




# Rôle du Laboratoire de Microbiologie dans le bon usage des anti-infectieux

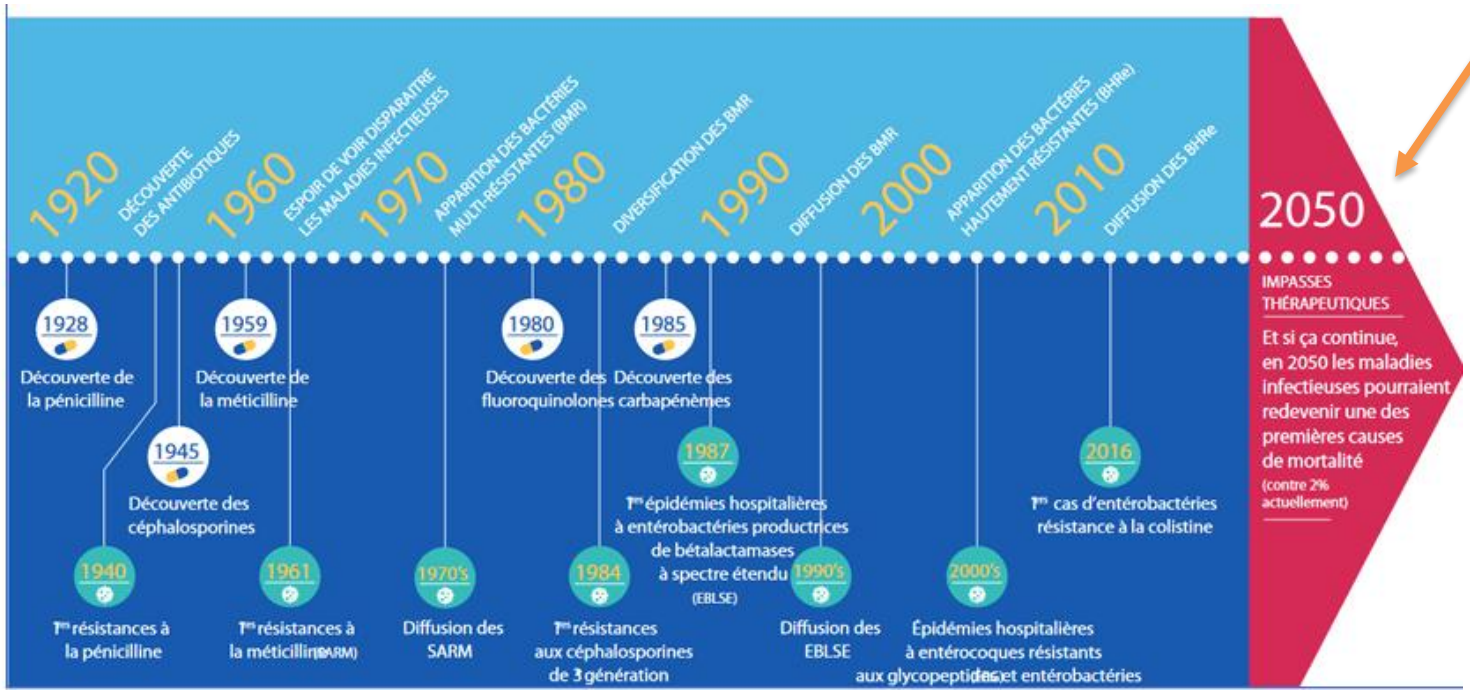
**Pr. Ilhem BOUTIBA**
**Laboratoire National de Référence de Surveillance de LART**
**Laboratoire de Microbiologie - Hôpital Charles Nicolle de Tunis**

**STPI - Sousse, 19 Novembre 2026**

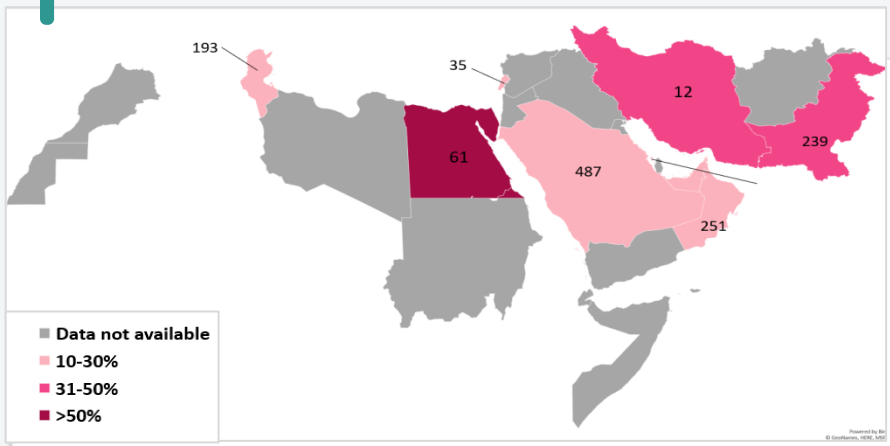
# INTRODUCTION

- ✓ La RAM demeure une menace majeure pour la santé publique, l'efficience des soins et la sécurité des patients

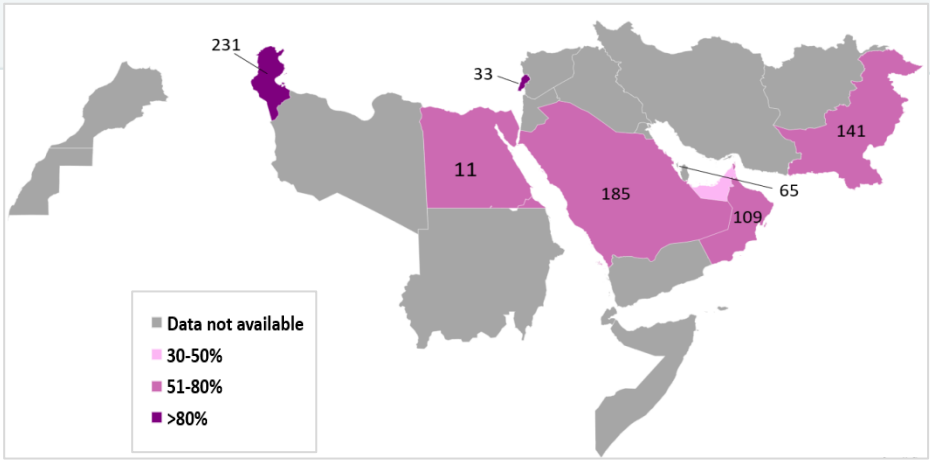
- ✓ Emergence de souches toto-résistantes fait craindre un retour à l'ère pré - antibiotiques !!



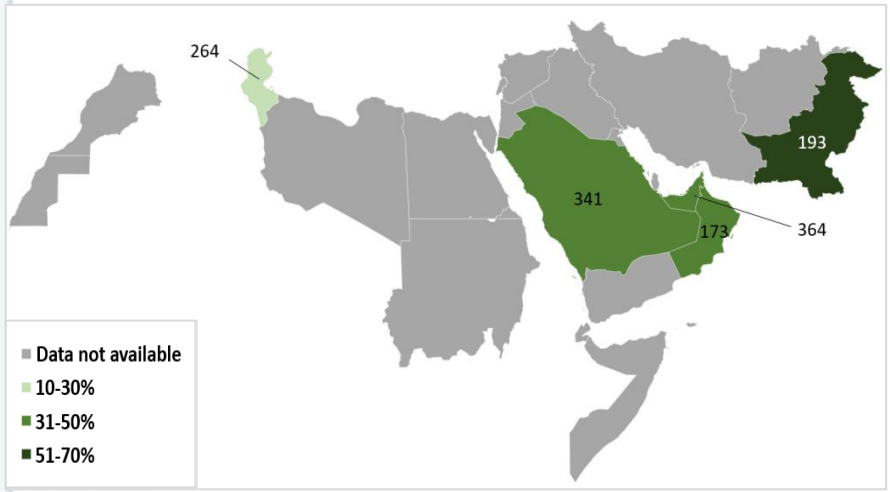
# AMR in Tunisia *VS* the Eastern Mediterranean Region-GLASS




