Université de Strasbourg

FACULTÉ DE PHARMACIE

N° d'ordre : _____

MÉMOIRE DE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

_____

METHODES D'EVALUATION DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES REALISABLES DIRECTEMENT A PARTIR DE FLACONS D'HEMOCULTURES POSITIFS : REVUE DE LA LITTERATURE

Présenté et soutenu par

GUNTZ Nicolas

Soutenu le 25/10/2024 devant le jury constitué de

Madame la Professeur **Valérie GEOFFROY**, Présidente du jury

Monsieur le Docteur **Frédéric SCHRAMM**, Directeur de thèse

Monsieur le Professeur **Benoit JAULHAC**, Membre du jury

Madame la Docteur **Émilie TALAGRAND-REBOUL**, Membre du jury

Monsieur le Docteur **Yvon RUCH**, Membre du jury

Approuvé par le Doyen et par le Président de l'Université de Strasbourg

Doyen	Esther KELLENBERGER
Directeurs adjoints	Julien GODET
	Béatrice HEURTAULT
	Emilie SICK
Directeur adjoint étudiant	Léo FERREIRA-MOURNAUX

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

Professeurs :

Philippe	BOUCHER	Physiologie
Nathalie	BOULANGER	Parasitologie
Lina	BOUREL	Chimie thérapeutique
Pascal	DIDIER	Biophotonique
Saïd	ENNAHAR	Chimie analytique
Valérie	GEOFFROY	Microbiologie
Philippe	GEORGEL	Bactériologie, virologie
Jean-Pierre	GIES	Pharmacologie moléculaire
Béatrice	HEURTAULT	Pharmacie galénique
Esther	KELLENBERGER	Bio-informatique
Maxime	LEHMANN	Biologie cellulaire
Eric	MARCHIONI	Chimie analytique
Francis	MESSELIN	Droit et économie pharm.
Yves	MELY	Physique et Biophysique
Jean-Yves	PABST	Droit économie pharm.
Françoise	PONS	Toxicologie
Valérie	SCHINI-KERTH	Pharmacologie
Florence	TOTI	Pharmacologie
Thierry	VANDAMME	Biogalénique
Catherine	VONTHRON	Pharmacognosie
Pascal	WEHRLÉ	Pharmacie galénique

Professeurs-praticiens hospitaliers

Julien	GODET	Biostatistiques - science des données
Jean-Marc	LESSINGER	Biochimie
Bruno	MICHEL	Pharm. clinique santé publique
Pauline	SOULAS-SPRAUEL	Immunologie
Geneviève	URBAUD-SÉQUIER	Pharmacocinétique

Enseignants contractuels

Alexandra	CHAMBRIET	Pharmacie d'officine
Matthieu	FOHRER	Pharmacie d'officine
Philippe	GALAIS	Droit et économie pharm.
Philippe	NANDE	Ingénierie pharmaceutique
Caroline	MILLER - WEHRLÉ	Pharmacie d'officine

Maîtres de Conférences :

Nicolas	ANTON	Pharmacie biogalénique
Fareeha	BATOOL	Biochimie
Martine	BERGAENTZLÉ	Chimie analytique
Elias	BOMBARDA	Biophysique
Aurélie	BOUDIERIQUE	Pharmacochimie
Emmanuel	BOUTANT	virologie et Microbiologie
Véronique	BRUBAN	Physiologie et physiopath.
Anne	CASSET	Toxicologie
Thierry	CHATAIGNEAU	Pharmacologie
Manuela	CHIFER	Pharmacie biogalénique
Guillaume	CONZATTI	Pharmacie galénique
Marcella	DE LUCIGI	Pharmacochimie
Serge	DUMONT	Biologie cellulaire
Gisèle	HAKIN-ARCHIPOFF	Plantes médicinales
Céline	JACQUEMARD	Chémoinformatique
Julie	KARPENKO	Pharmacochimie
Sonia	LORDEL	Chimie analytique
Clarisse	MAECHLING	Chimie physique
Rachel	MATZ-WESTPHAL	Pharmacologie
Cherifa	MEHAGLA	Chimie
nathalie	NIEDERHOFFER	Pharmacologie
Sergio	ORTIZ AGUIRRE	Pharmacognosie
Sylvie	PERROTEY	Parasitologie
Romain	PERTSCHI	Chimie en flux
Frédéric	PRZYBILLA	Biostatistiques
Patrice	RASSAM	Microbiologie
Eléonore	REAL	Biochimie
Andreas	RESCH	Biophysique
Ludivine	RIFFAULT-VALOIS	Analyse du médicament
Carole	RONZANI	Toxicologie
Emilie	SICK	Pharmacologie
Yasuda	SOUABOU	Pharmacognosie
Maria-vittoria	SPANEDDA	Chimie thérapeutique
Jérôme	TERRAND	Physiopathologie
Nassara	TOUNSI	Chimie physique
Aurélie	URBAIN	Pharmacognosie
Bruno	VAN OVERLOOP	Physiologie
Maria	ZENOU	Chimiogénomique

Maîtres de conférences - praticiens hospitaliers

Julie	BRUNET	Parasitologie
Nelly	ÉTIENNE-SELLOUM	Pharmacologie- pharm. clinique

Assistant hospitalier universitaire

Damien	REITA	Biochimie

SERMENT DE GALIEN

Je Jure,

en présence des Maîtres de la Faculté,
des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens
et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit
dans les préceptes de mon art et de
leur témoigner ma reconnaissance en
restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique,
ma profession avec conscience et de respecter non
seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles
de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne dévoiler à personne les secrets
qui m'auront été confiés et dont j'aurai eu
connaissance dans la pratique de mon art.

Si j'observe scrupuleusement ce serment,
que je sois moi-même honoré
et estimé de mes confrères
et de mes patients.

REMERCIEMENTS

À Madame la Professeur Valérie GEOFFROY, présidente du jury

Je suis profondément reconnaissant pour l'honneur que vous me faites en présidant ce jury de thèse. J'espère sincèrement que ce travail saura éveiller votre intérêt, notamment au regard de votre expertise en microbiologie.

À Monsieur le Docteur Frédéric SCHRAMM, directeur de thèse

Je tiens à te remercier sincèrement pour tes précieux conseils et ta disponibilité tout au long de ce travail de synthèse et de rédaction. Bien que l'étude MHR-BLOOD, sujet initial de ce travail, ait pris du retard, j'espère que cette revue exhaustive apportera une contribution utile au laboratoire. Je souhaite également te remercier pour la qualité remarquable de tes enseignements durant le DES, qui ont été une source d'inspiration tout au long de mon parcours.

À Monsieur le Professeur Benoit JAULHAC,

Je vous remercie de faire partie de mon jury de thèse. Votre accueil chaleureux et vos conseils avisés durant ces trois dernières années au sein du PTM et par votre rôle de coordonnateur du DES, m'ont été d'une grande aide. Je suis profondément reconnaissant pour la bienveillance que vous témoignez à mon égard au quotidien. Veuillez recevoir l'expression de ma sincère gratitude et de mon respect.

À Madame le Docteur Émilie TALAGRAND-REBOUL,

Je tiens à te remercier sincèrement d'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse. J'ai toujours pris un grand plaisir à apprendre le métier de microbiologiste à tes côtés, durant mes nombreux semestres passés au laboratoire de bactériologie.

À Monsieur le Docteur Yvon RUCH,

Je te remercie vivement d'avoir accepté de participer à ce jury et d'évaluer mon travail. En tant qu'infectiologue, j'espère que cet état de l'art saura susciter ton intérêt. Je tiens également à exprimer ma gratitude pour tes précieux conseils dans la rédaction du volet thérapeutique de ce manuscrit. De plus, ta disponibilité pour les inclusions de l'étude MHR-BLOOD est particulièrement appréciée.

Je tiens à remercier l'ensemble des équipes techniques et biologistes que j'ai eu l'occasion de rencontrer au cours de mes différents stages, et qui m'ont tous transmis une part de leur savoir. Merci à l'équipe de bactériologie du PTM de m'avoir permis d'évoluer dans cette discipline, grâce à leur mise en autonomie et au partage généreux de leurs connaissances. Un merci tout particulier à Pierre, qui m'a grandement aidé dans la rédaction de ce travail.

Je tiens également à exprimer ma gratitude à Delphine, dont la bonne humeur quotidienne a été précieuse, et sans qui la réalisation de mes manipulations de thèse aurait été bien plus compliquée. Je

remercie également l'équipe d'hygiène hospitalière pour son accueil, certes court, mais chaleureux, qui m'a permis d'appliquer mes compétences en microbiologie dans un contexte différent et très enrichissant.

Un grand merci à toute l'équipe du service de parasito-myco pour avoir supporté mon stress et m'avoir materné pendant six mois à coup de réunions qualité. Mention spéciale à Julie, qui a dû gérer deux énergumènes pour le prix d'un. Ta passion et la qualité de ton enseignement sont particulièrement appréciées. Merci aussi au "Professeur Van Der Brücke" pour son humour contagieux, et pour nous rappeler chaque jour que "tout passera par l'entomologie". Enfin, merci à Catosh pour ta simplicité et les bons moments partagés en hémato grâce à toi. C'est toujours un plaisir de te revoir.

Je tiens bien sûr à exprimer ma gratitude à mes co-internes et anciens co-internes, qui sont devenus de véritables amis :

Merci à Yannick, l' « ancêtre » du PTM et expert en LV3 mexicain. Merci à Chloé, Mathilde et Anne pour m'avoir accueilli chaleureusement en tant qu'externe. Un grand merci à Chaimae pour tous nos moments sportifs partagés. Merci à Antoine, l'homme cultivé, m'ayant beaucoup appris sur la bactériologie et, bien entendu, sur la situation géopolitique du Sahara occidental. Morgane, merci pour ton implication dans ma formation en tant que co-interne puis néo-cheffe, et bien sûr pour le célèbre "excuse man, mais y'a rien qui te choque là ?". Merci à Maëlle pour ses tirs croisés inarrêtables tant au baby qu'au five. Marion, merci pour toutes nos pauses café et notre humour bas de plafond. Wassim, merci d'être le repreneur de garde officiel, mais surtout pour tes recherches bibliographiques sur les coups spéciaux au baby-foot. Merci à Marie avec qui j'ai passé trois super mois en Hygiène ! Un merci tout particulier à Taha pour notre amour commun de "H" (parce qu'on sait tous qu'il y a du monde au Balkans). Merci aussi à Vlad, le semi-pro de D3 roumaine, et à Julien pour sa maîtrise de remove.bg, Paint et du mexicain, qui m'ont tant appris. Merci à Clémence, Thibaut et Mehmet pour ce dernier super semestre au PTM. Merci enfin à Alexandre « la caillebotte », mais aussi à Corentin, Célian, Sarra, ainsi qu'aux plus anciens : Stéphanie, Coralie, Samih et Élise.

Je tiens ensuite à remercier chaleureusement ma famille. Maman, merci pour ton soutien inconditionnel et ta bienveillance constante, qui sont un véritable moteur au quotidien. Père, merci de m'avoir appris à observer le monde et à réfléchir. Même si tu m'as parfois « spoilé » certains aspects de la vie, ta sagesse et ta vision des choses sont pour moi un exemple. Hélène, merci pour les liens fraternels qui nous unissent et se renforcent au fil des années. Ta rigueur, tant professionnelle que sportive, est un véritable exemple à suivre. Merci pour ton soutien quotidien et de ne jamais oublier de me demander avec humour ce qui a encore bien pu m'arriver. Cédric, mon beau-frère, je suis heureux que tu fasses partie de ma famille et que tu rendes ma sœur heureuse au quotidien. J'ai hâte de pouvoir me consacrer davantage à nos passions communes dans un avenir proche.

Merci à mes grands-parents pour votre soutien inestimable. Même si je ne vous rends pas visite aussi souvent que je le souhaiterais, cela n'enlève en rien l'amour immense que je vous porte.

À mes chers beaux-parents, Chantal et Bruno, merci de m'accueillir si chaleureusement dans le plus beau des villages, et de m'avoir fait découvrir l'univers artistique de la halle verrière que j'aime tant. Mathis, mon nouveau petit frère, merci pour tous les moments passés ensemble, aussi bien en ligne qu'IRL.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers mes autres beaux-parents. Sylvie, merci pour ton soutien et pour m'avoir accueillie à l'autre bout du monde, en Nouvelle-Calédonie. Grâce à toi, j'ai vécu l'un des moments les plus mémorables de ma vie. Jean-Michel, avec maman vous m'avez toujours soutenu, et ce depuis mon premier stage hospitalier, en 3ème, que j'ai eu la chance de réaliser dans ton service.

Un immense merci à Caro et Alexis, mes amis de toujours. Depuis le collège, j'ai passé certain des plus beaux moments de ma vie avec vous, et je suis profondément heureux que notre amitié ait résisté et grandi au fil des années. J'ai hâte de pouvoir fêter cette thèse avec vous !

Merci également à toute la team rencontré à Galien, une amitié qui s'est forgée et s'est renforcée avec le temps. Juliette, Schmitté (alias Schmittay, Schmitt ou encore « la branche »), Loup et Élise, j'ai hâte de célébrer cette étape avec vous également !

Un grand merci à tous mes autres amis, notamment ceux des années lycée, que je ne vois malheureusement pas aussi souvent que je le voudrais, mais avec qui chaque moment passé ensemble est toujours aussi précieux : Montav, Victor, Jean, Théo, Baury, Schwebel, Orianne, Nathan, Johann.

Loup, nous avons littéralement tout traversé ensemble : de Galien à la fac, en passant par la préparation du concours pendant la pandémie, puis l'internat. Nos multiples concerts et festivals, les grimperies nocturnes, notre aventure en Nouvelle-Calédonie... et j'en passe ! Je te considère bien plus que comme un ami, tu es ma famille. Tu es pour moi un exemple et ton soutien inébranlable est une véritable force qui me pousse chaque jour. On nous connait sous plusieurs petits nom, 'Tic et Tac', 'hirondelle et torsade de pointe', ou encore « toujours ensemble ces deux-là » et ça en dit long sur notre duo. Je suis chanceux d'avoir quelqu'un comme toi à mes côtés. Alors merci pour tout !

Élise, notre complicité est unique, et chaque moment avec toi est un bonheur. Qu'on soit en train de rire ensemble ou de travailler en silence côte à côte, tu rends tout plus léger. Tu es bien plus qu'un soutien, tu es mon équilibre. Je suis heureux de notre passion commune pour l'univers musical, m'avoir fait découvrir Meisenthal avec ta famille est un cadeau précieux. Je ne pourrai jamais te remercier assez pour tout ce que tu m'apportes, pour ton amour, ton altruisme et ta capacité à toujours me faire sourire, même dans les moments difficiles. Tu as été incroyable durant la rédaction de cette thèse, toujours là pour moi, même en pleine année des ECN. Maintenant, je me réjouis qu'on ait enfin du temps rien que pour nous. Imaginer l'avenir avec toi me comble de bonheur. Je t'aime.

