3 : témoins positifs ; Puits 4 : marqueur de poids moléculaire ; Puits 9, 12, 13, 14, 15 : gène *mec A* amplifié ; Puits 5, 6, 7, 8, 10, 11, 14 et 16 : échantillons négatifs

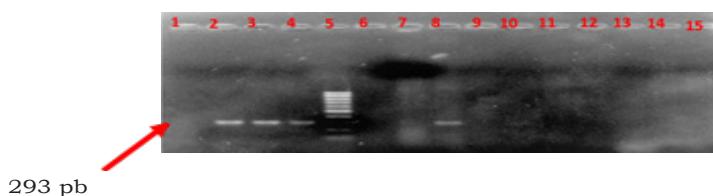


Figure 3 : Profil électrophorétique des produits d'amplification du gène *mec A* provenant de l'ADN extrait à partir de 40 ml de chaque bouillon inoculé par des souches de *Staphylococcus* résistantes à la méthicilline

Puits 2, 3,4 : témoins positifs ; Puits 5: marqueur de poids moléculaire ; Puit 8 : gène *mec A* amplifié ; Puits 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15: échantillons négatifs

DISCUSSION

Les résultats obtenus de l'antibiogramme direct réalisé à partir des bouillons d'hémocultures positives ont montré une concordance parfaite entre cette méthode et l'antibiogramme de référence. Cette méthode directe présente, cependant, des limites. En effet, il est impossible pour le moment d'évaluer les diamètres d'inhibition (inversement proportionnel à la CMI) qui est d'importance, surtout dans les infections graves, car l'un des objectifs de l'antibiogramme est la surveillance épidémiologique. La maîtrise de la technique (contrôle de l'inoculum) pour les flacons détectés positifs le week-end pourrait être une limite vu la densité bactérienne qui serait plus élevée. Bien vrai que les deux méthodes soient assez proches, des discordances ont été rapportées sur certains antibiotiques. A cet effet, chez les BGN, une DTM a été observée avec le mécillinam. Une observation similaire a été faite par Paquin *et al.* (2016). Dans leur étude, une erreur très majeure (souche R répondue S) et une erreur majeure (souche S répondue R) a été observée avec le mécillinam chez deux souches de *E. coli*. Les discordances observées pourraient s'expliquer par la densité élevée de l'inoculum surtout pour les flacons détectés positifs le weekend lors de la réalisation de la méthode directe. Il existerait une probabilité que le disque d'antibiotique déchargé pourrait être une cause de la discordance observée. Aussi, la catégorisation pourrait être erronée lorsque le diamètre d'inhibition est proche du diamètre critique d'où l'intérêt d'analyser les diamètres d'inhibition. Le mécillinam n'étant recommandé que dans le traitement des cystites, il ne saurait être employé dans le traitement de bactériémies.-Au cours de cette étude, chez les CGP, les discordances ont porté sur le cotrimoxazole, la céfoxidine, l'acide fusidique, les minocyclines, la tétracycline, et la rifampicine. Ces discordances pourraient s'expliquer par les mêmes raisons évoquées avec les BGN.

Par ailleurs, dans le cas de la détection du gène *mec A*, deux expériences de la PCR ont été élaborées. Dans la première expérience portant un volume 5 mL de chaque des bouillons inoculés, la

présence du gène *mec A* a été observée chez 16,6 % des souches de *Staphylococcus* Méti-R analysées. Ce taux est supérieur à celui obtenu par Kacou *et al.* (2011) en Côte d'Ivoire (3,7%) mais reste toutefois nettement inférieur à celui rapporté par Gba (2014) à Abidjan (37,5%).

En considérant la deuxième expérience au niveau de laquelle la PCR a été réalisée à partir de 40 mL de chaque des bouillons inoculés, le taux de positivité dans la détection du gène *mec A* connaît une hausse (23,3%). Ce taux reste toujours supérieur à ceux obtenus par Kacou *et al.* (2011) en Côte d'Ivoire (19,3 et 3,7%) mais reste inférieur à celui rapporté par Gba (2014) à Abidjan (37,5%). La comparaison entre les deux expériences dans leur efficacité dans la détection gène *mec A* a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux approches. Cela semble indiquer que des quantités similaires d'ADN ont été utilisées dans les deux expériences et met en lumière les limites de notre étude. En effet, la quantification des extraits d'ADN prélevés à partir des différentes quantités de bouillons utilisés dans les différentes expériences aurait permis de juger la pureté des acides nucléiques isolés. En effet, certains contaminants impactent significativement les résultats de la PCR et sont responsables d'analyses erronées, de résultats incohérents ou non reproducibles (Ahoyo *et al.*, 2006).