**Carbapenem-resistant *K. pneumoniae* among blood isolates**




**Carbapenem-resistant *A. baumannii* among blood isolates**

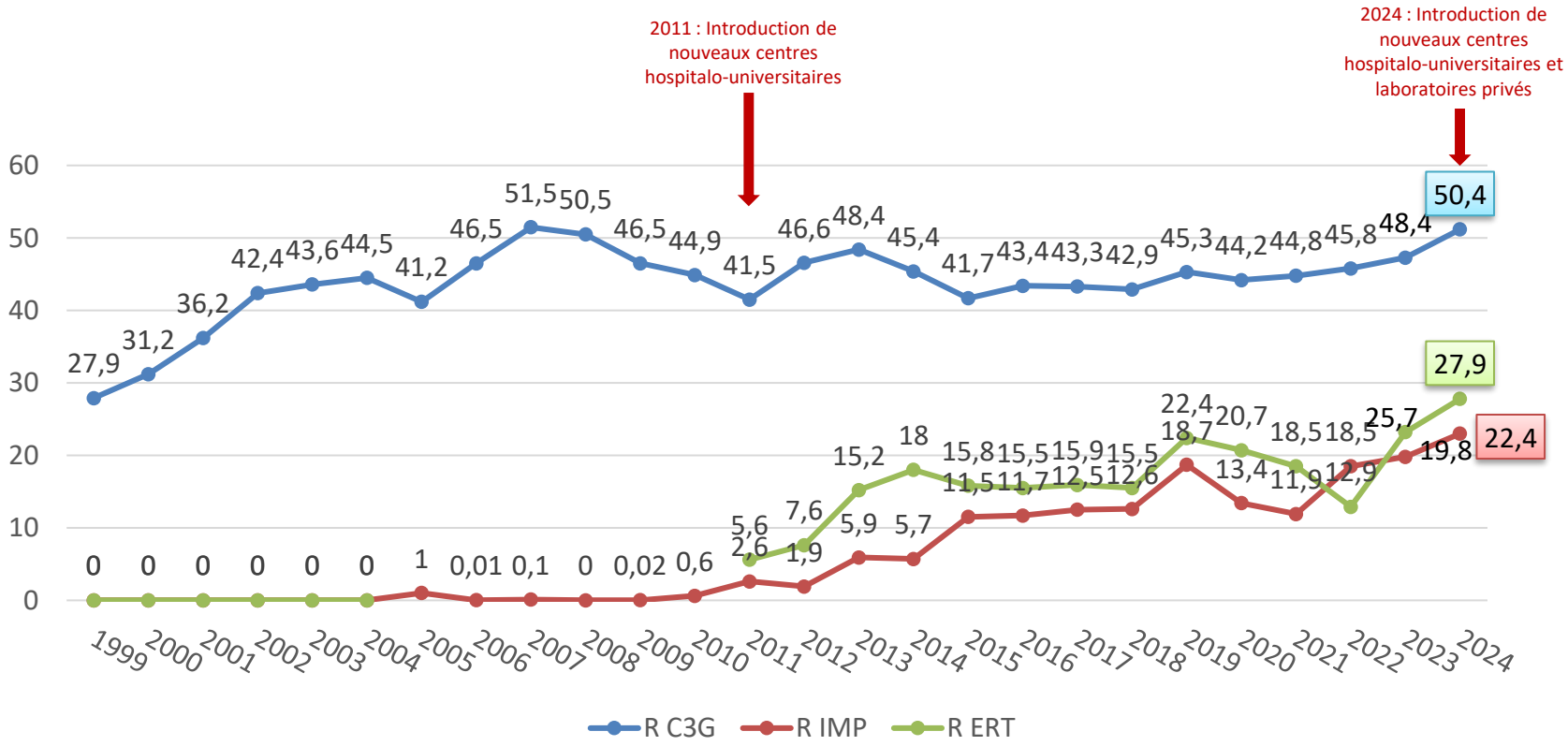



**Methicillin-resistant *S. aureus* among Blood isolates**



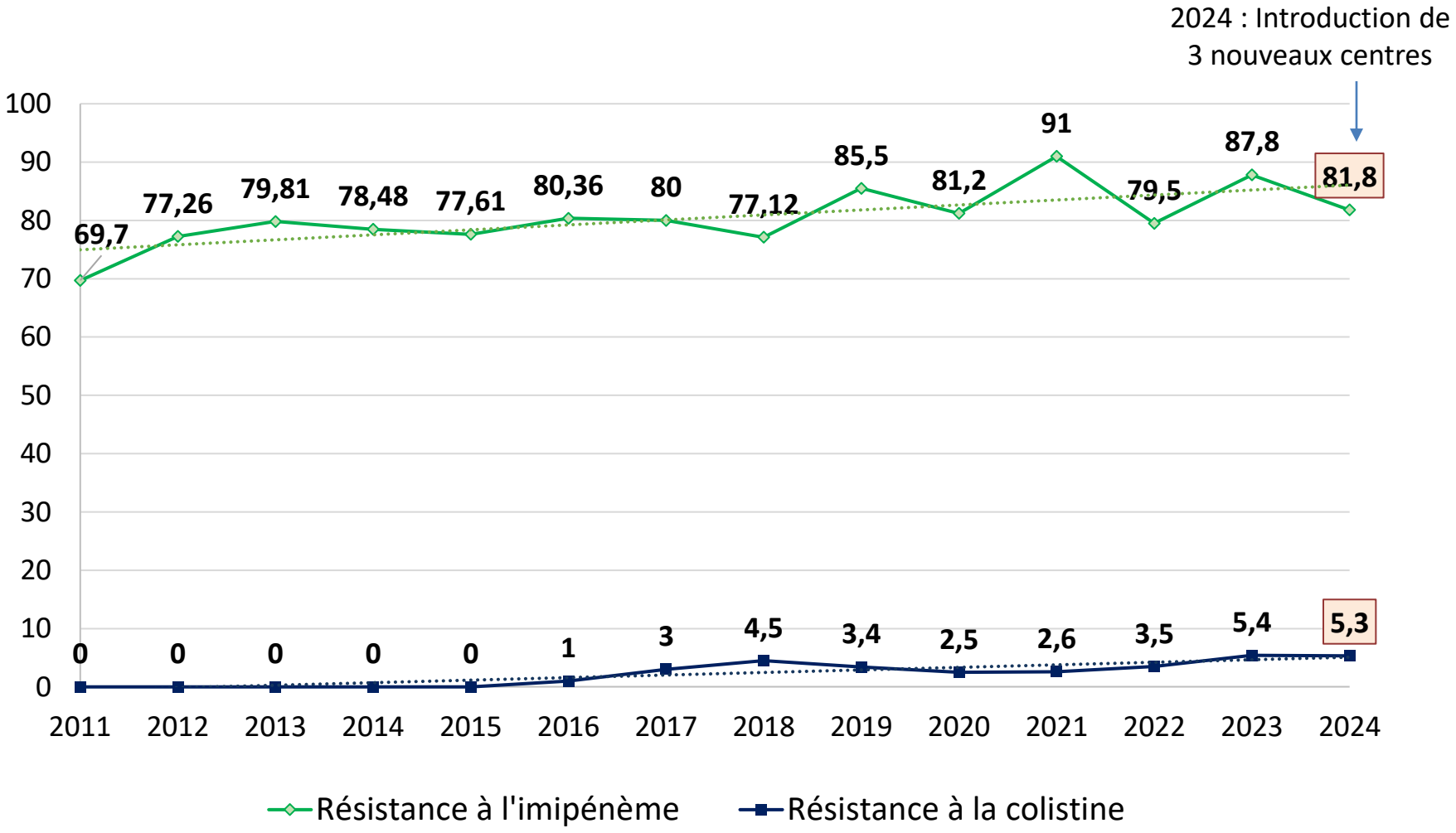

**Colistin-resistant *K. pneumoniae* among blood isolates**

# Evolution annuelle de la résistance de *K. pneumoniae* aux céphalosporines de 3ème génération et aux carbapénèmes

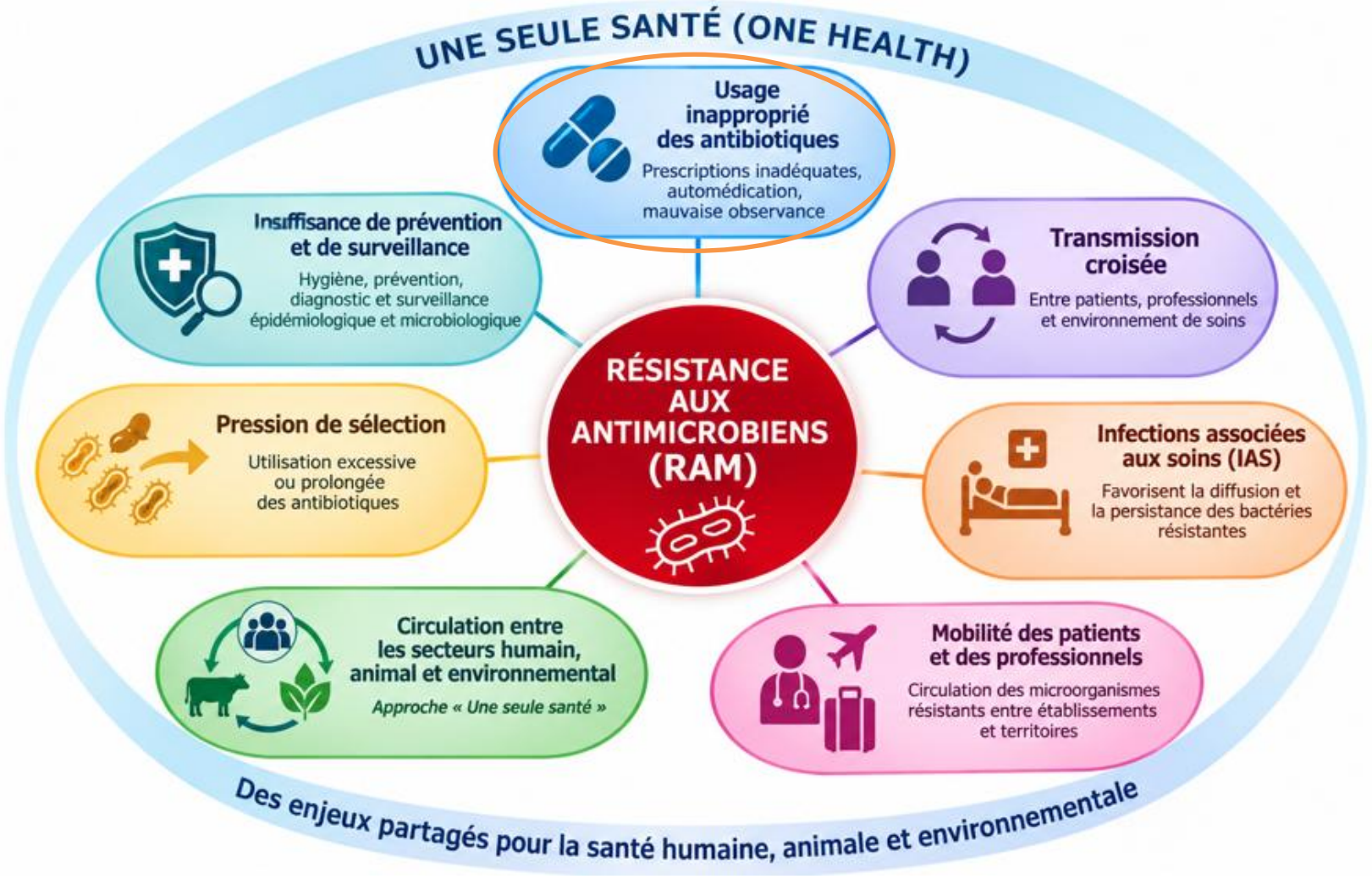



32,2% de R à colistine!!

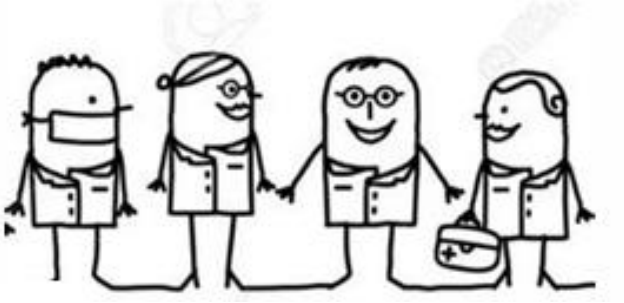
## Evolution annuelle de la résistance d'*A. baumannii* à l'imipenème et à la colistine



# La RAM : un phénomène multifactoriel



# Bon usage des antibiotiques



## Comité AMS:

**Equipe pluridisciplinaire:** Médecins prescripteurs, **microbiologiste**, pharmacien, infectiologue, réanimateur, …)

↳ Rôle de conseil dans leurs domaines de compétences respectifs