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations **11**

Liste des figures **13**

Liste des tableaux **15**

Introduction **16**

I. Bactériémies **19**

1. Définition **19**

2. Physiopathologie **19**

2.1. Atteinte du sang à partir d'un foyer infectieux 20

2.2. Atteinte du sang via un dispositif intravasculaire 22

2.3. Atteinte du sang via le système lymphatique 23

2.4. Le cas particulier des endocardites infectieuses 23

3. Formes d'expression clinique **24**

3.1. Sepsis 1 24

3.2. Sepsis 2 24

3.3. Sepsis 3 25

4. Épidémiologie **26**

4.1. Épidémiologie des bactériémies 26

4.2. Épidémiologie du sepsis 27

4.3. Conséquences pronostiques 28

4.3.1. Conséquences des bactériémies 28

4.3.1.1. Lieux d'acquisition 29

4.3.1.2. Présentation clinique 29

4.3.1.3. Profil des patients 29

4.3.1.4. Mortalité des bactériémies 30

4.3.2. Conséquences du sepsis 30

4.3.2.1. Morbi-mortalité du sepsis 30

4.3.2.2. Conséquences économiques du sepsis 30

5. Épidémiologie microbiologique **31**

5.1. Évolution de la représentation des micro-organismes 31

5.2. Évolution des résistances bactériennes 33

6. Prise en charge antimicrobienne des bactériémies **36**

6.1. Stratégie générale d'antibiothérapie 36

6.2. Bactériémies primitives 37

6.3. Bactériémies associées aux dispositifs vasculaires 38
6.4. Bactériémies secondaires 38
6.5. Endocardites infectieuses 38
6.6. Sepsis et choc septique 39

7. Circuit pour le diagnostic des hémocultures 39

7.1. Flacon d'hémoculture 40
7.2. Prélèvement 41
7.3. Acheminement du prélèvement 44
7.4. Incubation 44
7.5. Prise en charge des flacons positifs 45

8. Où gagner du temps ? 48

8.1. Amélioration de la qualité de l'échantillon 48
8.2. Réduction des délais pré et post-analytiques 49
8.3. Amélioration de la phase analytique 49

II. Revue des méthodes directes à partir de flacon d'hémoculture positif 51

1. Inoculum direct à partir de flacon d'hémoculture 51

1.1. Maîtrise de l'inoculum 51
1.2. Méthodes directes 53
1.2.1. Utilisation directe ou dilution 53
1.2.2. Extraction sous forme d'un culot 54
1.2.3. Méthodes automatisées 54

2. Méthode de comparaison de techniques d'antibiogrammes 56

3. Techniques rapides phénotypiques 58

3.1. Principe 58
3.2. Performances à partir de flacons d'hémocultures positifs 60
3.2.1. Résistance aux C3G 60
3.2.2. Résistance aux carbapénèmes 60
3.3. Impact clinique 62

4. Techniques rapides génotypiques 63

4.1. Performances 63
4.2. Impact clinique 65

5. Méthodes rapides en milieu gélosé 67

5.1. RAST de l'EUCAST 68
5.1.1. Inoculum et principe 68
5.1.2. Performances 69
5.1.3. Impact clinique 70
5.2. Gélose MH-SIR 71

5.2.1. Inoculum ... 71
5.2.2. Incubation et lecture ... 72
5.2.3. Performances ... 72
5.2.4. Impact clinique ... 73

6. Méthodes en microdilution automatisées « rapides » ... 75

6.1. Inoculum ... 75
6.2. Performances ... 76
6.3. Impact clinique ... 78

7. Méthode basée sur la diffusion de la lumière : Alfred 60^{AST} ... 80

7.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture ... 80
7.2. Performances ... 81
7.3. Impact clinique ... 83

8. Méthodes basées sur la vidéomicroscopie ... 84

8.1. AcceleratePheno™ ... 84
8.1.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture ... 84
8.1.2. Performances ... 86
8.1.3. Impact clinique ... 87
8.2. QMAC-dRAST™ ... 89
8.2.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture ... 89
8.2.2. Performances ... 90
8.2.3. Impact clinique ... 91
8.3. ASTar™ ... 93
8.3.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture ... 93
8.3.2. Performances ... 94
8.3.3. Impact clinique ... 94
8.4. QuickMIC® ... 96
8.4.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture ... 96
8.4.2. Performances ... 97

9. Méthode basée sur la volatolomique : REVEAL® ... 99

9.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture ... 99
9.2. Performances ... 101
9.3. Impact clinique ... 102

10. Méthode basée sur la cytométrie en flux : FASTinov® ... 103

10.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture ... 103
10.2. Performances ... 105

III. Synthèse des études sur l'impact clinique des méthodes rapides chez des patients bactériémiques ... 107

1. Revue des études cliniques randomisées ... 107

2. Études futures 110

IV. Évaluation de la gélose MH-SIR au CHU de Strasbourg 111

Conclusion 112

Annexes 114

Bibliographie 117

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

ATCC : American Type Culture Collection

BGN : Bactérie à Gram négatif

BGN-NF : Bacille à Gram négatif non fermentant/fermentaire

BHRe : Bactérie hautement résistante émergente

BLSE : Bêta-lactamase à spectre étendu

BMR : Bactéries multirésistantes

BSAC : British society for antimicrobial chemotherapy

C3G : Céphalosporine de 3^{e} génération

C4G : Céphalosporine de 4^{e} génération

CA : Categorical agreement

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

CE-IVD : marquage européen CE pour diagnostic *in vitro*

CGP : Cocci à Gram positif

CHN : Céphalosporinase de haut niveau

CHU : Centre hospitalier universitaire

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CNR : Centre national de référence

CO_2 : Dioxyde de carbone

CRP : Protéine C-réactive

CTX-M : Céfotaximase-München

EA : Essential agreement

EBLSE : Entérobactérie productrice de bêta-lactamase à spectre étendu

ECR : Étude clinique randomisée

EI : Endocardite infectieuse

EMA : Équipe mobile/multidisciplinaire d'antibiothérapie

EPC : Entérobactérie productrice de carbapénémase

ERG : Entérocoques résistant aux glycopeptides

EUCAST : European committee on antimicrobial susceptibility testing

FDA : Food and drug administration

FISH : Hybridation par fluorescence *in situ*

GN : Gram négatif

GP : Gram positif

HACCEK : *Haemophilus (H. parainfluenzae, H. aphrophilus, H. paraphrophilus), Actinobacillus actinomycetemcomitans (Aggregatibacter actinomycetemcomitans), Cardiobacterium hominis, Capnocytophaga* spp.*, Eikenella corrodens* et *Kingella kingae.*

I : Intermédiaire

IAS : Infections associées aux soins

ICT : Immunochromatography test (test immunochromatographique)

ISO : International organization for standardization (organisation internationale de normalisation)

MALDI TOF : Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight

MCA : Morphokinetic analysis (analyse morphocinétique)

McF : MacFarland

ME : Major error

mE : minor error

MH : Mueller-Hinton

MH-F : Mueller-Hinton additionné de 5 % de sang de cheval défibriné

MHR-SIR ou MHR : Mueller-Hinton – SIR ou Mueller-Hinton rapide

N_2 : Diazote, dit « azote »

O_2 : Dioxygène, dit « oxygène »

OMS : Organisation mondiale de la santé

PCR : Polymerase chain reaction

qSOFA : quick sequential organ failure assessment

RAST : Rapid antimicrobial susceptibility testing

Ref. : Référence

REMIC : Référentiel en microbiologie médicale

S : Sensible

SASM : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

SCN : Staphylocoques à coagulase négative

SFM : Société française de microbiologie

SFP : sensible à forte posologie

SOFA : Sequential organ failure assessment

SPILF : Société de pathologie infectieuse de langue française

SRIS : Syndrome de réponse inflammatoire systémique

UFC : Unité formant colonie (CFU en Anglais)

VME : Very major error

ZIT : Zone d'incertitude technique

LISTE DES FIGURES

Figure 1 | Prévision de l'évolution de la résistance bactérienne, du nombre d'antibiotiques disponibles et de la proportion de succès des thérapies empiriques au cours du temps 16
Figure 2 | Mécanismes physiopathologiques à l'origine des bactériémies à bacilles Gram négatif..... 21
Figure 3 | Mécanisme physiopathologique des bactériémies à *S. aureus* 22
Figure 4 | Mécanisme physiopathologique des endocardites infectieuses..... 23
Figure 5 | Part relative des infections bactériémiques dans le sepsis 27
Figure 6 | Évolution de l'incidence annuelle du sepsis entre 2015 et 2019 en France 28
Figure 7 | Représentation des différentes bactéries responsables de bactériémies dans le monde par tranche de 4 ans selon le programme SENTRY 32
Figure 8 | Évolution entre 2002 et 2022 de l'incidence française des SARM et des EBLSE 34
Figure 9 | Proportion de souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes par pays en 2021.. 35
Figure 10 | Tendance sur vingt ans du pourcentage d'*E. coli* et *K. pneumoniae* BLSE et d'*Enterobacteriaceae* EPC – SENTRY, 1997 à 2016 35
Figure 11 | Flacons d'hémocultures des trois principaux fournisseurs sur le marché 40
Figure 12 | Procédure de prélèvement des flacons d'hémocultures 41
Figure 13 | Résultat d'hémoculture en fonction du volume de sang pour chaque prélèvement et de la charge bactérienne dans le sang..... 42
Figure 14 | Automates d'incubation d'hémocultures actuellement disponibles sur le marché. 45
Figure 15 | Flux de travail des hémocultures au CHU de Strasbourg 46
Figure 16 | Exemple d'antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé réalisés à l'aide de bandelettes à gradient de concentration et de disques..... 47
Figure 17 | Synthèse des voies d'amélioration du processus des hémocultures..... 50
Figure 18 | Répartition de la concentration bactérienne (UFC/mL) dans un panel de flacons positifs selon le type de fournisseurs 52
Figure 19 | Distribution de la concentration bactérienne dans des flacons d'hémoculture positifs (BacT/Alert FA Plus et SN) chez des entérobactéries et BGN non fermentaires 52
Figure 20 | Méthodes de préparation de l'inoculum à partir d'un flacon d'hémoculture positif..... 53
Figure 21 | Fonctionnement d'un ICT et d'un test colorimétrique..... 58
Figure 22 | Étapes de réalisation d'un test NG-Test® CARBA 5 directement à partir d'une hémoculture positive à l'aide du kit NG-Test® Blood culture prep..... 61
Figure 23 | Principaux systèmes de biologie moléculaire utilisés pour le diagnostic des hémocultures..... 63
Figure 24 | Exemple d'une souche de SARM ensemencée sur gélose MH avec la méthode RAST, lue à 6 heures d'incubation..... 68
Figure 25 | Aspects des géloses MH-SIR et MH..... 71
Figure 26 | Principe de l'analyse par diffusion de la lumière de l'automate Alfred 60^{AST} 80

Figure 27 | Module AcceleratePheno™ et kit PhenoTest™ BC 84
Figure 28 | Étapes de traitement d'un échantillon par AcceleratePheno™ 85
Figure 29 | Analyse morphocinétique cellulaire (MCA) 85
Figure 30 | Fonctionnement d'un antibiogramme QMAC-dRAST™ 89
Figure 31 | Flux de travail de l'automate ASTar™ pour la réalisation d'un antibiogramme 93
Figure 32 | Préparation d'une cassette quickMIC GN 96
Figure 33 | Principe de la détermination d'une CMI par QuickMIC® 97
Figure 34 | Étapes de réalisation d'un antibiogramme sur l'automate REVEAL® 99
Figure 35 | Principe de la volatolomique utilisée par l'automate REVEAL® 100
Figure 36 | Détermination d'une CMI par l'automate REVEAL® 100
Figure 37 | Étapes de réalisation d'un antibiogramme avec un kit FASTInov® 103
Figure 38 | Profils d'analyse cytométrique de souche sensible et résistante 104

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 | Score SOFA 25
Tableau 2 | Score quick SOFA 26
Tableau 3 | Ordre de classement des pathogènes (%) à l'origine de bactériémies dans le monde 33
Tableau 4 | Protocoles de préparation de l'inoculum à partir de flacons d'hémocultures positifs 55
Tableau 5 | Résumé des caractéristiques des différents tests phénotypiques rapides 59
Tableau 6 | Résumé des caractéristiques et performances des différents kits de biologie moléculaire, à partir de flacons d'hémocultures positifs 64
Tableau 7 | Diamètres critiques pour *P. aeruginosa* selon la méthode RAST de l'EUCAST 69
Tableau 8 | Résumé des principales évaluations des performances du milieu MH-SIR 72
Tableau 9 | Caractéristiques générales des automates de microdilution présentés 75
Tableau 10 | Résumé des études ayant évalué les performances des trois automates de microdilution, directement sur flacon d'hémoculture positif 76
Tableau 11 | Résumé des études évaluant les performances de l'automate Alfred 60$^{AST\ ®}$ 81
Tableau 12 | Résumé des études évaluant les performances de l'automate AcceleratePheno^{TM} 86
Tableau 13 | Résumé des études évaluant les performances de l'automate QMAC-dRAST^{TM} 90
Tableau 14 | Résumé des études évaluant les performances de l'automate ASTar^{TM} 94
Tableau 15 | Résumé des études évaluant les performances de l'automate VITEK REVEAL$^{®}$ 101
Tableau 16 | Résumé des études évaluant les performances des kits FASTinov$^{®}$ 105
Tableau 17 | Résumé des études cliniques randomisées ayant évalué l'impact clinique de l'utilisation d'une méthode rapide d'antibiogramme chez des patients bactériémiques 108

INTRODUCTION

Les bactériémies représentent une des principales causes de sepsis, une réponse inflammatoire dérégulée entrainant des dysfonctions d'organes potentiellement graves et ayant des répercussions significatives en termes de morbidité et de mortalité. L'impact mondial est estimé à près de 11 millions de morts en 2017, représentant ainsi 20 % de toutes les causes de décès (1). En l'absence de contrôle, un sepsis peut évoluer vers un état de choc septique de bien plus mauvais pronostic (2). Cette complication entraine des hospitalisations prolongées, une mortalité conséquente et des coûts importants pour les systèmes de santé (3).

L'émergence de la multirésistance bactérienne à l'échelle mondiale est reconnue comme une menace majeure pour la santé publique, entrainant une létalité et des coûts également considérables (4,5). En outre, face aux faibles progrès dans le développement de nouvelles molécules antibactériennes, la stratégie actuelle des politiques de gestions des antibiotiques consiste à **maintenir l'efficacité des molécules existantes** (6). Sans cette mesure, les chances de réussite des traitements continueront de diminuer (**Figure 1**).

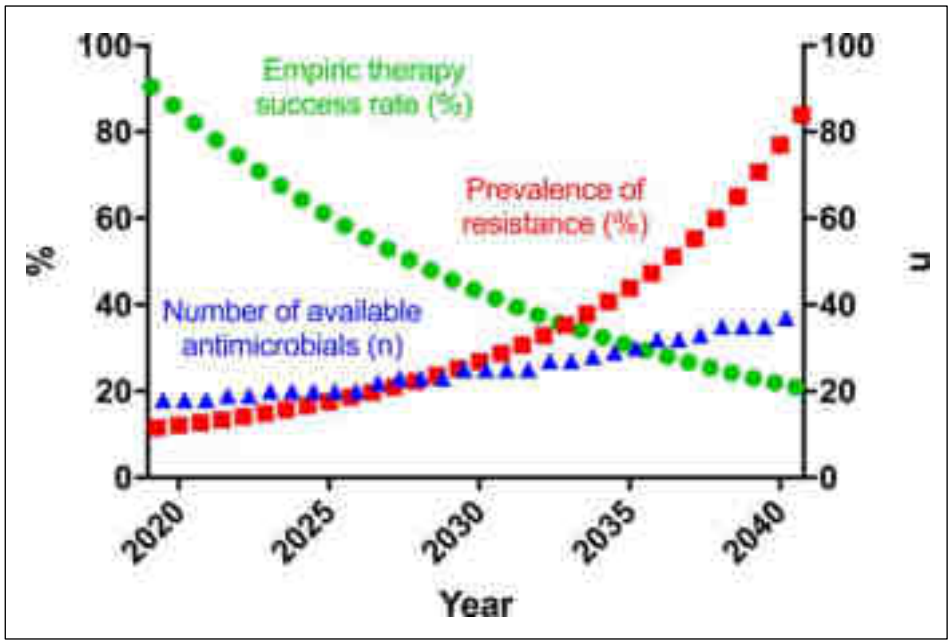


Figure 1 | Prévision de l'évolution de la résistance bactérienne, du nombre d'antibiotiques disponibles et de la proportion de succès des thérapies empiriques au cours du temps (7).

La sévérité d'un sepsis et le délai nécessaire pour obtenir un résultat d'antibiogramme exigent l'instauration rapide d'une antibiothérapie empirique, en tenant compte de la porte d'entrée suspectée de l'infection et de l'écologie bactérienne locale (8). Cette stratégie peut cependant s'avérer inefficace, particulièrement dans le contexte d'émergence de résistance. Le traitement empirique serait inadapté dans près de 25 % des cas de patients bactériémiques (9), entraînant une surmortalité significative (10–

12). Avec l'incidence plus élevée des résistances bactériennes en milieu hospitalier, l'adoption d'une stratégie inclusive nécessite donc l'utilisation d'antibiotiques à spectre large. Cette approche permet d'anticiper divers profils de résistance. Cependant, elle augmente, proportionnellement à sa durée, le risque de sélectionner des mutants résistants, favorisant ainsi le développement de nouvelles résistances. Elle expose également le patient aux effets indésirables des antibiotiques (4,6,13). Par ailleurs, les délais de rendu des antibiogrammes peuvent retarder de plusieurs jours l'adaptation de l'antibiothérapie probabiliste, avec un impact direct sur le pronostic du patient. En conséquence, un rendu rapide de l'antibiogramme pourrait ainsi améliorer les chances de survie des patients bactériémiques, et réduire l'impact médico-économique tout en luttant contre l'émergence de résistances (14,15).