L'absence du gène *mec A* chez les autres souches de *Staphylococcus* dans les deux expériences peut s'expliquer pour certaines raisons, l'absence de contrôle interne et l'utilisation d'une seule amorce SCCmec. Le contrôle interne permet de vérifier l'absence des inhibiteurs. Nous avons remarqué au niveau du sang la présence de l'hémoglobine, l'immunoglobuline G, comme inhibiteurs de PCR. L'hémoglobine affecte l'action de l'ADN polymérase et ainsi diminue l'efficacité d'amplification et est responsable de l'extension de la fluorescence et l'immunoglobuline agit en se liant à l'ADN génomique simple brin entraînant ainsi une augmentation des valeurs des cycles de quantification.

CONCLUSION

Une identification rapide et spécifique de la bactérie responsable d'une infection est cruciale pour guider les cliniciens à prendre dans l'immédiat les bonnes décisions thérapeutiques. Notre travail a consisté, d'une part, à mettre en place

une technique de détection rapide du gène *mec A* chez les souches *Staphylococcus sp* et, d'autre part, à réaliser l'antibiogramme direct à partir des bouillons d'hémocultures positives.

La technique de PCR utilisée s'est avérée peu performante car elle a détecté le gène *mec A* avec un faible taux dans les bouillons d'hémoculture. Dans la première PCR réalisée à partir de 5 ml de chaque bouillon inoculé, la détection du gène *mec A* s'est révélée positive chez 5/30 (16,67%) souches de *Staphylococcus* Méti-R analysées. Dans une seconde PCR réalisée à partir de 40 ml de chaque bouillon inoculé, le taux de positivité a connu une légère hausse avec 7/30 (23,33 %) souches détectées.

Cette étude a toutefois présenté beaucoup de limites et les résultats présentés ne sont que préliminaires. En effet, la détermination de la qualité et de la quantité des extraits d'ADN prélevés à

partir des bouillons d'hémoculture utilisées aurait permis de juger de la pureté des acides nucléiques isolés. Il est connu que certains contaminants affectent les résultats de la PCR et sont responsables d'analyses erronées.

L'évaluation de la technique de l'antibiogramme direct sur des bouillons d'hémocultures positives dans cette étude a, quant à elle, montré une corrélation satisfaisante avec la méthode de référence. Les discordances observées concernaient soit des antibiotiques non utilisés dans le contexte de bactériémie. Aussi, le contrôle de l'inoculum surtout pour les flacons détectés positifs pour le weekend pourrait justifier ces discordances.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Joseph D . J. & Spain A. D. 2024. Septicémie et choc infectieux. <https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/infections/bact%C3%A9ri%C3%A9mie-septique%C3%A9t-choc-septique/septic%C3%A9t-choc-infectieux>. Consulté le 8 novembre 2025.
- OMS, 2025. Sepsis. <https://www.who.int/health-topics/sepsis#tab=tab>. Consulté le 8 novembre 2025.
- Belew, H., Tamir, W., Dilnessa, T., & Mengist, A. 2023. Phenotypic bacterial isolates, antimicrobial susceptibility pattern and associated factors among septicemia suspected patients at a hospital, in northwest Ethiopia: Prospective cross-sectional study. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 22(1), 47: 1-11.
- Kourtis A.P., Hatfield K., Baggs J., Mu Y., See I., Epson E., Nadle J., Kainer M.A., Dumyati G., Petit S., Ray S.M., Emerging Infections Program MRSA author group, Ham D., Capers C., Ewing H., Coffin N, McDonald L.C., Jernigan J. & Cardo D. 2019. Vital Signs: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections - United States. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 68(9):214-219.
- Marco F. 2017. Molecular methods for septicemia diagnosis. *Enfermedades Infectuosas y microbiología clínica*, 35 (9): 586-592.
- Kumar A., 2009. Optimizing antimicrobial therapy in sepsis and septic shock. *Clinique de soins d'urgence*, 25:733-51.
- Kacou N., Kazali A., Koffi K., Ekaza E., Kouablan A., Kangah T., Okpo S., Elogne-K. & Dosso M., 2011.- Community acquired skin infections in children in Abidjan: methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and exfoliative toxin production. *J Microbiol Antimicrobial*, 3: 201-205.
- Gba karine., 2014.- Travaux de master soutenu publiquement en 2014 ayant pour thème la détection du gène *mec A* chez *Staphylococcus aureus* à Abidjan a l'université Felix Houphouët Boigny. 76 P.
- Ahoyo AT., Baba Moussa L., Makoutode M ., Gbohoun A., BossouR., Dramane K., Sanni A ., Prevost G., 2006.-incidence de *staphylococcus aureus* résistant à la méticilline dans le service de néonatalogie du centre hospitalier département de Zou et des Collines au Benin.*Archive de pediatrie*, 13 :1391-1396.