**Référent en antibiothérapie = Rôle central**

# Laboratoire de Microbiologie: de l’analyse au conseil

Le laboratoire n’est pas seulement un producteur de résultats !!

**↳Trois fonctions principales :**

## Fonction diagnostique

- ✓ Identifier l’agent infectieux.
- ✓ Confirmer ou écarter une infection bactérienne.
- ✓ Déterminer la sensibilité aux ATB.

## Fonction thérapeutique

- ✓ Aider au choix de l’antibiotique.
- ✓ Favoriser la désescalade.
- ✓ Éviter les traitements inutiles ou excessivement larges.
- ✓ Contribuer à la réévaluation du traitement.

## Fonction de santé publique

- ✓ Surveiller les profils de résistance (Surveillance de la RAM: ATB cumulatif).
- ✓ Détecter les bactéries hautement résistantes et diffuser les alertes (Rôle de prévention).
- ✓ Alerter en cas d’émergence inhabituelle.
- ✓ Participer aux réseaux de surveillance
- ✓ Orienter les recommandations nationales.

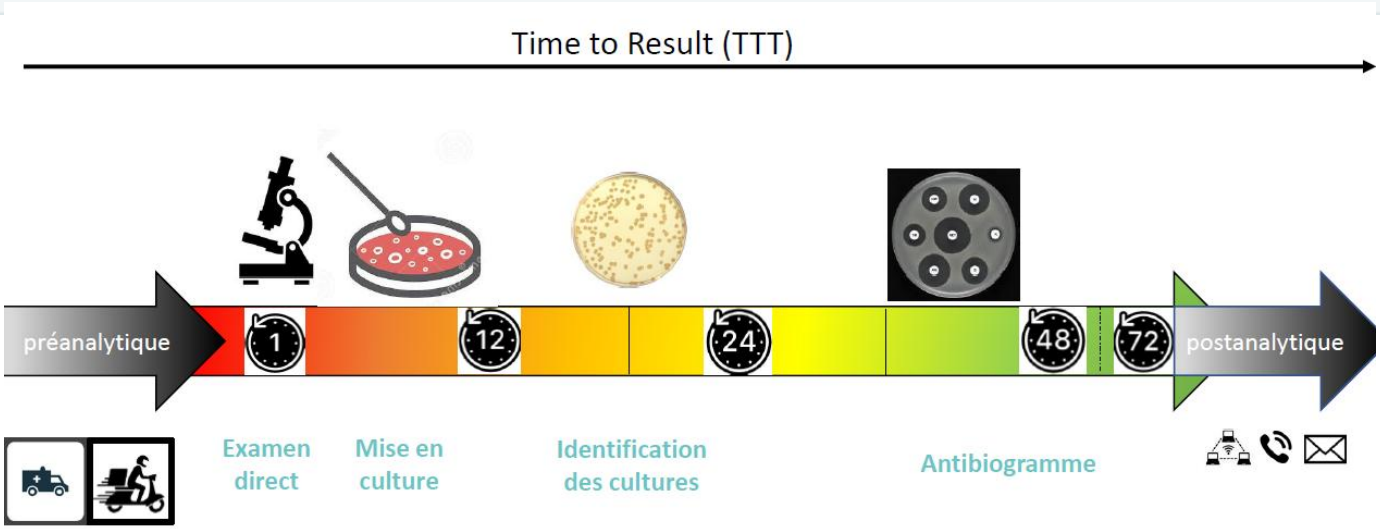
## Rôles: Aide au diagnostic de l'infection, à l'initiation et au suivi de l’ATB