Le *gold standard* actuel pour le diagnostic des bactériémies demeure le prélèvement de flacons d'hémocultures visant à isoler le micro-organisme responsable (16). L'examen microscopique des flacons positifs à la coloration de Gram et l'identification par spectrométrie de masse constituent les premières informations dont les cliniciens disposent pour adapter l'antibiothérapie probabiliste, mais elles ne renseignent pas sur d'éventuelles résistances acquises (17,18). Afin de diminuer la pression de sélection et assurer un traitement efficace des patients, il est essentiel d'obtenir le profil de sensibilité des souches impliquées. Actuellement, le CA-SFM préconise l'inoculation directe des milieux de culture pour l'antibiogramme à partir du flacon d'hémoculture positif, avec une lecture de l'antibiogramme réalisée le lendemain (19). Il faut également tenir compte du temps d'incubation initiale des flacons d'hémoculture, qui en moyenne varie de 14 à 18 heures selon l'inoculum et le micro-organisme (20–22).

Depuis de nombreuses années, la réduction du délai diagnostic des bactériémies et notamment celui qui concerne le rendu des résultats des antibiogrammes représente un enjeu majeur. Dernièrement, lors du World Sepsis Congress de 2024, il est souligné qu'un diagnostic rapide fait toujours partie des objectifs cruciaux non encore atteints dans la lutte contre le sepsis (23).

Le laboratoire de bactériologie doit fournir un résultat fiable, cliniquement pertinent, quel que soit le type de prélèvement, et si possible dans les plus brefs délais. Pour les hémocultures, il faut premièrement noter que l'optimisation du flux de travail et des étapes préanalytiques permet de réduire significativement les délais de rendu des résultats (16,24). D'autre part, afin de réduire les délais analytiques, de nouvelles techniques de réalisation des antibiogrammes directement à partir des flacons positifs ont vu le jour : ces techniques s'appliquent aux systèmes d'antibiogrammes automatisés par microdilution en milieu liquide [Vitek (25), Phoenix (26) et MicroScan (27)], ainsi qu'à la méthode d'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (28). Plus récemment, de nouvelles techniques d'antibiogrammes phénotypiques et génotypiques rapides ont été développées, telles que les panels

syndromiques de PCR (29), la gélose MH-SIR (30), la cytométrie en flux (31), la vidéomicroscopie (32), et la volatolomique (33). L'objectif de ces techniques est de réduire le temps d'incubation, permettant idéalement d'obtenir un résultat **le jour même de la positivité du flacon d'hémoculture (annexe 1).**

Malgré ces avancées, une technique qui pourrait établir un nouveau standard de référence — rentable, à haut débit, simple d'utilisation, rapide et capable de tester un éventail croissant d'antimicrobiens pertinents — reste à définir.

I. BACTERIEMIES

1. Définition

Une bactériémie est définie par la présence de bactéries vivantes dans le sang, liquide biologique normalement stérile. Elle est mise en évidence par la positivité d'au moins un flacon d'hémoculture, associée ou non à des signes cliniques ou biologiques d'infection (fièvre, frisson, hyperleucocytose, augmentation de la CRP, etc.), et ce après exclusion d'une contamination (16). Une contamination doit être évoquée quand un seul flacon est positif pour une bactérie commensale, dont la pathogénicité est faible : staphylocoques à coagulase négative (SCN), *Bacillus* spp. (à l'exception de *B. anthracis*), *Cutibacterium* spp., *Micrococcus* spp., corynébactéries commensales. Pour ces micro-organismes, il est généralement nécessaire qu'au moins 2 flacons soient positifs, dans un intervalle de 48 heures ou moins, pour les considérer comme responsables de l'état bactériémique. Pour certains d'entre eux, notamment les SCN, leur passage sanguin est souvent lié à la présence d'un matériel étranger, en particulier les dispositifs intravasculaires (16,34,35).

Les bactériémies sont historiquement classées selon le lieu d'acquisition de l'infection (36) :

- on parle de bactériémies nosocomiales quand elles peuvent être imputées à une prise en charge dans un établissement de soin ; elles interviennent alors au moins 48 heures après l'admission ou le début de la prise en charge ;
- on parle de bactériémies communautaires quand elles surviennent en dehors de toute exposition aux soins ; elles débutent avant ou sont déjà en incubation lors de la prise en charge (dans les premières 48 heures).

2. Physiopathologie

La survenue de bactériémies est fréquente, y compris chez des sujets sans aucune pathologie sous-jacente : elles peuvent découler de nos activités quotidiennes (brossage des dents, digestion), ou elles peuvent être induites par des interventions médicales telles qu'une extraction dentaire, une endoscopie, ou la mise en place d'une sonde urinaire. Chez un individu en bonne santé, ces dernières sont généralement transitoires et sans conséquences. Toutefois, en fonction du terrain clinique et de la virulence des bactéries impliquées, la situation peut évoluer vers une bactériémie cliniquement significative.

La **porte d'entrée** peut varier selon l'origine communautaire ou hospitalière (37) :

- pour les bactériémies d'origine nosocomiale, la porte d'entrée principale est urinaire (40 %), ou en lien avec des dispositifs médicaux invasifs (30 %) ; moins fréquemment, la porte d'entrée peut être pulmonaire (10 %), digestive (8 %) ou cutanée (7 %).
- pour les bactériémies d'origine communautaire, la principale porte d'entrée est également urinaire (≈ 30 %), puis digestive (≈ 20 %), respiratoire (10 %) ou cutanée (10 %).

Au niveau du site de la porte d'entrée, les bactéries se multiplient et forment **le foyer infectieux primitif**, celui-ci pouvant passer inaperçu et ne jamais être retrouvé : on parle alors de bactériémie primaire. Quand la bactériémie survient à partir d'un foyer infectieux primitif identifié (urinaire, pulmonaire, intestinal, cathéter, etc.), on parle de bactériémie secondaire (36). Il existe plusieurs mécanismes physiopathologiques pouvant donner lieu à un état bactériémique.

2.1. Atteinte du sang à partir d'un foyer infectieux

Ces bactériémies résultent des dommages tissulaires causés par la bactérie et ses facteurs de virulence au niveau du foyer infectieux initial, facilitant ainsi l'effraction de l'endothélium. Les espèces les plus fréquemment rencontrées sont les bactéries pyogènes, telles que les entérobactéries (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*, etc.), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. et *Pseudomonas aeruginosa*.

Le site initial de colonisation ou d'infection varie selon l'espèce bactérienne. Certaines espèces ont développé des adaptations métaboliques leur donnant un tropisme pour envahir des sites anatomiques spécifiques, comme *E. coli* à partir de l'arbre urinaire ou *P. aeruginosa* au niveau du poumon et des tissus mous (41). Localement, plusieurs facteurs de virulence permettent au micro-organisme d'**échapper au système immunitaire** et de proliférer. La production d'une capsule (revêtement polysaccharidique) offre à la bactérie une protection physique, chimique et immunologique. Les bactéries les plus fréquemment responsables de bactériémies, telles que *E. coli, K. pneumoniae* et *S. aureus*, possèdent toutes la capacité à produire une capsule (38,42,43). Chez *P. aeruginosa,* la présence d'un appareil sécrétoire de type III permet à la bactérie d'inoculer les exotoxines ExoS et ExoT dans les cellules immunitaires, perturbant et neutralisant leurs cytosquelettes d'actine. D'autres bactéries inhibent la réponse immunitaire, comme *K. pneumoniae* stimulant la sécrétion d'IL-10 (**Figure 2**) (41), ou *S. aureus* sécrétant des protéines inhibant le chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles, l'opsonisation et l'action du complément (43).

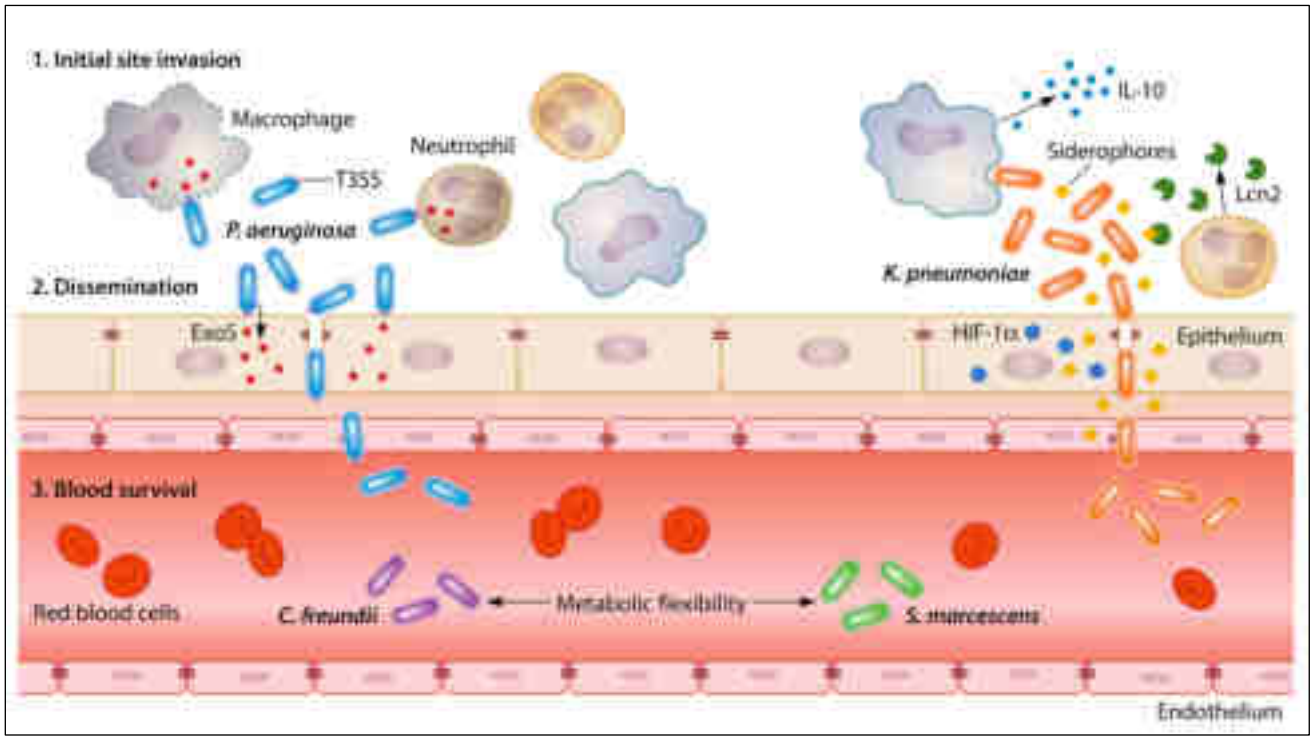


Figure 2 | Mécanismes physiopathologiques à l'origine des bactériémies à bacilles Gram négatif (41).

L'échappement des bactéries aux défenses immunitaires locales leur permet de proliférer. Elles franchissent ensuite les barrières épithéliales et endothéliales via la sécrétion de certains facteurs favorisant **l'invasion et la dissémination sanguine.** Au niveau urinaire, par exemple, *E. coli* utilise des pili de type IV et des fimbriae de type I et P pour adhérer à l'urothélium et aux cellules endothéliales. Au niveau pulmonaire, *K. pneumoniae*, sécrète des sidérophores perturbant le fonctionnement de l'épithélium alvéolaire, facilitant sa translocation dans la circulation sanguine. De manière similaire, *P. aeruginosa* injecte l'exotoxine ExoS dans les pneumocytes de type 1, induisant leur apoptose : l'architecture alvéolaire ainsi modifiée favorise la diffusion du pathogène dans le sang (**Figure 2**) (41). Par ailleurs, *S. aureus* sécrète des toxines exfoliantes et des hémolysines ayant pour effet de détruire les cellules épithéliales et les tissus, favorisant ainsi son passage dans le sang (40,43).

Lorsque l'endothélium est lésé, les bactéries sont libérées dans la circulation sanguine. Toutefois, en l'absence de mécanismes d'adaptation, elles sont rapidement éliminées par l'oxydation à la surface des hématies et l'action des éléments antibactériens du sérum, comme le complément ou les lysozymes (39). Pour qu'une bactériémie s'installe de manière durable, l'inoculum bactérien doit être suffisamment important et constant : des **facteurs d'adaptation à la survie dans le sang** interviennent dans ce processus. Par exemple, certaines souches d'*Acinetobacter baumannii* peuvent produire une capsule au contact du sérum et se lier au plasminogène, inhibant ainsi la formation du complexe d'attaque membranaire du complément sur leur surface. *E. coli* possède un polysaccharide (Poly-N-

acetylglucosamine), décrit également chez *S. aureus,* qui permet également sa survie dans le sang par la formation de biofilm (41).

Pour *S. aureus*, outre la capsule, c'est la présence de protéines anti-opsonine, notamment la protéine A, qui permet sa survie dans la circulation sanguine (**Figure 3**). La formation d'amas bactériens est également rendue possible par la capacité de la bactérie à lier le fibrinogène. La sécrétion de toxines (alpha-toxine et toxines superantigéniques TSST-1) entraine des lésions endothéliales qui exposent les zones sous-endothéliales (40,43), générant ainsi une inflammation locale et induisant l'expression du facteur Willebrand et de collagène endothélial. *S. aureus* s'y fixe directement via ses protéines de surfaces (protéine A). Avec l'expression d'une coagulase, le processus aboutit à la formation d'amas fibrine-plaquettes-*S. aureus* sur la paroi endothéliale. Enfin, la staphylokinase fragmente ces amas, dont le détachement est à l'origine d'emboles septiques. Ces emboles agissent comme une protection mécanique pour les bactéries et facilitent leur fixation à distance, pouvant ainsi initier l'infection d'un site secondaire à partir du sang (42,43).

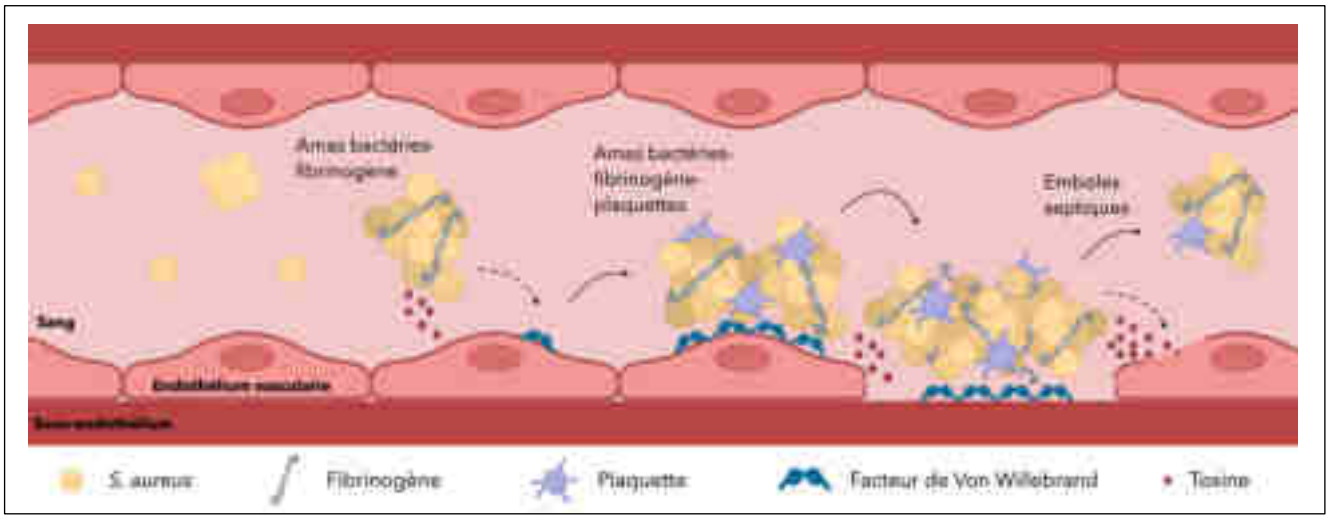


Figure 3 | Mécanisme physiopathologique des bactériémies à *S. aureus* [adapté de Kwiecinski & Horswill, 2020 (42)].