**Objectifs:** Optimiser la sélection, l'utilisation et l'interprétation des tests diagnostiques afin d'améliorer les résultats pour les patients et de réduire le nombre de tests inutiles, et de réduire les coûts inutiles des soins de santé.

Données microbiologiques opportunes, pour des soins aux patients plus sûrs, plus efficaces et plus efficients



# Faire plus vite




**Organismes vivants !!**

– Au nombre de plusieurs milliers

– En évolution permanente: nouveaux gènes, protéines

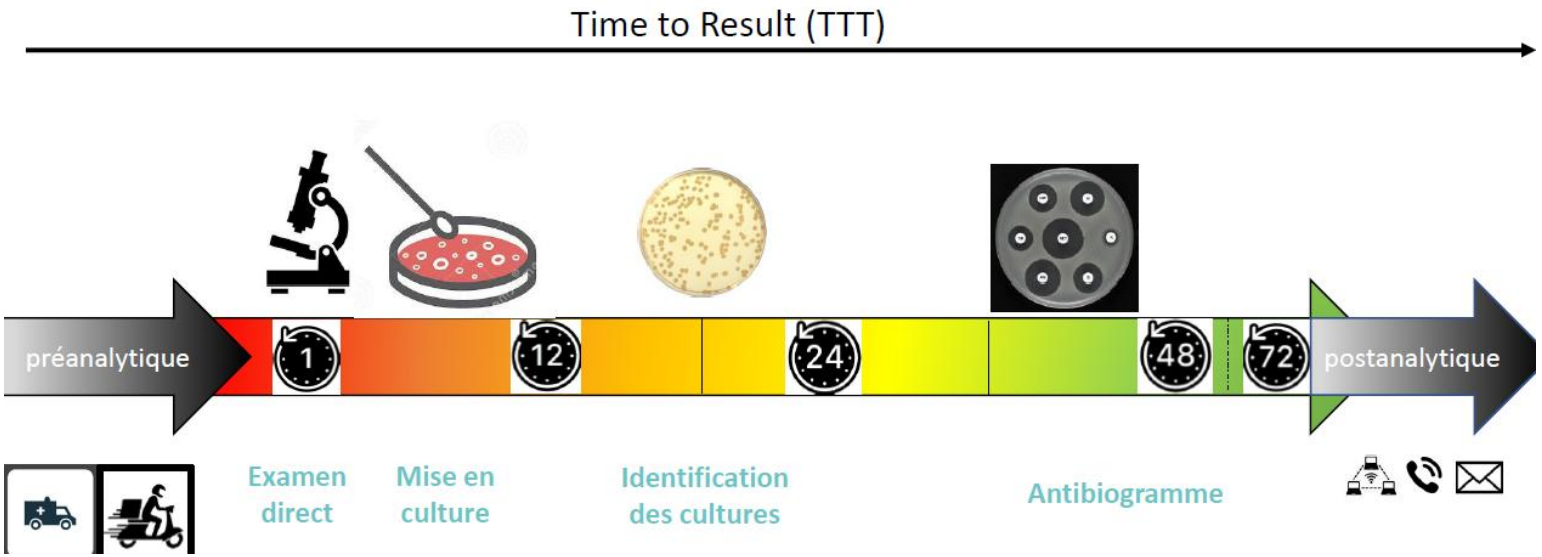
– Certains exigeants, intracellulaires, de culture difficile: coqueluche (10 jours à donner une culture sur milieu synthétique)

**• <u>Analyse bactériologique conventionnelle:</u>**

– Succession d'étapes techniques nécessitant une **expertise humaine**

– **Délai de rendu:** 2 à 3 jours (3 mois pour les mycobactéries)

# Séquences du diagnostic bactériologique conventionnel

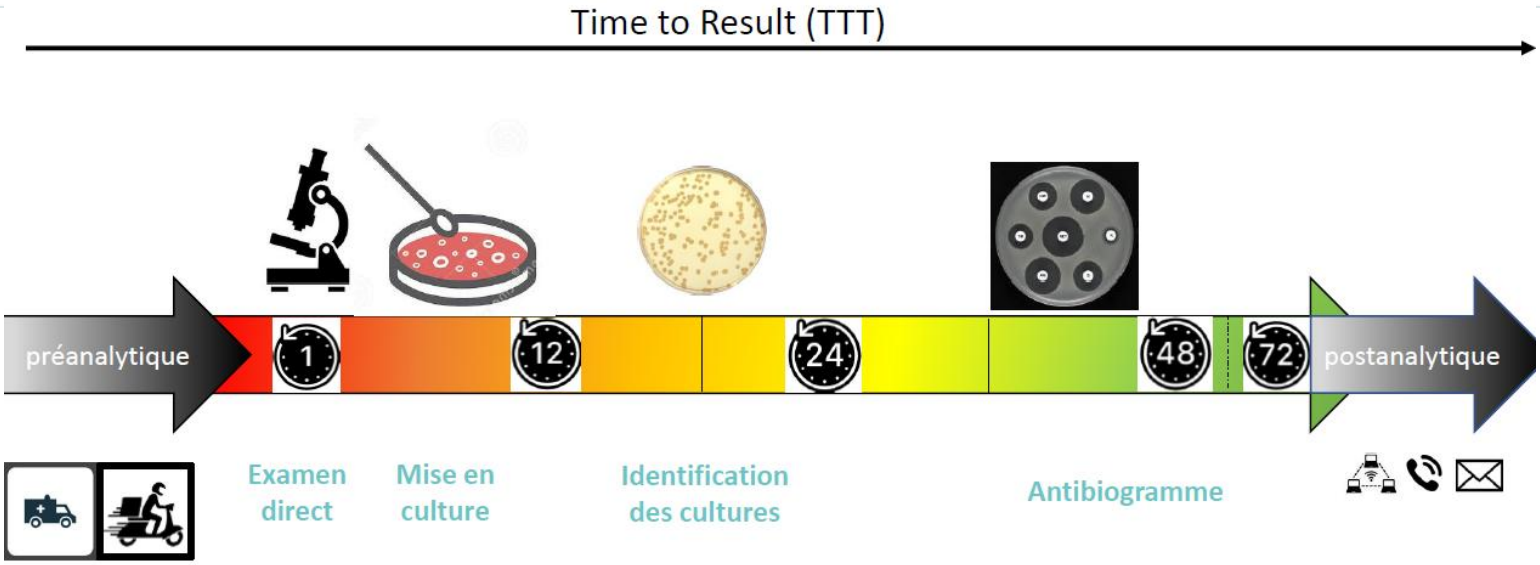



Premiers résultats microbiologiques

| Antibiothérapie probabiliste | Antibiothérapie probabiliste orientée | Antibiothérapie adaptée |
|---|---|---|

Réévaluation à J2-J3

# Faire plus vite




## Optimiser le délai de rendu des résultats

❑ **Organisationnel** : élargissement des plages d'ouverture (24h/24 et 7/7), traitement des prélèvements à J0...

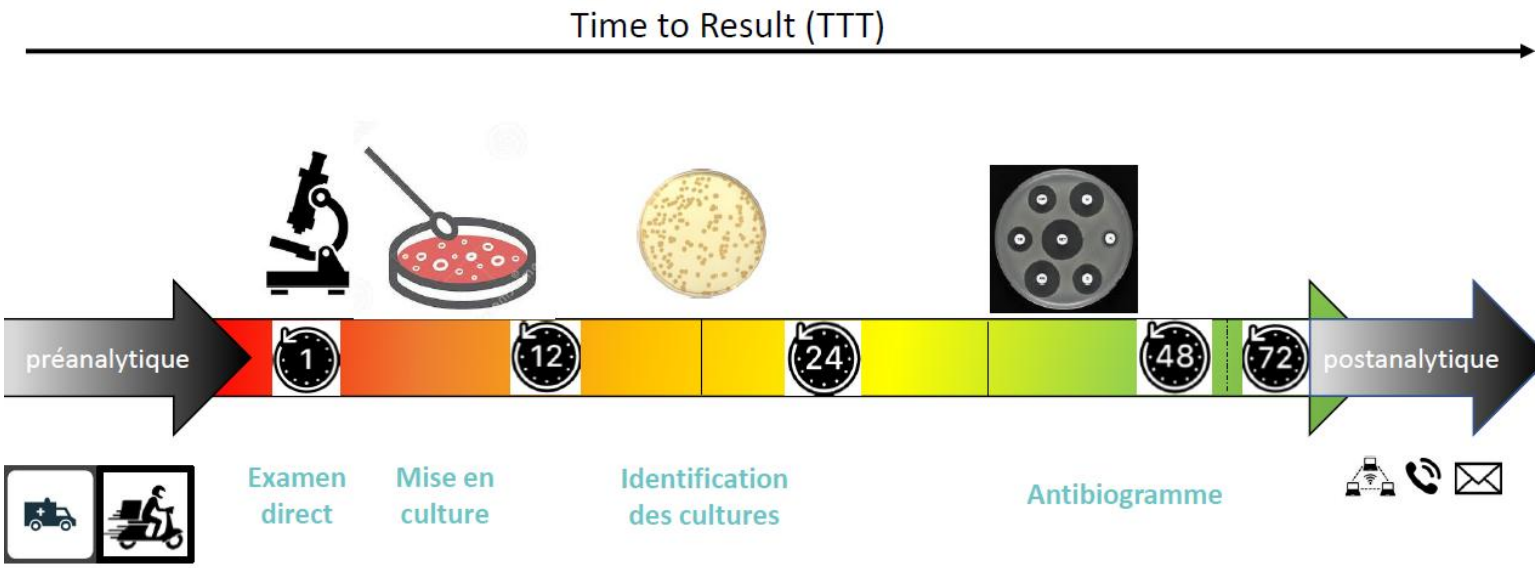
❑ **Nouvelles techniques :** Spectrométrie de masse, Antibiogramme en milieu liquide, antibiogramme rapide en milieu solide…

❑ **Nouvelles approches:** Antibiogramme à partir du prélèvement (Hémocultures, LCS, …)

❑ **Nouvelles technologies:** Approche syndromique moléculaire, détection de gènes de résistance…

# Le délai de réponse : un enjeu thérapeutique

Plus le résultat est rapide, plus la prescription peut être précise !




**Le laboratoire doit rechercher un équilibre entre :**
**Rapidité ; fiabilité ; interprétation et communication avec le clinicien**

## Le parcours du bon usage commence au prélèvement (phase pré-analytique)

### La qualité du prélèvement conditionne la qualité de la prescription

**Insister sur les étapes suivantes :**

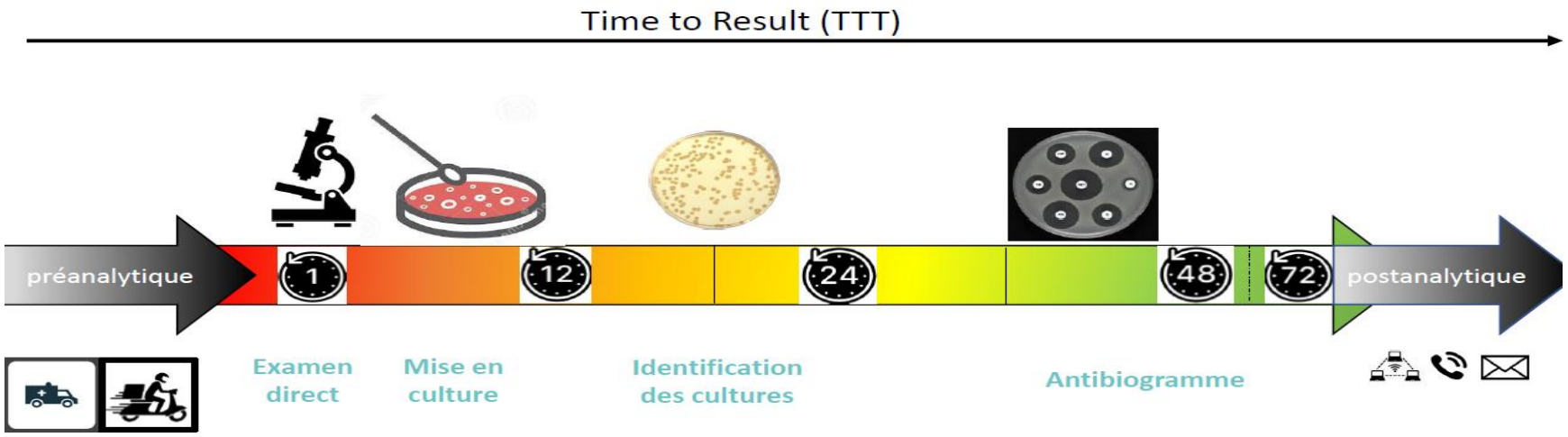
- ✓ **Indication correcte de l'analyse et du prélèvement**.
- ✓ Prélèvement réalisé avant l'antibiothérapie (lorsque cela est possible).
- ✓ Respect des conditions d'asepsie.
- ✓ Volume et type d'échantillon adaptés.
- ✓ Transport rapide et approprié.

**Renseignements cliniques complets +++:**

- ✓ Site infectieux ;
- ✓ Age et facteurs de risque de BMR;
- ✓ Antibiothérapie en cours ;
- ✓ Contexte communautaire ou hospitalier ;
- ✓ Distinction entre colonisation et infection +++

***Un prélèvement inadéquat peut conduire à un faux diagnostic, à une antibiothérapie inutile ou à la non-détection d'une infection grave.***

# Optimiser le délai de rendu des résultats: Place des nouvelles technologies




**à partir des prélèvements primaires (J0)**
-ATB Direct
-mPCR : gènes de résistances
-Tests chromogéniques et immuno-chromatographiques
-PCR spécifiques
- PCR multiplexes (approche syndromique ++)

**à partir des colonies sur cultures**

-MALDI-TOF-MS
-PCR spécifiques
-Tests chromogéniques et immuno-chromatographiques

**Tests complémentaires**

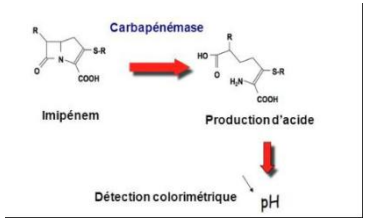
-PCR : gènes de résistance
-Tests immuno-chromatographiques