2.2. Atteinte du sang via un dispositif intravasculaire

Ces bactériémies résultent de la colonisation d'un dispositif induisant une décharge directe de bactéries dans le sang, pouvant aboutir à une authentique bactériémie symptomatique. Souvent, le retrait du dispositif permet de prévenir l'installation durable de la bactériémie. Cependant, le retrait de ces dispositifs n'est pas toujours possible : certains sont conçus pour rester en place sur de longues périodes et nécessitent une intervention chirurgicale pour leur dépose (exemple des chambres implantables). En cas de culture positive avec un staphylocoque à coagulase négative, la difficulté majeure est de savoir s'il s'agit d'une réelle bactériémie, d'une contamination d'origine cutanée ou encore d'une simple colonisation du dispositif vasculaire.

2.3. Atteinte du sang via le système lymphatique

Le pathogène est pris en charge par le système histio-monocytaire au niveau du foyer infectieux primitif, souvent situé dans le tractus digestif, ou plus généralement au niveau d'une muqueuse. Les cellules immunitaires sont ensuite drainées vers le territoire ganglionnaire le plus proche (tissu lymphoïde associé à l'estomac ou GALT – gastric associated lymphoïd tissu) via la circulation lymphatique afférente, lieu du relais vers l'immunité adaptative. À ce stade, grâce à des mécanismes d'échappement immunitaire, la dissémination s'effectue depuis la circulation lymphatique efférente vers le canal thoracique, atteignant ainsi la circulation sanguine générale. Les principales bactéries répondant à ce schéma physiopathologique sont les salmonelles majeures (sérotypes Typhi et Paratyphi, responsables de la fièvre typhoïde et paratyphoïde) ainsi que *Brucella* spp. (fièvre de Malte) (44).

2.4. Le cas particulier des endocardites infectieuses

Les surfaces endocardiques saines ne permettent pas l'adhésion des bactéries, dont le passage dans le sang, en lien avec les activités quotidiennes, peut être relativement fréquent (rappel : brossage des dents, digestion, intervention médicale invasive). Cependant, lorsque des lésions de l'endocarde interviennent, un tissu cicatriciel constitué d'amas fibrino-plaquettaires se forme, favorisant la fixation des bactéries (**Figure 4**).

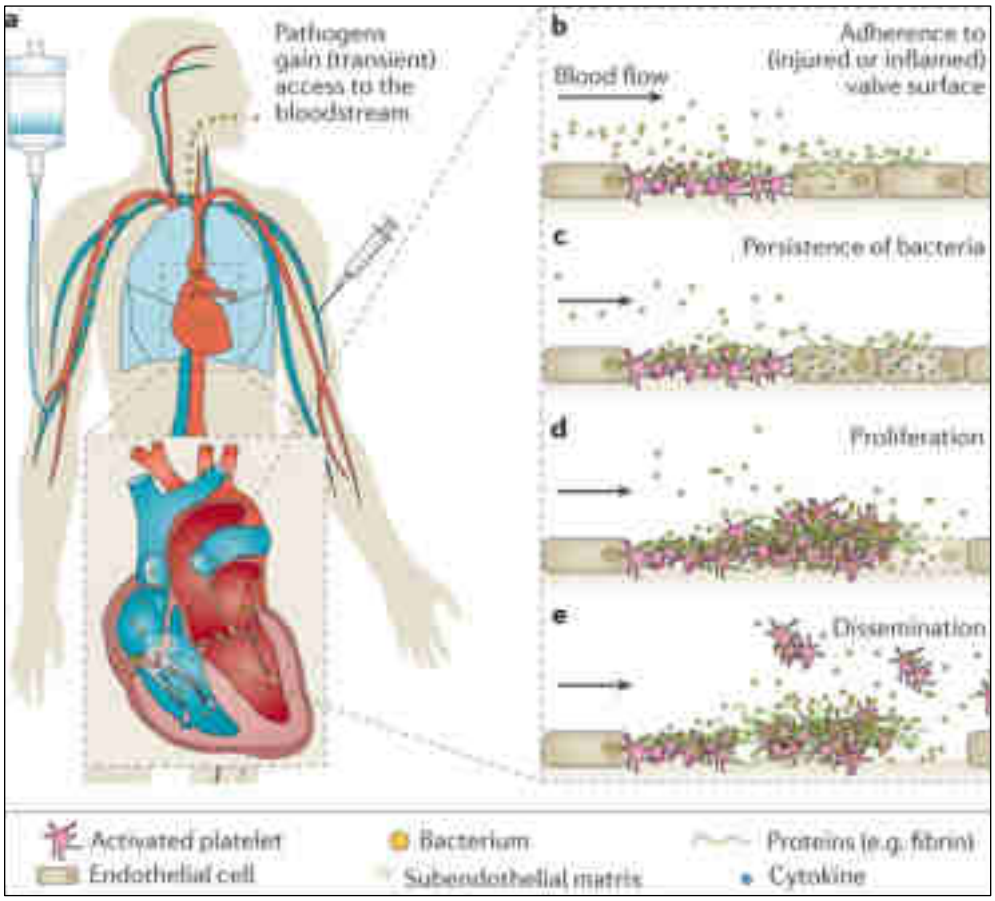


Figure 4 | Mécanisme physiopathologique des endocardites infectieuses (45).

Ces lésions endocardiques peuvent être dues à une valvulopathie, une cardiopathie congénitale, la présence d'une valve prothétique ou encore l'utilisation de drogues intraveineuses (endocardites du cœur droit). La colonisation bactérienne d'une lésion permet la croissance des bactéries, induisant la formation d'une végétation. L'ensemble de ce processus constitue l'endocardite infectieuse (45,46). La formation supplémentaire de thrombus et de biofilm bactérien offre aux bactéries une « niche écologique protégée », à l'origine d'une réinfection continuelle du sang. À terme, la pérennisation des lésions de l'endocarde expose à un risque de destruction valvulaire.

3. Formes d'expression clinique

Les différents cadres nosologiques associés aux bactériémies ont évolué au fil du temps : ainsi, il faut distinguer les concepts de bactériémie, septicémie, sepsis, sepsis sévère et choc septique. Les tentatives pour définir ces différentes entités se sont succédées, cherchant à clarifier et standardiser leur diagnostic.

3.1. Sepsis 1

En 1992, l'American college of chest physicians (ACCP) et la Society of critical care medicine (SCCM) se sont réunis avec la volonté de proposer la première définition claire du sepsis, basée sur une revue de la littérature et sur des avis d'experts. Le sepsis est alors défini comme « la réponse inflammatoire systémique causée par une infection ». Pour caractériser cette réponse inflammatoire, le score SRIS (syndrome de réponse inflammatoire systémique) est alors introduit. La présence d'au moins deux critères du SRIS, associé à une infection microbiologiquement définie ou suspectée, établissait alors le diagnostic de sepsis. Des stades supplémentaires d'évolution du sepsis ont également été définis : i) le sepsis sévère, qui associe un sepsis simple avec une dysfonction d'organe ; ii) le choc septique, associant un sepsis sévère avec une hypotension résistante à un remplissage vasculaire. Par ailleurs, l'abandon du terme « septicémie » est déjà recommandé au profit de « bactériémie » (47).

3.2. Sepsis 2

En 2001, cinq sociétés savantes nord-américaines et européennes se sont réunies pour une conférence de consensus (« Sepsis-2 ») visant à actualiser la définition du sepsis (48). Cette conférence précise les critères des dysfonctions d'organes entrant dans la définition du sepsis sévère et revoit celle du choc septique. Le choc septique est alors défini comme un sepsis sévère associé à une hypotension, persistant malgré un remplissage vasculaire adéquat et nécessitant un support vasopresseur. Il est rappelé que l'étiologie du SRIS peut être de nature non infectieuse : il faut noter à ce sujet que plus de la moitié des patients peuvent présenter un SRIS au cours d'une hospitalisation sans étiologie infectieuse documentée (49). La définition manque donc de spécificité, mais également de sensibilité, le SRIS pouvant faire défaut chez des patients en état de choc septique (50).

3.3. Sepsis 3

Les définitions ont été réactualisées en 2016 avec les recommandations « Sepsis-3 ». Ces recommandations émanent d'un groupe de travail formé sous l'égide de l'ESCIM (European society of intensive care medicine) et de la SCCM (Society of critical care medicine) (51). Le sepsis est redéfini comme « un dysfonctionnement d'organe menaçant le pronostic vital, provoqué par une réponse inappropriée de l'hôte à une infection ». On note l'emploi du terme « infection », au sens large, qu'il s'agisse d'une infection bactérienne, virale, fongique ou parasitaire. Contrairement aux définitions proposées par « Sepsis-1 » et « Sepsis-2 », l'accent est mis sur la dysfonction d'organe plutôt que sur la réponse inflammatoire, qui était avant réservée au sepsis sévère. La notion de sepsis sévère a donc été abandonnée, reconnaissant que tout sepsis est intrinsèquement grave et lié à un risque élevé de mortalité. Pour évaluer cette dysfonction d'organe, le score SOFA (sequential organ failure assessment) est désormais recommandé, sa capacité à prédire les évolutions défavorables étant meilleure que celle du SRIS (**Tableau 1**) (52). Cependant ce score nécessite la réalisation de multiples prélèvements et est donc difficile à réaliser en dehors d'un service de réanimation.

Tableau 1 | Score SOFA (adapté de Singer et al., 2016) (51).

Système	Score 0	Score 1	Score 2	Score 3	Score 4
Respiration (PaO_2/FiO_2, mmHg (kPa)	≥ 400 (53,3)	< 400 (53,3)	< 300 (40)	< 200 (26,7) avec support respiratoire	< 100 (13,3) avec support respiratoire
Coagulation Plaquettes (G/L)	≥150	< 150	< 100	< 50	< 20
Foie Bilirubine, mg/dL (mmol/L)	< 1,2 (20)	1,2-1,9 (20-32)	2,0-3,9 (33-101)	6,0-11,9 (102-204)	> 12,0 (204)
Cardiovasculaire	PAM ≥ 70 mm Hg	PAM < 70 mm Hg	Dopamine ≤ 5 ou dobutamine (toute dose)	Dopamine > 5-15 ou adrénaline ≤ 0,1 ou noradrénaline ≤ 0,1	Dopamine > 15 ou adrénaline > 0,1 ou noradrénaline > 0,1
Système nerveux central Score de Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	< 6
Rénal Créatinine, mg/dL (mmol/L) Diurèse, mL/j	< 1,2 (110)	1,2- 1,9 (110-170)	2,0- 3,4 (171-299)	3,5- 4,9 (300-440) ou diurèse < 500 mL/j	> 5,0 (440) ou diurèse < 200 mL/j

FiO_2 : fraction d'oxygène inspiré, PAM : pression artérielle moyenne, PaO_2 : pression partielle en oxygène.
Les doses de catécholamines sont données en µg/kg/min, les scores de l'échelle de coma de Glasgow vont de 3 à 15; un score plus élevé indique une meilleure fonction neurologique.

Une version simplifiée, le quick SOFA (qSOFA), est ainsi recommandée hors réanimation : elle permet d'identifier rapidement un patient à risque de développer un sepsis avec une bonne valeur prédictive positive (**Tableau 2**).

Tableau 2 | Score quick SOFA (51).

Paramètres	Seuil
Pression artérielle systolique	< 100 mm Hg
Rythme respiratoire	> 22/min
Conscience	SG < 15

SG, Score de Glasgow

Le choc septique est aussi redéfini, et correspond à « un sous-ensemble du sepsis dans lequel les anomalies circulatoires et métaboliques sous-jacentes sont suffisamment profondes pour augmenter considérablement la mortalité ». En pratique, le choc septique correspond à un sepsis (défini selon les indications du « Sepsis-3 »), associé à un taux de lactate > 2 mmol/L et la nécessité d'utiliser des vasopresseurs pour maintenir une pression artérielle moyenne ≥ 65 mm Hg.

Bien que des consensus ou définitions soient établis, le sepsis reste un concept complexe et encore partiellement élucidé. À ce jour, il n'existe pas de critères cliniques, biologiques ou radiologiques universellement reconnus permettant d'identifier de manière précise et fiable un patient en état de sepsis. Les scores SOFA ou qSOFA sont conçus pour faciliter le diagnostic, mais ne peuvent pas se substituer à une évaluation clinique globale du patient.

4. Épidémiologie

4.1. Épidémiologie des bactériémies

Les données épidémiologiques disponibles à l'échelle mondiale indiquent que l'incidence des bactériémies (tant communautaires que nosocomiales) est en augmentation régulière depuis plusieurs décennies. Par exemple, une étude finlandaise menée entre 1995 et 2002 a observé une hausse de 40 % de l'incidence annuelle des bactériémies, passant de 104 à 145 cas pour 100 000 personnes et par an (53). Dans un contexte similaire, une étude danoise a révélé une augmentation de 46 % entre 1992 et 2006, passant de 114 à 166 épisodes pour 100 000 années-personnes (54). En Europe et en Amérique du Nord, le nombre de nouveaux cas de bactériémies a été estimé en 2013 à environ **2 millions de cas**, dont **1,2 million en Europe** (55).

Concernant l'origine des bactériémies, on observe selon les études une répartition globalement similaire, avec 40 à 50 % d'origine communautaire pour 50 à 60 % d'origine nosocomiale (37,56–59). En France, le rôle des bactériémies comme cause majeure d'infections associées aux soins (IAS) s'est accentué au fil des ans : de 5,6 % en 2001, leur part dans les IAS a augmenté pour atteindre 10,1 % en 2012, puis 12,1 % selon la dernière enquête nationale en 2022 (60–65). Cette augmentation pourrait s'expliquer notamment par l'augmentation concomitante de l'utilisation des dispositifs intravasculaires.

4.2. Épidémiologie du sepsis

Environ 50 à 60 % des cas de sepsis sont dits « culture négative », c'est-à-dire qu'aucun agent infectieux n'est identifié, malgré une forte suspicion d'infection. En revanche, 40 à 50 % des cas de sepsis sont dits « culture positive », avec un agent pathogène identifié, majoritairement bactérien (66–68). Parmi ces sepsis « culture positive », une bactériémie (hémoculture positive) est retrouvée dans 20 à 50 % des cas, bien que ce taux puisse être sous-estimé en raison des bactériémies « décapitées » par un traitement antibiotique préalable (66). La **Figure 5** montre la proportion de sepsis associé à une bactériémie.

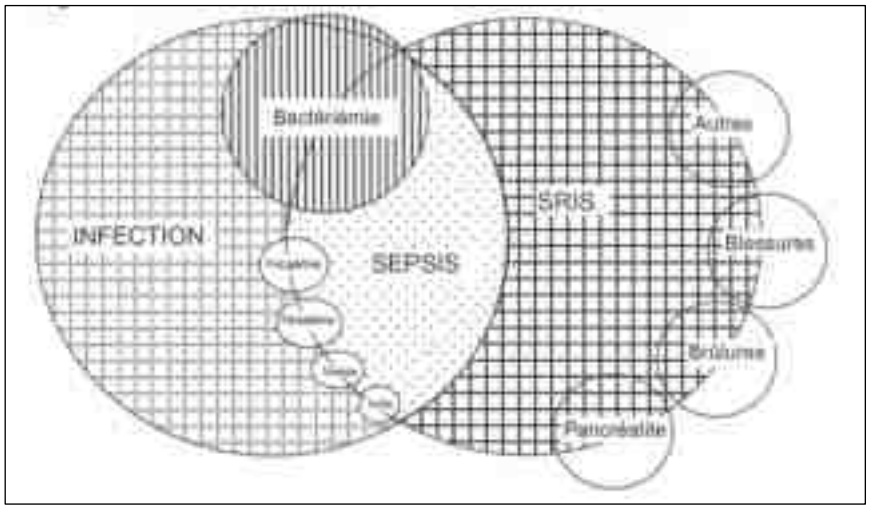


Figure 5 | Part relative des infections bactériémiques dans le sepsis (34).

Les infections fongiques, virales ou parasitaires restent des causes rares de sepsis [une étude estime le total à 1,7 % des cas (69)], bien que la COVID-19 ait représenté plus de 20 % des sepsis hospitaliers durant la pandémie (70). Depuis, le taux est revenu à des niveaux similaires à la période prépandémique. Les infections bactériennes et en particulier les bactériémies sont donc considérées comme les causes principales de sepsis. La constatation clinique d'un sepsis faisant systématiquement pratiquer le prélèvement d'hémocultures, gold standard du diagnostic des bactériémies.

Concernant l'incidence du sepsis, plusieurs données épidémiologiques indiquent également une tendance à la hausse. Aux États-Unis, par exemple, l'incidence est passée de 82,7 cas pour 100 000 habitants en 1979 à 240,4 en 2000, et a encore augmenté pour atteindre 327 cas pour 100 000 habitants en 2008 (71,72). En France, l'évolution est similaire avec une incidence qui est passée de 206 à 243 pour 100 000 habitants entre 2010 et 2015 (73), puis de 357 à 403 pour 100 000 habitants entre 2015 et 2019 (**Figure 6**) (69).