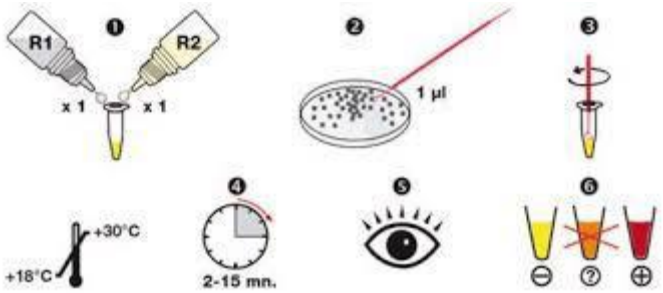
# Tests Phénotypiques (colorimètriques et ICT)

## Modalités de réalisation

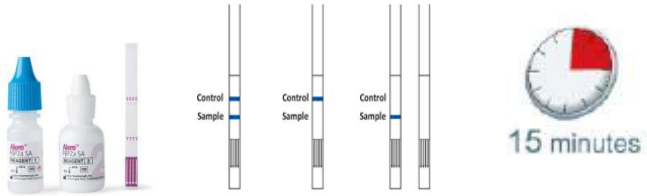
- ✓ Sur colonies isolées, sur subculture de 4h
- ✓ Lecture visuelle en quelques minutes => 2 -4h
- ✓ Coûts raisonnables

**Objectifs:** Orientation rapide de l'identification ou détection de phénotypes de résistance (pénicillinase, BLSE, carbapénèmase, colistine, …)

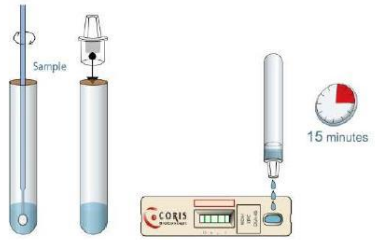



β LACTA test / *Carbatest (BGN)*




Détection PLP2a (SARM)




Détection de carbapénémase et de résistance à la colistine (BGN)

# Outil de Biologie moléculaire: "PCRs " Ciblées

**Réponse ultra-rapide : de 15 min à 2h**

- **A la demande (adaptée à l'urgence)**
- **Compatibles avec de nombreuses matrices biologiques (types de prélèvement)**
- Simple et User friendly(«Nespresso like») ↳ compatible avec des approches de biologie médicale délocalisée

**Diagnostic rapide**
Sur prélèvements primaires
O Cdiff
O MTb-Rif
O SGB
O Grippe
O Ct/Ng/Mg

**Dépistage de portage**
A partir d'écouvillon
oEPC
oERV
oSARM
oSGB

**Identification précoce de la résistance**
Sur surnageant d'hémocultures
oSARM
oEPC
oERV

**Test de confirmation Sur colonies isolées**
oEPC
oERV
omcr1

**Mise en place d'organisation Innovante**
oGrippe
oCovid-19
oSGB …

+ Pour l'identification : PCR spécifiques et universelle (PCR rADN16S/18S …)

# Approche syndromique : PCR multiplexe

- Infections bactériennes décapitées par une ATB préalable
- Germes non cultivables
- Pathogènes peu fréquents et non recherchés en première intention par culture

# Identification rapide du ou des pathogènes par approche syndromique

**Un syndrome**

↓

Un seul prélèvement

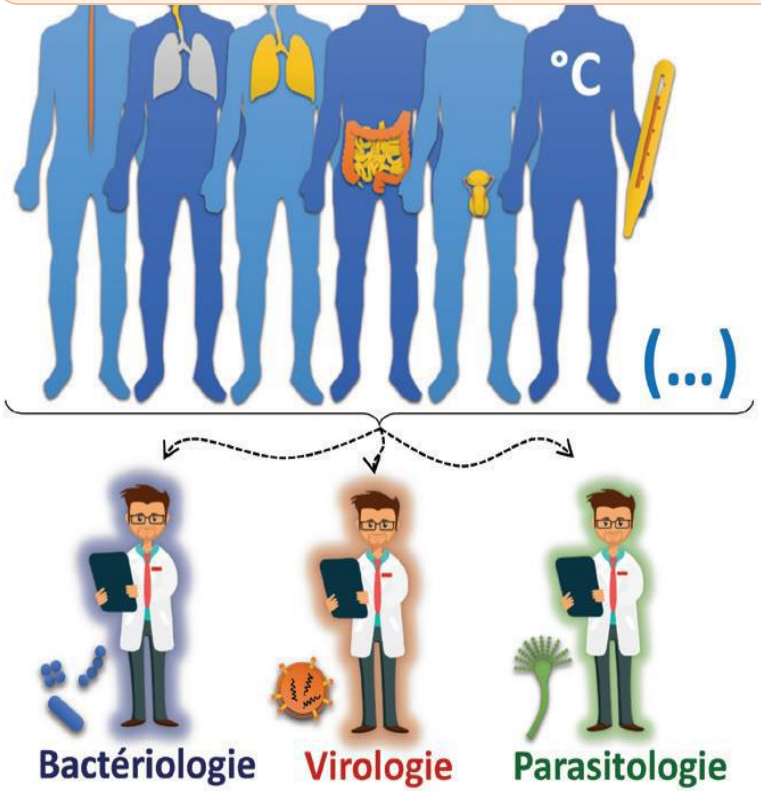
↓

Un seul test

↓

Un seul compte rendu

**Plusieurs panels pour l'exploration de la quasi-totalité des infections +++**




**Place de la confrontation clinico-biologique +++**

# Nouvelles technologies

**Révolution technologique +++ : Coût ↑↑**

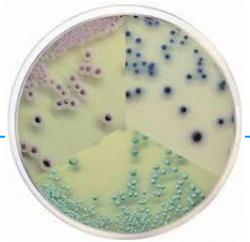
**Pas de solution idéale !**

↳ Important de discuter de ce qui est possible avec son microbiologiste et des indications au cas par cas !

# Réalité !









Pré-analytique → Examen direct → Culture identification → Etude de la sensibilité aux ATB → Adaptation traitement

Prélèvement dans le service de soins
Acheminement au Laboratoire

Réception/Saisie SIL
Mise en culture
Examen direct

Examen des cultures
Choix des colonies d'intérêt
identification

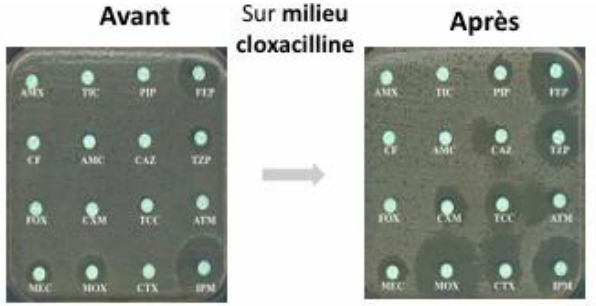
Antibiogramme / CMI

# Etude de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques

# Antibiogramme = Gold standard

- ✓ Pour la plupart des infections bactériennes
- ✓ A partir d'une **<u>colonie isolée</u>**
- ✓ Réalisé sauf si bactérie responsable de l'infection !!

- Par diffusion en milieu gélosé

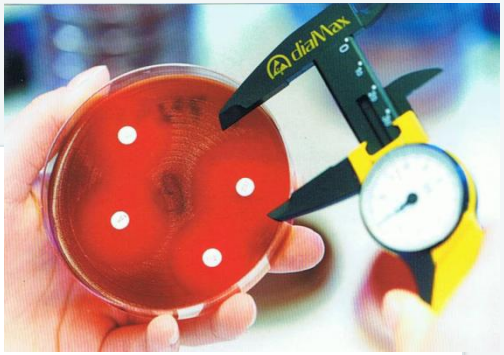



- Par microdilution en milieu liquide (automatisé)



Ex : Vitek®2

# Antibiogramme = Gold standard



- ✓ Lecture 18-20h (parfois 48h pour certains couples bactérie- ATB)
- ✓ Estimation de la CMI par mesure des diamètres d'inhibition
  - ↳ Catégorisations en S / SFP /R (selon recommandations CLSI, EUCAST/CA-SFM)

**Objectifs:**

✓Confirmer le diagnostic d'espèce ou de genre par la mise en évidence des résistances naturelles attendues

✓Mettre en évidence les résistances acquises par la bactérie

✓Mise en évidence de mécanismes de résistance

↳ Résultats s'intégrant pleinement dans la décision médicale …

# Nouvelles approches: Antibiogrammes précoces

## Antibiogramme phénotypique rapide

### 1. RAST (Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing)

EUCAST EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING
European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

- Depuis avril 2022, protocole de **détermination rapide de la sensibilité aux ATB** (DRSA) ou RAST directement à partir d'un flacon positif **d'hémoculture**
  - **Automates validés** : BD, BioMerieux et Thermo Fisher
- Basé sur l'antibiogramme par **diffusion en milieu gélosé** avec lecture des diamètres critiques adaptés à des temps d'incubation courts **(4h, 6h et 8h)**
  - Possibilité de lecture à 16-20 h (difficulté de lecture de certains diamètres)
- **Pas de surcoût** par rapport à la méthode standard de diffusion en milieu gélosé
- Espèces pour lesquelles cette technique est validée
  - *Escherichia coli*
  - *Klebsiella pneumoniae*
  - *Pseudomonas aeruginosa*
  - *Staphylococcus aureus*
  - *Streptococcus pneumoniae*
  - *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*
  - *Acinetobacter baumannii*



**L'identification de l'espèce doit être connue avant et sur culture précoce (3-4 heures)**

**CA-SFM / EUCAST 2023**

# Nouvelles approches / Nouvelles techniques
# Antibiogrammes directs

## Antibiogramme phénotypique conventionnel → rapide

Exemple de l'hémoculture

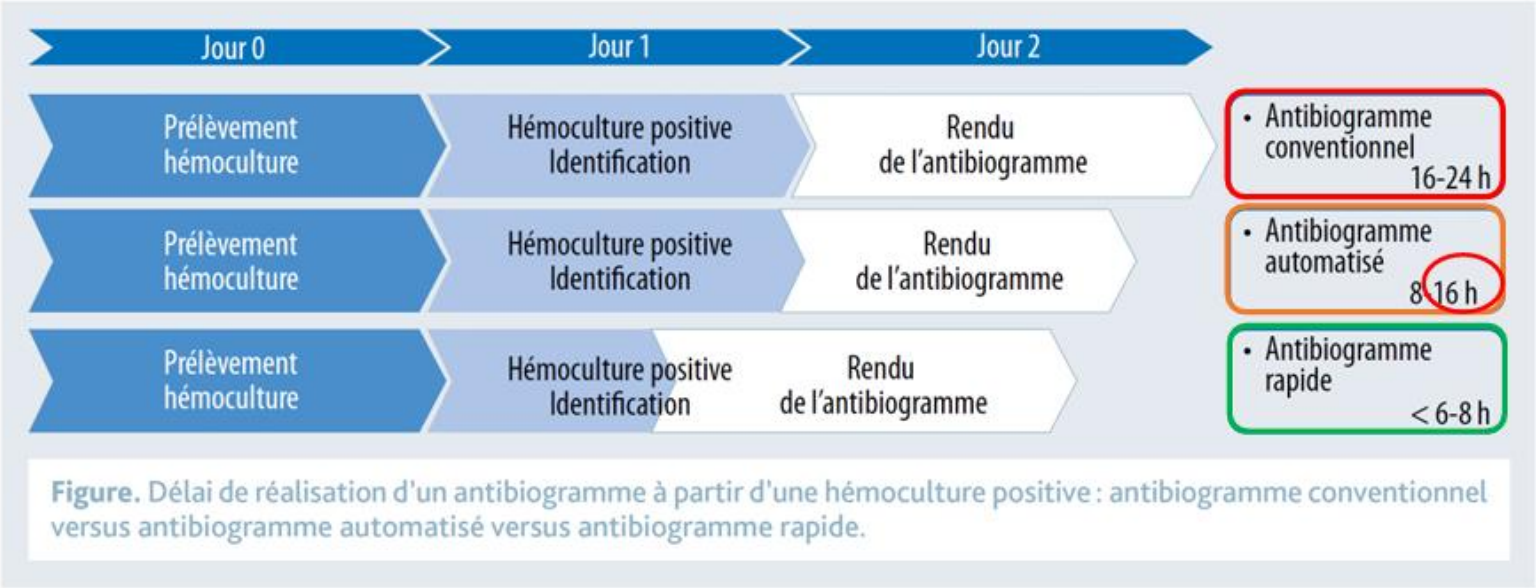
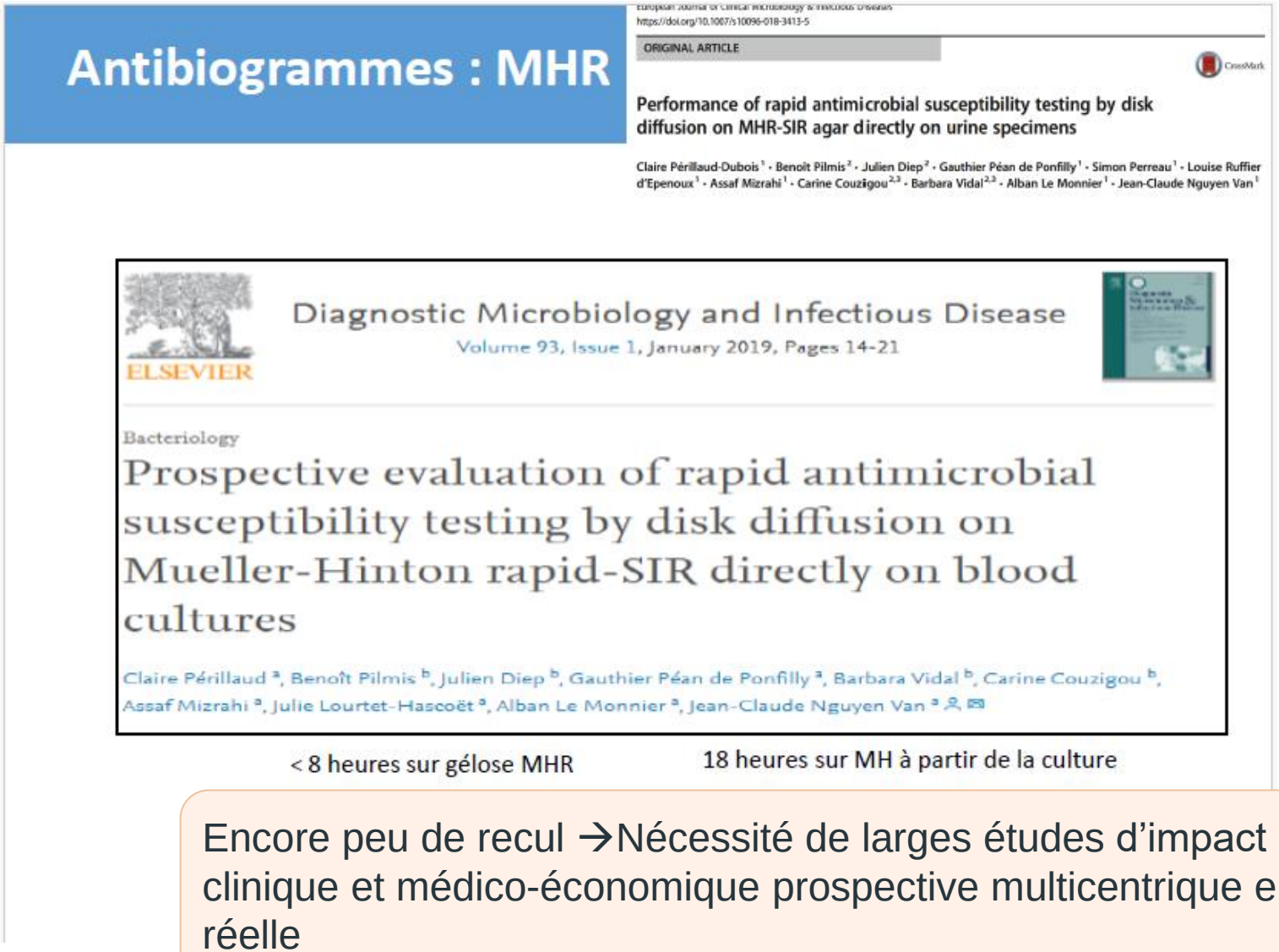



**Figure.** Délai de réalisation d'un antibiogramme à partir d'une hémoculture positive : antibiogramme conventionnel versus antibiogramme automatisé versus antibiogramme rapide.