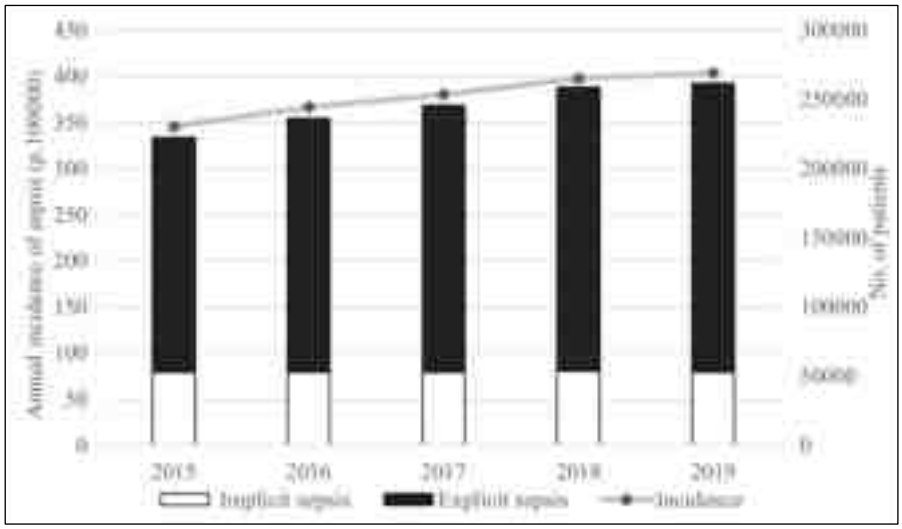


Figure 6 | Évolution de l'incidence annuelle du sepsis (pour 100000 habitants) entre 2015 et 2019 en France (69).

À l'échelle mondiale, une méta-analyse de 2016 réactualisée en 2020 montre une augmentation de 46 % de l'incidence par rapport à 2008 (74,75). L'estimation fait état de 31,5 millions de cas de sepsis en 2016, mais le chiffre est probablement sous-estimé, car les données proviennent majoritairement de pays à revenus élevés (74). L'étude « GBD », qui s'appuie sur un recueil mondial de certificats de mortalité, propose le chiffre de 48,9 millions de cas sur l'année 2017 (1). Cette étude, incluant nettement plus de pays à revenus faibles ou intermédiaires, met en évidence le fait alarmant que ces derniers concentrent 85 % des cas mondiaux de sepsis (1).

À la suite de ces études et préoccupée par le nombre croissant de décès liés au sepsis, l'OMS a reconnu, lors de la 70e assemblée mondiale de la santé, le sepsis comme un **problème majeur de santé publique** et a souligné l'importance d'en atténuer l'impact (76).

4.3. Conséquences pronostiques

4.3.1. Conséquences des bactériémies

L'impact des bactériémies est considérable et des études récentes en démontrent clairement la gravité et les répercussions. Au Canada, les bactériémies d'origine communautaire étaient très majoritairement à l'origine d'une hospitalisation, avec respectivement 71 % et 87 % des cas en 2013 et en 2016, pour une durée moyenne d'hospitalisation dépassant les 8 jours (58,77). En France, les données de l'étude SPA-BACT, une enquête observationnelle prospective et multicentrique, révèlent que 22 % des patients atteints de bactériémies d'origine communautaire souffrent de sepsis sévère et que 10 % des patients sont en état de choc septique dès leur admission à l'hôpital (37). Dans le cadre des bactériémies nosocomiales, la situation est encore plus prononcée. Selon les données de la cohorte EUROBACT-2 ayant suivi des patients de réanimation bactériémiques de manière prospective entre 2019 et 2021,

64,2 % des patients étaient en sepsis et 31,7 % en choc septique dès le diagnostic (78). Ces chiffres illustrent la sévérité et l'urgence que les bactériémies représentent.

Les conséquences des bactériémies en termes de pronostic varient selon plusieurs facteurs [lieux d'acquisition, présentation clinique (sepsis, choc septique), profil du patient…] :

4.3.1.1. Lieux d'acquisition

Les **bactériémies associées aux soins** présentent un pronostic moins favorable que les bactériémies communautaires. Au Danemark, le taux de mortalité des bactériémies communautaires était de 15 % en 2006, tandis que celui des bactériémies nosocomiales atteignait 28 % (54). Cette différence de mortalité est également soulignée par une revue de plusieurs études épidémiologiques européennes, indiquant un taux de mortalité allant de 13 à 20 % pour les bactériémies communautaires et de 12 à 32 % pour celles d'origine nosocomiale (55). Une autre étude corrobore ces conclusions, rapportant une mortalité de 12,7 % pour les bactériémies associées aux soins, significativement supérieure à la mortalité estimée à 7,6 % pour les bactériémies acquises en milieu communautaire (58). Cette tendance est encore plus marquée dans les services de soins intensifs, où les bactériémies sont liées à des taux de mortalité de 36 à 42 %, comme le montrent les cohortes EUROBACT 1 et 2 (78).

4.3.1.2. Présentation clinique

Le pronostic des bactériémies dépend également **de la présentation clinique**, notamment lorsqu'elles évoluent en sepsis ou en choc septique. Une étude récente estime que 30 à 40 % des bactériémies acquises en milieu hospitalier progressent vers ces formes graves (79).

4.3.1.3. Profil des patients

Le pronostic des bactériémies varie **considérablement en fonction du profil des patients**, notamment leur âge. Il est bien établi que les patients âgés de plus de 65 ans représentent la catégorie démographique la plus concernée par les bactériémies, avec des taux d'incidence et de mortalité particulièrement élevés. De nombreuses études ont confirmé cette tendance au fil des années, soulignant la vulnérabilité accrue de cette population (37,53–55,58,69,72,77,78,80–83). Un âge élevé s'accompagne en effet plus souvent de pathologies et de comorbidités multiples qui affaiblissent le système immunitaire et facilitent l'acquisition d'infections ; par ailleurs, le recours accru aux procédures invasives, aux médicaments immunosuppresseurs ou à la chimiothérapie, expose davantage la population âgée au risque infectieux. Outre l'âge et les comorbidités qui y sont associées, d'autres facteurs pris individuellement sont à risque de mauvais pronostic : immunosuppression, cancer, bactériémies à BGN, hémopathies (neutropénie), asplénie (84,85).

4.3.1.4. Mortalité des bactériémies

On observe que les taux de mortalité liée aux bactériémies suivent une tendance générale à la baisse. Par exemple, une étude danoise montre que la mortalité à 30 jours chez les patients présentant une bactériémie communautaire a diminué, passant de 19 % entre 1992 et 1996 à 15,4 % entre 2002 et 2006 (54). Au Canada, le taux de mortalité a également chuté, de 13 % en 2013 à 10,6 % en 2016 (58,77). En France, une tendance similaire a été observée, avec une réduction du taux global de mortalité hospitalière, passant de 25,7 % en 2015 à 23,6 % en 2019 ; cette baisse concernait aussi bien la mortalité à 30 jours qu'à 90 jours (69). Toutefois, les bactériémies demeurent l'une des principales causes de mortalité infectieuses. Aux États-Unis, les bactériémies présentent une mortalité supérieure à celle des pneumonies ou de la grippe, et figurent comme la septième cause de mortalité (55).

4.3.2. Conséquences du sepsis

4.3.2.1. Morbi-mortalité du sepsis

Aux États-Unis, une étude nationale conduite entre 2000 et 2008 a révélé que 17 % des cas de sepsis aboutissent à un décès, contre seulement 2 %, tout autre diagnostic hospitalier confondu (72). En France, une étude réalisée entre 2010 et 2015 a montré que le taux de mortalité hospitalière était de 34 % pour le sepsis et atteignait 45,2 % pour le choc septique (73). Par ailleurs, une méta-analyse des études publiées entre 2009 et 2019 indique un taux global de mortalité à 30 jours de 24,4 % pour le sepsis et de 34,7 % pour le choc septique (86). Le fait de développer un sepsis est également associé à un risque élevé de réhospitalisation précoce (87), de séquelles importantes (limitation fonctionnelle, troubles cognitifs) (88,89) et d'un risque de décès de plus de 30 % dans l'année suivant l'épisode (90,91).

À l'échelle mondiale, le sepsis représenterait à lui seul près de 11 millions de décès en 2017. De manière comparative, la tuberculose est responsable d'environ 1 million de décès par an (92), le VIH et le paludisme environ 600 000 chacun (93) et la COVID-19 plus de 7 millions en 2 années de pandémie (94). Une proportion significative des décès dus au sepsis – 84 % – survient dans des pays à faibles revenus, et trois millions de décès concernent des enfants de moins de 5 ans. Toutefois, il est intéressant de noter une baisse de 30 % des décès dus au sepsis par rapport à l'année 1990, pour laquelle le nombre de décès était estimé à 15,7 millions (1). Cette tendance à la baisse a également été observée dans plusieurs autres études (71,73,95).

4.3.2.2. Conséquences économiques du sepsis

L'impact économique du sepsis est également majeur. En 2017, aux États-Unis, le sepsis a généré 38 millions de dollars de dépenses hospitalières, soit la dépense la plus élevée parmi toutes les pathologies. Ces coûts représentaient 9 % de l'ensemble des dépenses hospitalières, bien que le sepsis

n'ait été qu'à l'origine de 5,8 % de l'ensemble des hospitalisations. À titre de comparaison, ces dépenses représentent le double de celles liées aux infections ostéo-articulaires, la deuxième pathologie la plus coûteuse aux États-Unis, avec 19,9 millions de dollars de dépenses (96). Tout comme la durée moyenne d'hospitalisation et le taux de mortalité, l'impact économique augmente avec la sévérité de la présentation clinique. Une étude réalisée aux États-Unis indique des coûts significativement différents selon la présentation, avec respectivement, 16 324 $ en moyenne pour un sepsis sans dysfonction d'organe et allant jusqu'à 68 671 $ pour un choc septique (97). Une étude française indique un coût moyen par hospitalisation de 11 400 € pour les patients en sepsis et 16 439 € pour les patients en choc septique (73). Quelle que soit sa définition, le sepsis est répertorié comme l'une des affections les plus coûteuses dans les hôpitaux du monde entier (3). Ces chiffres illustrent le lien évident entre la complexité de la prise en charge clinique et son impact économique.

5. Épidémiologie microbiologique

Au cours des deux dernières décennies, la répartition des micro-organismes responsables de bactériémies a significativement évolué. Le programme de surveillance SENTRY, en place depuis 1997, recueille les données de plus de 200 centres médicaux dans 45 pays, couvrant 4 régions de l'OMS : Europe, Amériques, Asie du Sud-est et le Pacifique occidental. Cette initiative permet d'appréhender les tendances évolutives globales en termes de micro-organismes et de résistances (98). Le type de pathogène impliqué varie également selon d'autres paramètres, notamment les types d'infections et les caractéristiques des patients [l'espèce *P. aeruginosa* par exemple, impliquée plus particulièrement chez les patients immunodéprimés (99)].

5.1. Évolution de la représentation des micro-organismes

Entre 1997 et 2016, ce sont les espèces *S. aureus* et *E. coli* qui sont les principaux pathogènes responsables de bactériémies, représentant environ 20 % des cas chacun (20,7 % pour *S. aureus* et 20,5 % pour *E. coli*) (**Figure 7**). Jusqu'en 2005, *S. aureus* était le pathogène principal ; mais depuis, la fréquence des bactériémies à *E. coli* a augmenté, tandis que celle des bactériémies à *S. aureus* a diminué (**Figure 7**) (98).

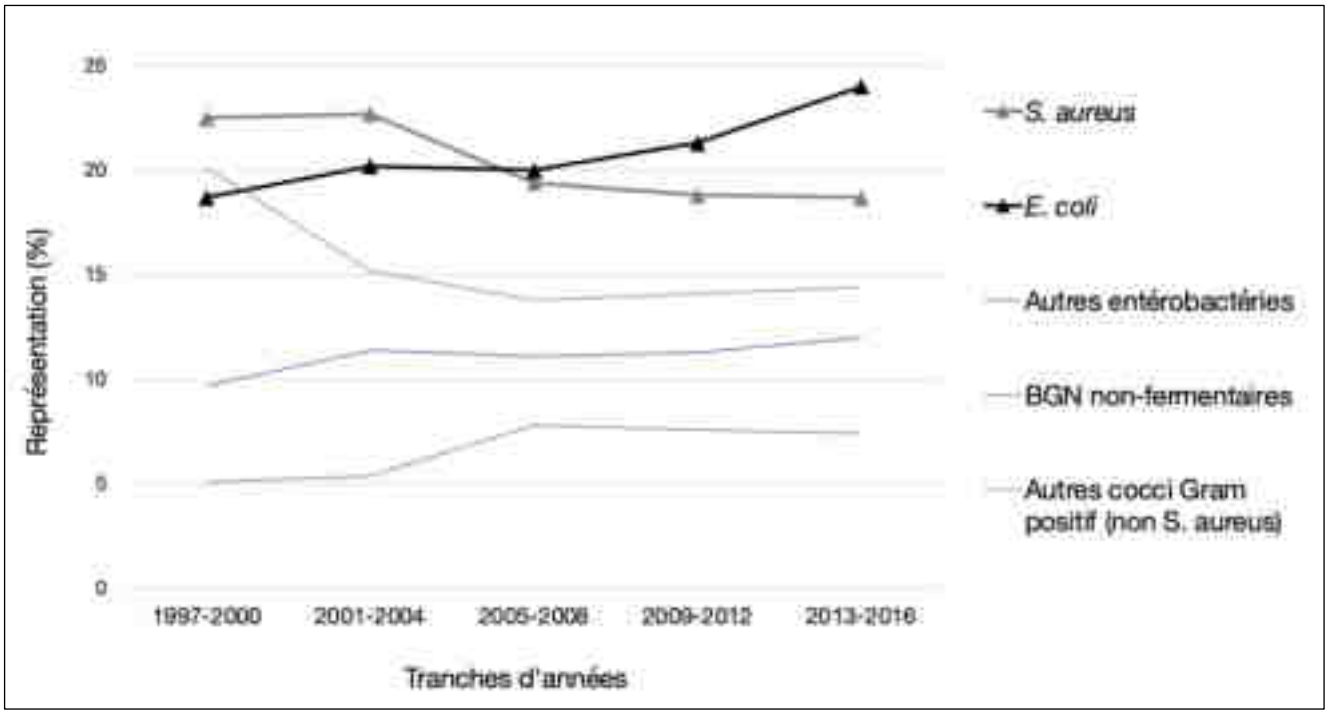


Figure 7 | Représentation des différentes bactéries responsables de bactériémies dans le monde par tranche de 4 ans selon le programme SENTRY (adapté de Diekema et al., 2019) (98).

Dans la cohorte internationale EUROBACT-2 (patients de réanimation bactériémiques), on observe une nette prédominance des BGN, représentant 59 % des cas, avec un pronostic généralement plus défavorable (78). Il faut noter que dans cette cohorte, l'agent pathogène le plus fréquent n'était pas *E. coli*, mais *Klebsiella pneumoniae* (78), qui proportionnellement présente plus fréquemment des résistances acquises. Par ailleurs, on observe une diminution continue des bactériémies à *Streptococcus pneumoniae* depuis 1997, un phénomène que l'on peut attribuer à l'impact des politiques vaccinales et à l'utilisation des vaccins conjugués (100).

Nous pouvons également observer que les espèces *E. coli* et *S. aureus* sont moins fréquemment impliquées dans les bactériémies d'origine nosocomiale que dans celles d'origine communautaire (**Tableau 3**). En effet, leur fréquence cumulée représente 31,3 % des cas de bactériémies nosocomiales contre 57,8 % pour celles acquises en situation communautaire (98). À l'hôpital, les BGN autres que *E. coli* sont beaucoup plus représentés : *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp.. Il faut cependant noter qu'au niveau hospitalier, *S. aureus* est l'espèce prédominante (21,3 %), alors qu'en milieu communautaire c'est *E. coli* qui prédomine avec 26,6 % des cas (98). Par ailleurs, les études hospitalières indiquent régulièrement une proportion non négligeable, entre 15 et 30 %, de SCN dans les bactériémies nosocomiales, principalement en lien avec la présence de matériel intravasculaire (99).

Rang	Bactéries (%)	
	Acquisition communautaire (N = 102 638)	**Associé aux soins (N = 103 945)**
1	***E. coli* (26,6)**	***S. aureus* (21,3)**
2	*S. aureus* (22,4)	***E. coli* (15,6)**
3	*K. pneumoniae* (7,2)	*K. pneumoniae* (8,8)
4	*S. pneumoniae* (5,2)	*P. aeruginosa* (7,4)
5	*E. faecalis* (4,7)	*E. faecalis* (6,4)
6	*P. aeruginosa* (3,7)	*S. epidermidis* (4,8)
7	*E. cloacae* (2,4)	*E. faecium* (4,3)
8	*S. agalactiae* (2,3)	*E. cloacae* (4,0)
9	*S. epidermidis* (2,2)	*A. baumannii* (3,2)
10	*P. mirabilis* (2,0)	*S. marcescens* (2,1)

Tableau 3 | Ordre de classement des pathogènes (%) à l'origine de bactériémies dans le monde – programme SENTRY, de 1997 à 2016, stratification selon l'origine communautaire ou hospitalière (d'après Diekema et al., 2019) (98).

5.2. Évolution des résistances bactériennes

Concernant la résistance aux antibiotiques des bactéries responsables de bactériémies, nous pouvons également dégager certaines tendances évolutives (98).

Jusqu'en 2008, la proportion de SARM a augmenté régulièrement, indépendamment de l'origine communautaire ou nosocomiale de la bactériémie ou de la région géographique. Cependant, depuis 2008, la tendance s'inverse et une diminution constante des taux de bactériémies à SARM est observée. Parallèlement, on constate une augmentation constante de la part des entérobactéries résistantes aux C3G, avec des souches productrices de BLSE de type CTX-M, ou des souches résistantes aux carbapénèmes par production de carbapénémases (KPC, OXA-48 like). Ces tendances évolutives sont présentes en France, quel que soit le type d'infection considéré (**Figure 8**).

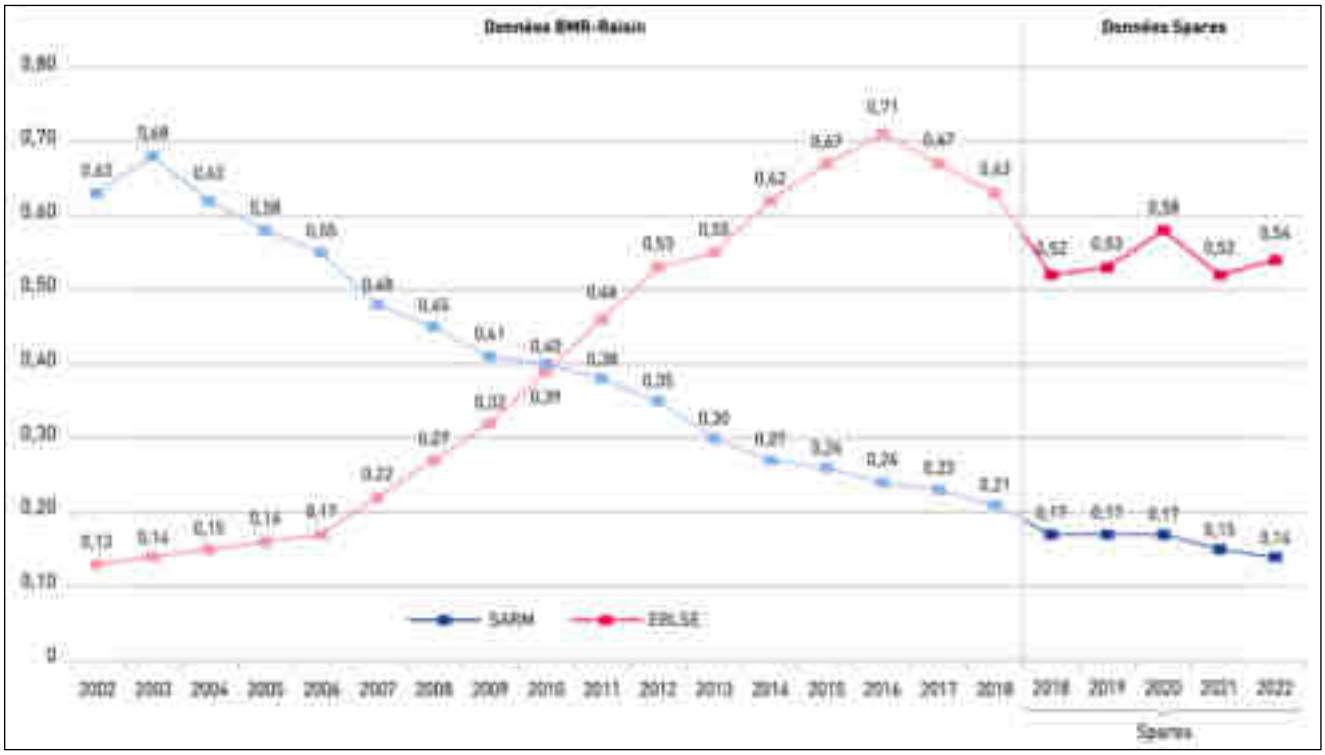


Figure 8 | Évolution entre 2002 et 2022 de l'incidence française (nombre de souches pour 1000 journées d'hospitalisations complètes) des SARM et des EBLSE. France, mission nationale SPARES, données 2022 (nombre variable d'établissements participants chaque année, changement de méthode de surveillance en 2018).

Il est intéressant d'observer qu'entre 1997 et 2016, une seule souche de *S. aureus* résistante aux glycopeptides responsable de bactériémie a été décrite dans le réseau SENTRY (98). Concernant les entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG), leur fréquence était en augmentation jusqu'à la période 2009-2012, mais la tendance est désormais également à la baisse, en grande partie grâce aux politiques de prévention des transmissions croisées et à l'amélioration des procédures d'hygiène hospitalière.

L'étude SPA-BACT, menée dans 121 établissements français entre 2014 et 2015, estimait à 10 % la fréquence cumulée des bactériémies liées aux SARM et aux entérobactéries productrices de BLSE ou de carbapénémases (EPC) (37). Cependant, les données de surveillance de l'ECDC (European center for disease prevention and control – Centre européen de prévention et de contrôle des maladies) permettent de prendre du recul sur l'incidence des EPC en France. En effet, la proportion d'EPC responsables d'infections invasives en Europe n'est pas la même selon les pays : par exemple, la Roumanie ou la Grèce présentent des taux de résistance aux carbapénèmes supérieurs à 50 % chez *K. pneumoniae*, alors qu'elle n'est estimée qu'à environ 1 % en France et en Allemagne (**Figure 9**).

Figure 9 | Proportion de souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes par pays en 2021 (source : ECDC, Antimicrobial resistance surveillance in Europe).

Entre 1997 et 2016, on observe la même tendance d'augmentation des épisodes de bactériémies causées par des EPC que par les BLSE (**Figure 10**). Parallèlement, le CNR (centre national de référence) de la résistance aux antibiotiques en France observe une augmentation constante de la proportion de souches d'EPC reçues entre 2012 et 2020 (+ 195 %) (101). Compte tenu de cette tendance, des taux élevés de résistance de certains voisins européens, et la gestion du portage digestif des EPC qui est devenue une routine quotidienne dans les CHU, il est raisonnable de penser que cette progression se poursuit aussi pour les EPC.

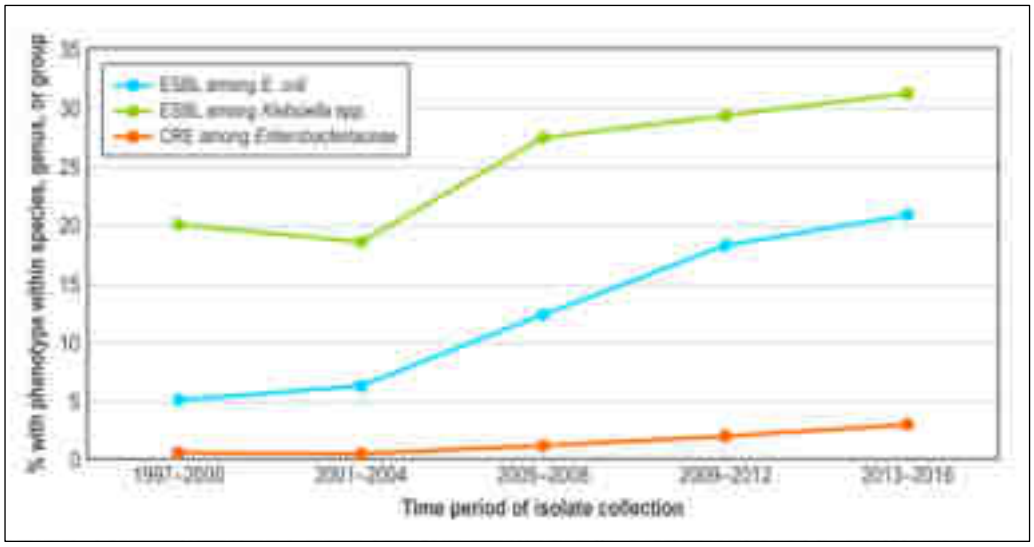


Figure 10 | Tendance sur vingt ans du pourcentage d'*E. coli* et *K. pneumoniae* BLSE et d'*Enterobacteriaceae* EPC – SENTRY, 1997 à 2016 (98).

La résistance croissante des BGN aux antibiotiques constitue un défi de santé publique majeur. Exacerbée par l'utilisation fréquente d'antibiotiques à large spectre et la diffusion communautaire par portage digestif, cette situation entraine non seulement une difficulté accrue dans la gestion des transmissions croisées, mais également un impact direct sur le pronostic des infections à bactéries résistantes. En effet, comme l'indiquent plusieurs études, la présence de micro-organismes résistants est associée à une mortalité plus élevée et à des coûts de prise en charge significativement plus importants (4,102,103). L'étude SPA-BACT indique que les bactériémies impliquant des bactéries résistantes proviennent majoritairement d'infections nosocomiales, avec 13 % des cas contre seulement 6 % pour celles d'origine communautaire, soulignant ainsi l'importance des pratiques de contrôle des infections dans les établissements de santé (37).

Par ailleurs, la résistance n'est pas le seul facteur de mauvais pronostic. En effet, les bactériémies « polymicrobiennes » (impliquant au moins deux micro-organismes) – bien que plus rares [6 % dans l'étude SPA-BACT (37), 11 % en réanimation (78)] – sont souvent liées à une forte mortalité (104,105). Ces bactériémies « polymicrobiennes » sont plus particulièrement observées chez des patients ayant des facteurs de risques : immunodépression (cirrhose, cancer digestif), bactériémies à point de départ cutané (escarres, grands brulés) ou digestif (chirurgie viscérale avec effraction digestive) (85).

6. Prise en charge antimicrobienne des bactériémies

6.1. Stratégie générale d'antibiothérapie

Les bactériémies, contaminations exclues, peuvent évoluer vers le sepsis, voire le choc septique avec alors la nécessité d'une hospitalisation dans un service adapté, notamment en réanimation en cas de choc septique. Elles justifient donc l'instauration sans délai d'une **antibiothérapie probabiliste**. L'antibiothérapie, administrée initialement par voie parentérale, se veut bactéricide. Le choix de l'antibiotique le plus approprié et de sa posologie repose sur plusieurs facteurs : la porte d'entrée suspectée de l'infection, le terrain du patient (par exemple, une neutropénie), la présence de localisations septiques secondaires (qui est le reflet d'un inoculum élevé), le résultat de l'examen microscopique à la coloration de Gram des hémocultures et l'écologie locale, notamment la probabilité de résistance des bactéries d'origine hospitalière (85). Il est essentiel de souligner qu'une antibiothérapie empirique inadéquate est fortement associée à une évolution clinique défavorable et à une augmentation de la mortalité (11,12,106,107). De ce fait, la possibilité pour un établissement de disposer d'une équipe mobile en antibiothérapie (EMA) permet de contribuer de manière très significative à l'amélioration du bon usage des antibiotiques (108).

Dans un second temps, **l'antibiothérapie doit être adaptée** aux résultats de l'identification des bactéries isolées et de l'antibiogramme : la documentation microbiologique complète permet d'ajuster le traitement de manière **optimale**, en permettant de cibler le ou les antibiotiques les plus efficaces et disposant du spectre le plus étroit possible. Cette approche est indispensable, car elle permet non seulement un bénéfice individuel (diminution de la pression de sélection bactérienne et limitation de l'altération des flores microbiennes), mais également collectif, en termes d'émergence et de dissémination des résistances. En ce sens, les politiques de gestion des antimicrobiens des établissements de santé recommandent classiquement que toute antibiothérapie soit réévaluée 48 à 72 heures après sa mise en route : cette réévaluation s'appuie à la fois sur l'évolution clinique initiale du patient et sur les données microbiologiques obtenues. Les études montrent l'importance majeure de cette adaptation précoce du traitement dans les bactériémies. Les patients qui continuent de recevoir une antibiothérapie inadaptée jusqu'à l'obtention des résultats de l'antibiogramme présentent un risque de mortalité de 25,8 %, mais ce taux chute à environ 10 % lorsque l'antibiothérapie est adaptée dès le début ou dès la notification de la positivité de l'hémoculture (104). La fréquence en hausse des résistances complique les décisions thérapeutiques non seulement probabilistes, mais aussi celles adaptées à l'antibiogramme. C'est particulièrement le cas en présence de bactéries ultrarésistantes.

6.2. Bactériémies primitives

En présence d'une bactériémie considérée comme primitive (sans porte d'entrée retrouvée) et en l'absence de complication, la société de pathologies infectieuses de langue française (SPILF) recommande une durée de traitement de 7 jours pour les entérobactéries et les BGN non fermentaires (109). Cette recommandation est étayée par plusieurs méta-analyses portant sur des études cliniques randomisées, démontrant la non-infériorité des traitements courts de 7 jours, comparativement aux durées « classiques » de 14 jours, sans différence significative en termes d'évolution clinique pour les bactériémies à entérobactéries (68,110). En outre, de récents essais cliniques randomisés multicentriques ont conclu à la non-infériorité d'un relais *per os* après 3 à 5 jours de traitement parentéral pour ces bactéries, suggérant ainsi la possibilité de réduire la durée d'hospitalisation lorsque l'évolution clinique est favorable (111–113). Plusieurs études cliniques incluant des bactériémies à BGN non fermentaires ou portant spécifiquement sur *P. aeruginosa* (114), suggèrent aussi une non-infériorité du traitement court pour ces genres/espèces bactériens (115). Concernant *S. aureus* (et par analogie *S. lugdunensis*), la SPILF recommande de garder un traitement de 14 jours devant i) l'absence de preuve suffisante supportant la non-infériorité du traitement court et ii) le risque de récidives en raison de la capacité de produire des métastases septiques. Cependant, un essai clinique randomisé visant à étudier cette hypothèse est en cours [protocole SAB7 de Thorlacius-Ussing et al., 2019 (116)]. Enfin pour d'autres micro-organismes (SCN, entérocoques et streptocoques) la SPILF, en extrapolant les données portant

sur les bactériémies liées aux dispositifs vasculaires, propose également une durée de traitement de 7 jours (109,117).

6.3. Bactériémies associées aux dispositifs vasculaires

En ce qui concerne les bactériémies associées à des dispositifs vasculaires, diverses recommandations et avis d'experts ont été formulés à l'échelle internationale, notamment par des spécialistes américains (117), espagnols (118) et français (119). Ces recommandations soulignent l'importance de la gestion appropriée des dispositifs en fonction de la durée prévue de leur maintien en place. Pour un cathéter veineux central destiné à être initialement maintenu sur une courte période, il est recommandé de le retirer directement et de débuter un traitement antibiotique. La durée de traitement est la même que pour les bactériémies primaires non compliquées, à l'exception des SCN, pour lesquels un traitement court de 3 jours est possible. Lorsqu'il est initialement destiné à rester en place pour une période prolongée, qu'il n'y a pas de complications et qu'on souhaite éviter son retrait, une technique de « verrou » d'antibiotiques peut être envisagée, à l'exception des cas impliquant *S. aureus*. En cas de complication, quelle que soit la durée initialement prévue pour son maintien, le matériel doit être retiré.