*O. Barraud, La lettre de l'Infectiologue, Tome XXXIX - n° 6 - novembre-décembre 2024*

# Antibiogrammes : MHR

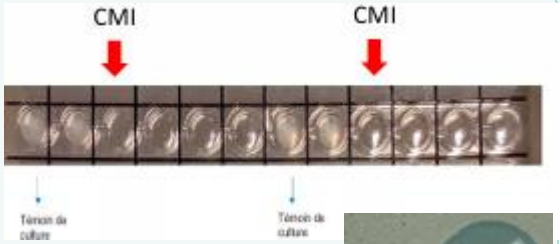


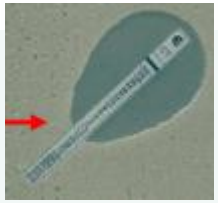

Encore peu de recul →Nécessité de larges études d'impact clinique et médico-économique prospective multicentrique en vie réelle

# Détermination de la CMI

- Délai de rendu : + 24 h …
- Déterminant majeur dans l'optimisation de l'antibiothérapie

- Dilution en milieu liquide
- Gradient de concentration



# Quand utiliser la CMI en pratique clinique ?

*antibiotics*

MDPI

*Review*

## When and How to Use MIC in Clinical Practice?

Sophie Magréault [1,2], Françoise Jauréguy [2,3], Etienne Carbonnelle [2,3] and Jean-Ralph Zahar [2,3,*]

*Antibiotics* 2022, *11*, 1748.

**Table 1.** Microbiological determinants warranting MIC determination according to the EUCAST guidelines [11].

| Microbiological Determinants | Bacteria of Concern | Antibiotic of Concern |
|---|---|---|
| Agar diffusion method as inappropriate for some antibiotics | Gram-positive bacteria | Daptomycin<br>Dalbavancin<br>Oritavancin<br>Telavancin |
| | *Staphylococcus* spp. | Vancomycin<br>Teicoplanin |
| | *Enterobacterales*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. maltophilia* | Colistin, Cefiderocol |
| Absence of detection of the resistance level to β-lactams | *Streptococcus pneumoniae* (reduced susceptibility to penicillin strains)<br>*Haemophilus influenzae* (BLNAR * strains) | β-Lactams |
| Detection of low-level antibiotic resistance | *Salmonella* sp. | Ciprofloxacin |
| MIC creep | *Staphylococcus aureus* | Vancomycin |
| Preserve broad-spectrum antibiotics | *Enterobacterales* | Piperacillin/tazobactam<br>Cephalosporins |

* beta-lactamase-negative ampicillin resistance.

* Hors situation d'absence de diamètres critiques pour certains couples ATB/bactérie (ex : *Salmonella* et azithromycine)

# Quand utiliser la CMI en pratique clinique ?

*antibiotics*

MDPI

*Review*

## When and How to Use MIC in Clinical Practice?

Sophie Magréault [1,2], Françoise Jauréguy [2,3], Etienne Carbonnelle [2,3] and Jean-Ralph Zahar [2,3,*]

*Antibiotics* **2022**, *11*, 1748.

**Table 3.** Microbiological and clinical situations for which we strongly recommend MIC determination.

| | | |
|---|---|---|
| Bacterial resistance | Whenever an alternative to the reference treatment is used | • ESBL (e.g., use of tazocilline or cefepime)<br>• Carbapenemase (e.g., use of combination of car-bapenems) |
| Infection site | When antibiotics with limited diffusion are used. | • Meningitis (e.g., β-lactams in infection by *S. pneumoniae* or *H. influenzae*) |
| Patient characteristics | When the population is at risk of under-exposure | • Augmented renal clearance (e.g., vancomycin or most β-lactams)<br>• Acute care patients |
| Patient outcome | When the outcome is not favorable | • Persistence of bacteremia<br>• Unfavorable clinical-laboratory outcome |

# Résultat = Outil d'aide à la décision

**Lecture interprétative des antibiogrammes / CMI (système expert) +++**

**Rendu sous forme d'antibiogrammes « restreints » (ou «ciblés») +++**

↳ Améliorer la prescription des antibiotiques

- ATB à plus faible impact écologique
- Limiter l'émergence de bactéries résistantes

**Conseils de prise en charge sur les comptes rendus:**

- ✓ Signaler un profil de résistance particulier ;
- ✓ Attirer l'attention sur une option thérapeutique privilégiée ;
- ✓ Alerte du référent si antibiothérapie non adaptée ;
- ✓ Proposer un commentaire clinique ;
- ✓ Informer rapidement l'équipe médicale en cas de résultat critique ;
- ✓ Recommander une confirmation ou rajout d'analyse.

# Le laboratoire et la désescalade

Passer d’un traitement probabiliste à un traitement ciblé

↳ Le laboratoire intervient dans les différentes étapes :

1. **Avant le résultat :** Contribuer à la stratégie de prélèvement

2. **Pendant le traitement probabiliste :** Fournir une première orientation (Antibiogramme cumulatif – Régulièrement mis à jour +++)

3. **À l’identification du germe :** Réévaluer la pertinence du traitement (connaissance des résistances naturelles +++)

4. **À l’antibiogramme :** Proposer une adaptation ciblée

5. **Après la réévaluation :** Participer au suivi et à la surveillance

# Fonction d’alerte et de surveillance

**Système d’alerte pour :**

- ✓ BMR, *C. difficile* toxinogène, BK+...
- ✓ Les résultats pathologiques pouvant nécessiter une modification de la prise en charge (Hémocultures +, antigénurie Légionelle +, LCS +…)

  ↳ Appel pour les services / Mail E-PCI +++

**Surveillance épidémiologique :**

- ✓ Données trimestrielle ou annuelle (données locales)
- ✓ Participation aux réseaux de surveillance (National: LART / International: GLASS)
- ✓ Surveillance intégrée et opérationnelle +++

# CONCLUSION



Le laboratoire de microbiologie: Rôles de l'analyse au conseil
↳ trois fonctions principales :

## Fonction diagnostique

- ✓ Identifier l'agent infectieux.
- ✓ Confirmer ou écarter une infection bactérienne.
- ✓ Déterminer la sensibilité aux ATB.

## Fonction thérapeutique

- ✓ Aider au choix de l'antibiotique.
- ✓ Favoriser la désescalade.
- ✓ Éviter les traitements inutiles ou excessivement larges.
- ✓ Contribuer à la réévaluation du traitement.

## Fonction de santé publique

- ✓ Surveiller les profils de résistance (Surveillance de la RAM: ATB cumulatif).
- ✓ Détecter les bactéries hautement résistantes et diffuser les alertes (Rôle de prévention).
- ✓ Alerter en cas d'émergence inhabituelle.
- ✓ Participer aux réseaux de surveillance
- ✓ Participer à orienter les recommandations nationales.




# Merci pour votre attention

STPI - Sousse, 19 Novembre 2026