6.4. Bactériémies secondaires

Le traitement des bactériémies secondaires à un foyer infectieux identifié présente des particularités. En l'absence de signe de gravité (sepsis ou choc septique), de bactériémie à *S. aureus*, ou d'endocardite, les recommandations de traitement sont celles du site de l'infection primaire (infection urinaire, infection intra-abdominale, infection broncho-pulmonaire, méningite, etc.), avec une adaptation, dès que possible à la sensibilité de la bactérie isolée (109). Il est important de rappeler que si la source de la bactériémie est une collection profonde, le traitement par drainage/nettoyage chirurgical est primordial, en plus d'une antibiothérapie adaptée à bonne diffusion tissulaire. Dans tous les cas, le but est de **contrôler la porte d'entrée**, car c'est elle qui est à l'origine de la bactériémie. Cela apparait comme un facteur pronostic majeur (8). Il n'existe néanmoins pas de consensus actuel sur le délai pour le contrôle de la source. Des études suggèrent que celui-ci devrait intervenir dans les 6 à 12 h ; au-delà, la survie serait considérablement réduite (120).

6.5. Endocardites infectieuses

En cas d'endocardite infectieuse (EI) avérée ou suspectée, les recommandations de prise en charge thérapeutique les plus récentes sont celles de la Société européenne de cardiologie (ESC), en 2023 (121). L'importance d'une antibiothérapie bactéricide et synergique y est soulignée. Le traitement initial doit être administré par voie parentérale, à doses élevées et de manière prolongée, la durée totale de traitement pouvant aller jusqu'à six semaines. Cette approche serait essentielle pour stériliser l'endocarde infecté,

car les amas de fibrine des végétations protègent les bactéries, rendant difficile l'accès des agents bactéricides (85), en particulier en cas de développement de biofilm bactérien, et notamment sur les valves prothétiques. Cependant, depuis les bons résultats de l'essai clinique randomisé POET (122,123), l'ESC propose un relais par voie orale après au moins 10 jours de traitement parentéral. Ce relais peut être fait pour des patients dont l'évolution clinique est parfaite, notamment confirmé par la réalisation récente d'une échographie cardiaque transœsophagienne. Au cours des journées nationales d'infectiologie (JNI) de 2024, la SPILF a donné son avis sur les recommandations européennes de 2023, notamment les modalités du relais par voie orale. Elle propose également le relais *per os* sur la base de l'essai POET, cependant uniquement pour les EI à streptocoques et à BGN. Une réserve est émise pour les entérocoques et les staphylocoques en attendant les résultats de l'essai clinique RODEO, évaluant la non-infériorité du relais *per os* pour ces derniers (124).

6.6. Sepsis et choc septique

En cas de bactériémies associées à une réponse dérégulée de l'hôte (situation de sepsis ou de choc septique), la prise en charge thérapeutique est basée sur des recommandations spécifiques. Les recommandations les plus récentes proviennent de la « *Surviving Sepsis Campaign* » de 2021 (8), dont les éléments ont été adaptés en 2022 dans les recommandations françaises de la HAS (Haute autorité de santé). Il est recommandé de débuter le traitement antibiotique dans l'heure en présence d'un choc septique et dans les trois heures lors d'un sepsis (8). En effet, une étude rétrospective a montré que la survie des patients diminue en moyenne de 7,6 % pour chaque heure supplémentaire avant l'administration d'un traitement antimicrobien efficace au cours des 6 premières heures suivant le début de l'hypotension due au choc septique (11).

7. Circuit pour le diagnostic des hémocultures

Toute fièvre d'origine indéterminée doit faire pratiquer des hémocultures pour rechercher une bactériémie. Cet examen vise à isoler le micro-organisme suspecté d'être à l'origine de la symptomatologie, à l'identifier et à en déterminer la sensibilité aux antibiotiques. Il permet d'orienter le diagnostic vers le foyer primaire de l'infection, mais également d'identifier d'éventuels foyers secondaires. Dans des situations plus critiques comme le sepsis ou le choc septique, la *Surviving Sepsis Campaign* souligne l'importance de réaliser ces prélèvements dans les 45 minutes suivant l'apparition des premiers signes d'alerte (hypotension) et idéalement avant la mise en place d'une antibiothérapie probabiliste (8). L'hémoculture est également recommandée pour documenter une infection associée à un dispositif intravasculaire, pour le diagnostic d'endocardite, ainsi que chez les patients présentant un risque accru d'infection (immunodépression, femmes enceintes...) ou encore en cas d'extension d'une infection locale avec une bactériémie secondaire (125).

7.1. Flacon d'hémoculture

Le prélèvement standard pour diagnostiquer une bactériémie est l'inoculation d'un flacon d'hémoculture avec le sang du patient, qui est normalement stérile. Les flacons sont des milieux contenant un bouillon de culture riche (permettant la croissance d'organismes exigeants à croissance lente, notamment ceux du groupe HACCEK[1]) et un anticoagulant (souvent le SPS : polyanéthol sulfonate de sodium). Ce dernier permet également d'inhiber les composants antibactériens du sérum (complément, lysozyme). Certains flacons peuvent également contenir une résine absorbante permettant de neutraliser les antibiotiques, ainsi qu'un agent lysant les hématies. Il est à noter que selon les fabricants, la composition ou la concentration de ces composants peut varier (**Figure 11**).

Figure 11 | Flacons d'hémocultures des trois principaux fournisseurs sur le marché.

Il existe des flacons aérobies contenant de l'O_2 et des flacons anaérobies contenant du N_2, afin d'optimiser la croissance selon le type respiratoire des bactéries. De plus, il faut également noter que tous les flacons contiennent du CO_2, afin d'optimiser la culture de micro-organismes exigeants, tels que les bactéries du groupe HACCEK, les streptocoques et les bactéries du genre *Neisseria*. Une suspicion de bactériémie justifie le prélèvement d'une paire de flacons d'hémoculture aéro-anaérobies.

Une étude comparative des milieux commercialisés par les trois principaux fournisseurs de systèmes automatisés d'hémocultures a montré que les meilleures performances étaient obtenues avec les flacons BACTEC de Becton Dickinson (BD)®, notamment la combinaison des flacons BACTEC PLUS Aerobic/F et BACTEC lytic/10 anaerobic/F (126).

[1] HACCEK : *Haemophilus* (*H. parainfluenzae, H. aphrophilus, H. paraphrophilus*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*), *Cardiobacterium hominis, Capnocytophaga* spp., *Eikenella corrodens* et *Kingella kingae.*

7.2. Prélèvement

Le prélèvement sanguin pour les hémocultures est une étape cruciale qui influence directement la qualité des résultats obtenus. Un prélèvement mal effectué peut être à l'origine de diverses erreurs, impactant significativement l'exactitude du diagnostic. Parmi les erreurs courantes, on note les **faux positifs**, généralement dus à la contamination des flacons lors du prélèvement et des **faux négatifs**. Ces deniers pouvant survenir pour plusieurs raisons, comme le remplissage insuffisant des flacons, un nombre inadéquat de flacons utilisés, la réalisation d'un prélèvement après mise en place d'une antibiothérapie (bactériémie « décapitée »), ou un retard dans l'incubation des flacons.

De manière générale, il est primordial de respecter les précautions standard d'hygiène relatives à tout type de prélèvement, mais le prélèvement d'hémocultures requiert un protocole de désinfection spécifique de la peau. Afin de minimiser les risques de contamination des cultures par les bactéries commensales de la peau, une désinfection soigneuse de celle-ci et de l'opercule des flacons est ainsi attendue (**Figure 12**). Dans ce contexte, les désinfectants alcooliques sont à privilégier (16,127).

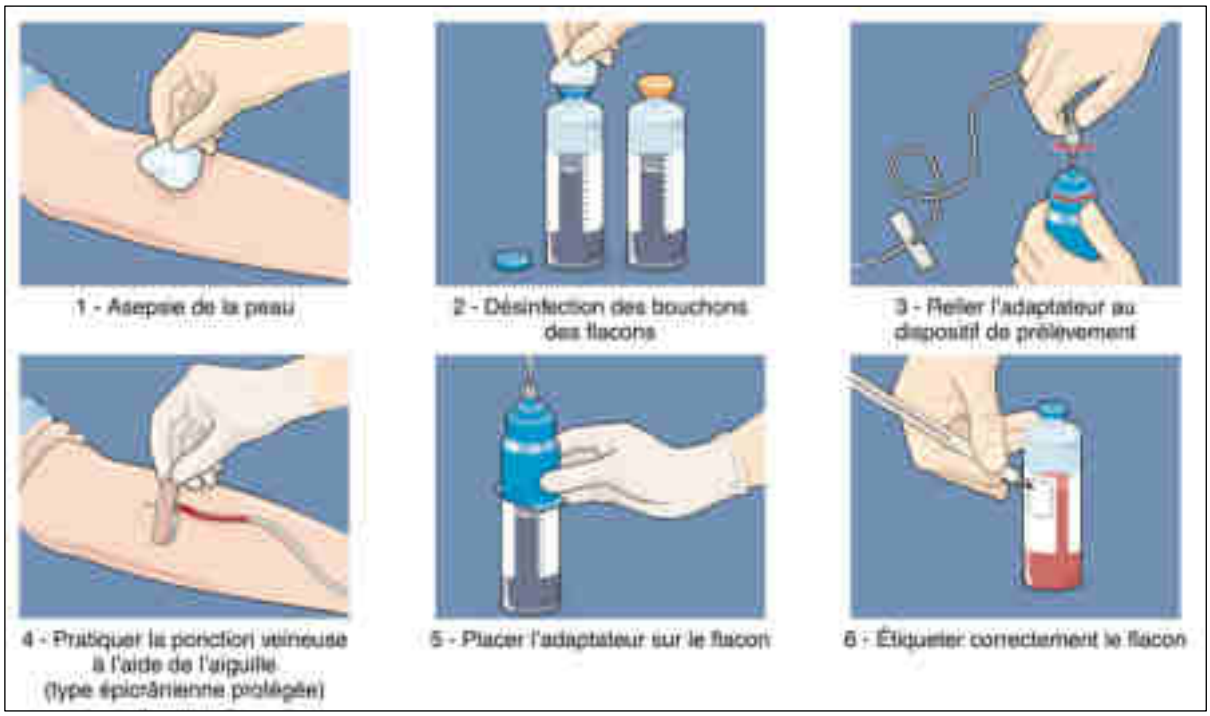


Figure 12 | Procédure de prélèvement des flacons d'hémocultures (128).

Il est recommandé de prélever systématiquement les flacons d'hémoculture par ponction périphérique directe, car les dispositifs intravasculaires peuvent fréquemment être colonisés. Les prélèvements effectués sur ces derniers doivent donc être évités autant que possible, car il est ensuite difficile de faire la part entre une colonisation du dispositif ou une réelle infection. Une exception concerne les hémocultures dites « quantitatives » et « différentielles », visant à déterminer si un dispositif intravasculaire est la source d'une bactériémie. Dans ce contexte, il est recommandé de procéder à un prélèvement simultané sur le dispositif et en périphérie, à un volume équivalent. Les hémocultures

quantitatives reposent sur la comparaison des isolements sur milieu gélosé entre la périphérie et le dispositif. Un ratio du nombre de colonies (dispositif/périphérie) est calculé entre les deux isolements, pour une même espèce. Si ce ratio est supérieur à 3:1 alors le dispositif est incriminé comme source de l'infection. Pour la technique des hémocultures différentielles, le dispositif sera considéré comme source de l'infection si le flacon correspondant se positive plus de 2 heures avant celui obtenu par ponction périphérique. Ces méthodes diagnostiques imposent des conditions préanalytiques difficiles à maîtriser : étiquetage correct des flacons, remplissage de tous les flacons avec un volume identique, délai de prélèvement inférieur à 10 minutes entre le dispositif et le site périphérique.

Une autre étape cruciale dans le processus de prélèvement est le volume et le nombre de flacons prélevés. Il est démontré que le taux de positivité des hémocultures augmente linéairement avec le volume de sang prélevé. Un volume total de sang prélevé ≥ 40 mL permet d'abaisser la limite de détection de l'examen, facilitant ainsi la détection de bactériémies pour lesquelles la concentration en micro-organisme sanguin est très faible (< 1 UFC/mL) (**Figure 13**) (16).

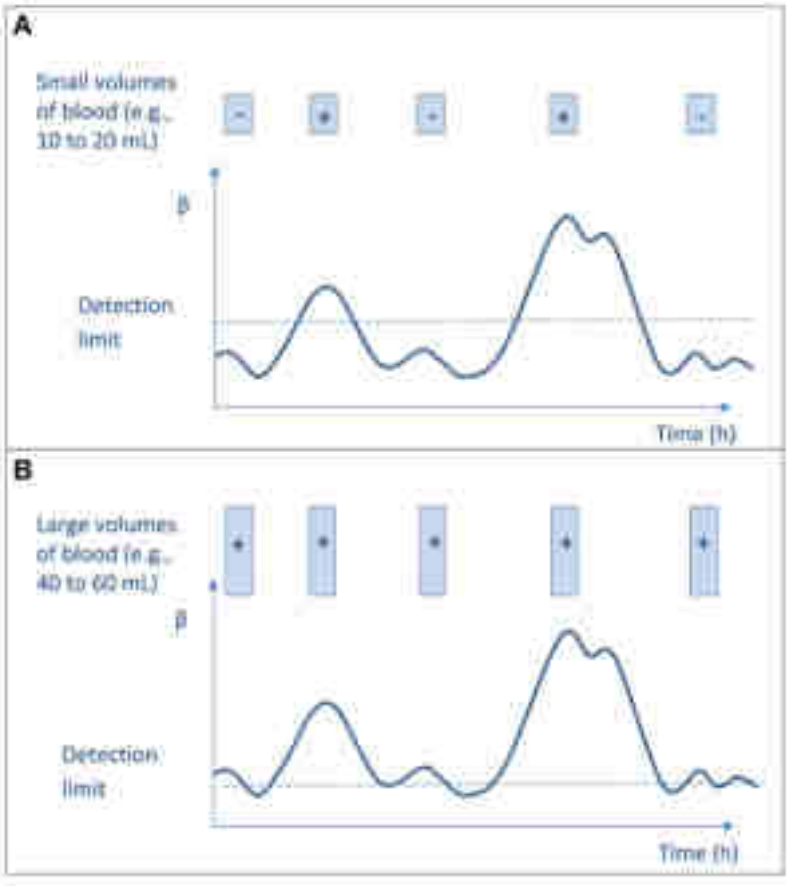


Figure 13 | Résultat d'hémoculture en fonction du volume de sang pour chaque prélèvement et de la charge bactérienne dans le sang. **A** Faible volume de sang. **B** Volume de sang plus élevé (16).

Le consensus actuel repose sur le prélèvement de 4 à 6 flacons, soit 2 à 3 paires de flacons « aéro-anaérobies », avec un volume requis entre 8 et 10 mL par flacon. L'objectif est d'atteindre un volume

total de sang prélevé par épisode compris entre 40 et 60 mL, assurant une sensibilité de détection d'environ 90 à 98 % respectivement (16). La pratique des « hémocultures solitaires » (une seule paire par épisode) et le remplissage insuffisant des flacons sont encore trop fréquents et compromettent l'efficacité du diagnostic (16).

Afin de garantir une sensibilité optimale, deux stratégies de prélèvement peuvent être envisagées :

- le prélèvement multiple sur 24 heures, qui représente la stratégie historique ;
- la stratégie du prélèvement unique, où les trois trains d'hémocultures sont prélevés en une seule et même ponction, simplifiant le processus.

Ces deux protocoles présentent des performances équivalentes de sensibilité à volume de sang prélevé équivalent (129,130). Cependant, la stratégie multiple présente plusieurs limitations : i) elle comporte autant de risque de contamination que de nombres de prélèvements ; ii) le concept de bactériémie intermittente est remis en question, les fluctuations de la concentration bactérienne dans le sang sur 24 heures n'étant pas nettes et les pics fébriles étant dus à une décharge de cytokine plus qu'à une variation de la concentration bactérienne (131) ; iii) la probabilité de non-respect du protocole de prélèvement augmente lorsqu'il est étalé sur 24 heures et partagé par différentes équipes exposant à un risque d'obtenir un train solitaire de l'ordre de 30 % (16) ; iv) le prélèvement multiple peut faire différer la mise en place d'une antibiothérapie empirique, dont le délai de mise en place est directement corrélé à la survie ; v) le prélèvement multiple est une contrainte pour le patient et pour le personnel infirmier. En conséquence, le prélèvement unique est à privilégier, puisqu'il minimise les risques de contamination et permet de collecter immédiatement le volume total de sang nécessaire, sans nécessiter de multiplier les interventions. Au CHU de Strasbourg, cette approche est privilégiée, notamment par le service des urgences.

Il est également intéressant de noter que la technique dite de « diversion », consistant à jeter les premiers millilitres de sang lors de la ponction pour éliminer le sang potentiellement contaminé, a montré une réduction significative du taux de contamination, diminuant ce dernier de 1,5 à 8 fois (132).

Concernant la réitération des prélèvements, ses indications sont clairement définies, afin d'éviter des prélèvements inutiles. Celles-ci comprennent (125) :

- Le suivi d'un épisode en cours, avec dernière hémoculture positive, en cas de bactériémie à *S. aureus*, afin de s'assurer de la négativation de celles-ci.
- La suspicion d'un nouvel épisode, nécessitant au moins 48 heures d'apyrexie entre 2 épisodes.
- La surveillance de l'efficacité d'un traitement d'une infection de cathéter (verrou d'antibiotiques).

Il n'est pas recommandé de réitérer les prélèvements lors d'un épisode en cours et que les hémocultures se sont négativées, sauf si on suspecte que l'infection n'est pas sous contrôle.

7.3. Acheminement du prélèvement

L'acheminement des hémocultures au laboratoire de microbiologie est un élément central dans la qualité du résultat. En effet, une stagnation prolongée des flacons d'hémocultures à température ambiante impacte négativement le temps de détection de la positivité et expose au risque de faux négatif (133). C'est d'ailleurs la principale cause de faux négatif (16,24). Si le délai avant insertion dans les automates d'incubation est trop long, les bactéries commencent à se développer et en cas de stagnation prolongée, leur phase stationnaire de croissance peut être déjà atteinte au moment du chargement. Dans de telles conditions, un flacon positif risque de ne pas être détecté par les algorithmes de l'instrument, car ces derniers reposent sur l'analyse de la phase exponentielle de la croissance bactérienne. C'est d'ailleurs aussi la raison pour laquelle il est recommandé de ne pas préincuber les flacons à 35 °C si l'insertion dans les automates devait être retardée (16). Certains micro-organismes sont particulièrement sensibles aux retards, notamment les pneumocoques, qui sécrètent une autolysine après un certain temps de croissance, provoquant des taux conséquents de faux négatifs dès 7 h de retard d'incubation (134). Chez *P. aeruginosa*, bactérie aérobie stricte, c'est la consommation préalable de l'O_2 contenu dans le flacon qui peut être un facteur limitant, exposant au risque de faux négatifs, notamment lorsque l'inoculum de départ est important (135,136).

Par conséquent, pour minimiser ces risques, il est crucial de diminuer au maximum les délais associés à l'acheminement des flacons au laboratoire et à leur chargement dans les automates. Le temps d'acheminement ne devrait en pratique jamais dépasser 12 heures (16,134,136,137).

7.4. Incubation

Une fois acheminés au laboratoire, les flacons d'hémocultures sont incubés dans des automates dédiés. Les systèmes se composent d'alvéoles individualisées où sont insérés les flacons. Ces derniers sont agités en permanence et maintenus à une température constante de 35 °C pendant cinq jours. La croissance bactérienne dans les flacons est surveillée à intervalle régulier, avec des méthodes qui varient selon le fabricant.

Actuellement il existe trois principaux fournisseurs (**Figure 14**) (126) :

- Les systèmes **BACT/ALERT® VIRTUO®** de bioMérieux et **BD BACTEC™ FX** de BD Diagnostics intègrent des détecteurs situés au fond du flacon qui réagissent à la production de CO_2 par les bactéries en croissance. L'appareil analyse la fluorescence émise par ces détecteurs, dont l'augmentation est proportionnelle à la production de CO_2.
- Le système **VersaTREK™** de TREK Diagnostic Systems est basé sur la détection des variations de pression dans l'espace de tête du flacon, et reflète la consommation et la production de gaz par les bactéries en croissance.

Figure 14 | Automates d'incubation d'hémocultures actuellement disponibles sur le marché.

Lorsqu'un flacon est détecté positif, il est marqué par un signal lumineux sur le tableau de bord de l'automate afin d'être pris en charge par les techniciens du laboratoire.

Il est important de noter que les méthodes manuelles d'incubation des hémocultures ne sont plus recommandées, en raison d'une efficacité et d'une précision bien inférieures à celles des systèmes automatisés.

7.5. Prise en charge des flacons positifs

Au CHU de Strasbourg, les flacons d'hémocultures sont réceptionnés, enregistrés et incubés en continu, 24 h/24, dans les automates BACTEC (**Figure 15**). En cas de positivité, ils sont également pris en charge sans interruption. Leur gestion est assurée par un personnel dédié en journée et polyvalent durant les heures de permanence des soins (de 18 h à 8 h). Sous poste de sécurité microbiologique de classe 2, une lame est préparée pour un examen microscopique direct par coloration de Gram et une subculture des flacons sur milieux gélosés est réalisée. Le résultat de l'examen microscopique direct conditionne le choix des milieux d'isolement appropriés ; de plus, ce résultat oriente le traitement probabiliste grâce à une communication téléphonique rapide aux cliniciens, réalisée 24 h/24 par les internes.
L'identification bactérienne, désormais classiquement réalisée par spectrométrie de masse, est habituellement effectuée à partir d'une colonie pure, isolée en milieu gélosé. Cependant, des méthodes permettant une identification rapide directement à partir des flacons d'hémoculture positifs ou de subcultures précoces sont désormais couramment utilisées (132). Avec ces méthodes « rapides », les résultats peuvent être obtenus à J0 de la positivité du flacon, alors qu'elle ne peut être obtenue au mieux qu'à J1 lorsqu'elle est réalisée à partir d'une subculture standard.

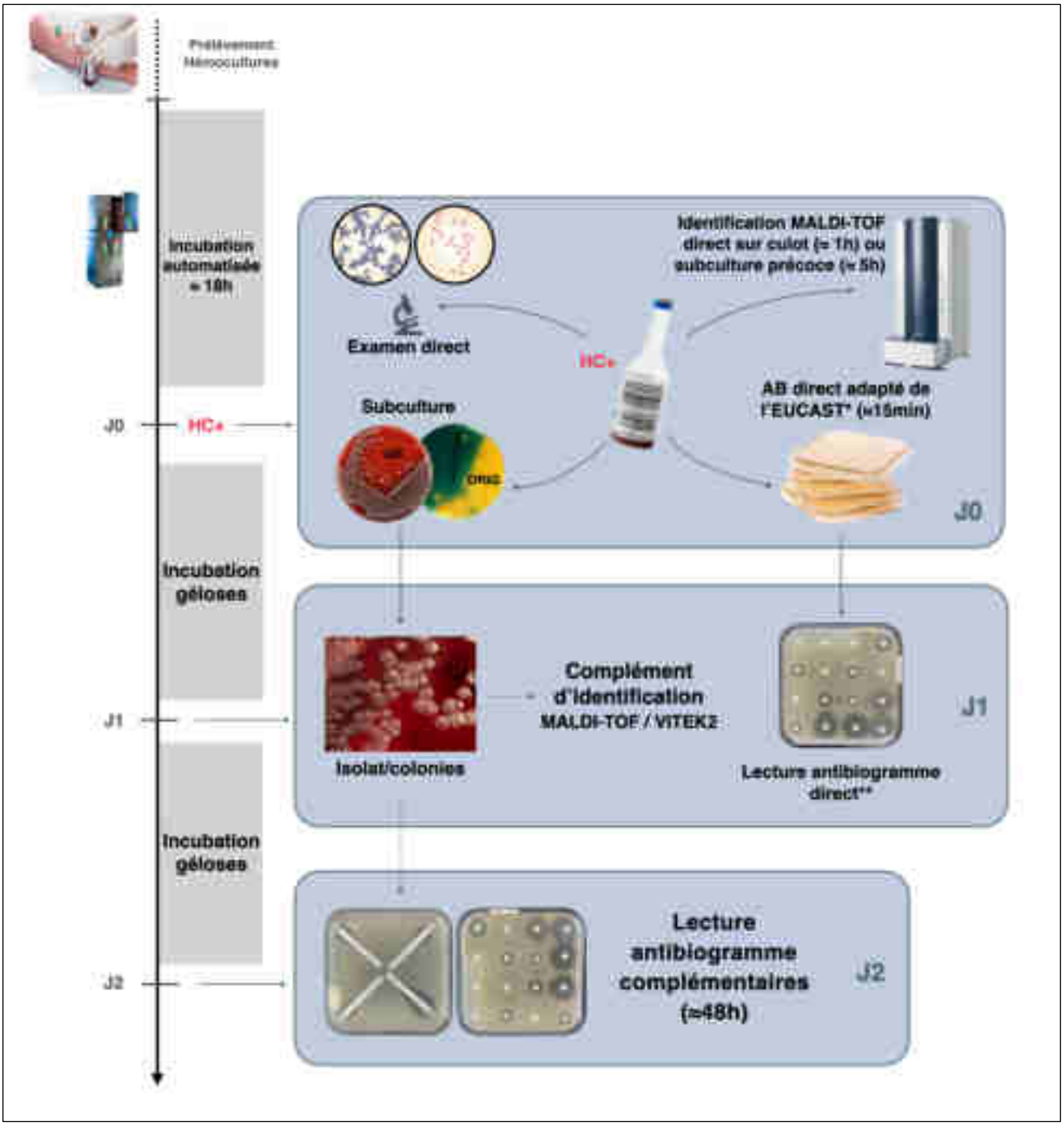


Figure 15 | Flux de travail des hémocultures au CHU de Strasbourg. AB : Antibiogramme; HC+ : Hémoculture positive; GS : Gélose au sang; DRIG : Gélose Drigalski; *voir protocole adapté partie «II.1 inoculum direct à partir de flacon d'hémoculture». **Lecture des diamètres selon le référentiel CASFM.

Au laboratoire du CHU de Strasbourg, pour les flacons s'étant positivés le matin, l'identification est réalisée en début d'après-midi sur une subculture « précoce ». Ensuite, pour les flacons suivants de la journée, la méthode d'identification rapide directe à partir du flacon est préférée (**Figure 15**). En cas d'échec ou en présence d'une bactériémie polymicrobienne (pour rappel, environ 6 % des cas (37)), l'identification est alors effectuée à partir des subcultures « classiques » dont la lecture est effectuée à J1 de la positivité du flacon.

Concernant l'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques, le CA-SFM préconise l'utilisation des techniques de microdilution en milieu liquide ou de diffusion en milieu gélosé. L'inoculum bactérien est préparé « à partir d'une culture visible » : on réalise « une suspension bactérienne en solution salée » devant « atteindre une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme McFarland » (CA-SFM 2024). Habituellement, c'est une culture pure obtenue d'un réisolement qui est utilisée comme point de départ pour l'ensemencement de la méthode d'antibiogramme. Néanmoins, depuis sa version 2018, le CA-SFM propose la possibilité de réaliser l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé directement à partir du flacon positif. Cependant, si l'hémoculture est polymicrobienne, il est alors nécessaire d'attendre une subculture pour procéder à la réalisation de l'antibiogramme.

Les antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé sont réalisés sur géloses Mueller-Hinton, additionnées en fonction de la nature de la bactérie de 5 % de sang de cheval. Une fois les géloses inoculées, des disques ou bandelettes d'antibiotiques sont déposés à la surface des géloses (**Figure 16**).

Figure 16 | Exemple d'antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé réalisés à l'aide de bandelettes à gradient de concentration et de disques (Photo : laboratoire de bactériologie, CHU de Strasbourg).

Les géloses sont ensuite incubées pendant 16 à 24 h à 35 ± 2 °C, et l'atmosphère d'incubation est également ajustée en fonction du genre bactérien testé (aérobiose, 5 % de CO_2, microaérophilie, anaérobiose). Les diamètres des zones d'inhibition (libres de toute croissance bactérienne autour des disques d'antibiotiques pour lesquels la bactérie présente une sensibilité) sont mesurés, et comparés avec des diamètres dits « critiques ». La mesure permet ainsi de déterminer pour chaque antibiotique testé sa catégorisation clinique : sensible à posologie standard, sensible à forte posologie, ou résistant.

La technique par diffusion en milieu gélosé permet également d'estimer une concentration minimale inhibitrice (CMI). Pour rappel, la CMI correspond à la plus faible concentration d'un antibiotique nécessaire pour inhiber la croissance visible d'une bactérie, après une période d'incubation spécifique). Pour ce faire, des bandelettes imprégnées d'un gradient d'antibiotique sont déposées sur la gélose, et la CMI est lue au niveau du point d'intersection entre l'ellipse d'inhibition et la bandelette.

Les antibiogrammes sont lus et interprétés par les microbiologistes pendant les horaires d'ouverture du laboratoire (8 h - 18 h) en semaine et en astreinte les matinées des samedis, dimanches et jours fériés.
Le biologiste doit fournir au service les résultats de l'examen direct, de l'identification du micro-organisme et de l'antibiogramme avec le profil de résistance de la bactérie isolée. L'ensemble du dossier rendu doit être cohérent et contenir les molécules les plus pertinentes pour l'adaptation de l'antibiothérapie. L'interprétation globale du dossier est nécessaire et repose notamment sur le nombre de flacons positifs, le type de bactérie identifiée, la localisation du prélèvement, la présence de la même bactérie sur un autre site infectieux, afin de différencier les potentielles contaminations des vraies bactériémies.

8. Où gagner du temps ?

L'étude exhaustive réalisée par Brigitte Lamy et ses collègues en 2016 sur les pratiques des hémocultures pour le diagnostic des bactériémies met en lumière les étapes préanalytiques critiques (transport, réception, mise en incubation) dont il est possible de raccourcir les délais (16). En France, la version 2022 du REMIC donne des indications permettant de réduire les délais de rendu des résultats ; par ailleurs, la rédaction de recommandations élaborées sous l'égide du groupe d'étude des bactériémies de l'ESCMID (European society of clinical microbiology and infectious diseases) est en cours. Ces nouvelles directives, attendues pour 2025, visent à standardiser et optimiser les pratiques en Europe. La revue actualisée en 2020 de Lamy et al. (132), permet de préciser les grands axes d'amélioration autour des hémocultures selon un raisonnement par compartiment : i) l'amélioration de la qualité de l'échantillon ; ii) la réduction des délais pré et post-analytique ; iii) la réduction des délais analytiques.

8.1. Amélioration de la qualité de l'échantillon

- Réduire la contamination des hémocultures : l'objectif est de diminuer les faux positifs en maintenant un taux de contamination inférieur à 1 %. Il est rappelé la nécessité d'une désinfection soigneuse de la peau et de l'opercule des flacons. L'adoption de la technique dite de « diversion » et l'utilisation de la méthode de prélèvement unique contribuent également à minimiser la contamination.
- Augmenter le volume de sang prélevé : un volume adéquat de sang est crucial pour la fiabilité des résultats. Cela implique une formation approfondie du personnel préleveur, favorisant notamment l'adoption de la méthode de prélèvement unique. De plus, le suivi des indicateurs de performance ainsi que l'implémentation de contrôles de qualité externes sont essentiels pour garantir l'efficacité de la procédure. L'introduction d'incubateurs automatisés équipés de fonctions (directes ou indirectes) de suivi du volume dans les flacons peut également aider à optimiser cette étape.

8.2. Réduction des délais pré et post-analytiques = amélioration de la « microbiologistique »

- Opération continue du laboratoire : la situation optimale est celle d'une prise en charge 24 h/24 et 7 j/7 des flacons d'hémoculture (incubation, traitement des positifs), mais l'organisation n'est pertinente que si le système de transport en place permet d'acheminer les échantillons dans les plus brefs délais.
- Délocalisation des automates d'incubation : en l'absence d'une possibilité de prise en charge en continu des flacons par le laboratoire, des établissements peuvent opter pour la mise en place d'automates délocalisés, permettant de minimiser les délais avant incubation.
- Optimisation du transport des échantillons : le transport des flacons au laboratoire doit être optimal. L'utilisation d'un système de transport pneumatique peut être idéale pour accélérer le transfert des échantillons tout en minimisant les interventions manuelles.
- Incubation rapide des flacons : une mise en incubation la plus rapide possible des flacons permet non seulement de raccourcir les délais de réponse, mais favorise également la croissance des bactéries, limitant ainsi le risque de faux négatifs.

Les étapes mentionnées ci-dessus correspondent à la phase « préanalytique » : une situation idéale devrait permettre de réduire les délais préanalytiques **à moins de 2 heures** (24), mais les difficultés organisationnelles permettent rarement de tenir ces délais, en particulier dans des structures multisites.

- Au niveau post-analytique : l'informatisation des dossiers doit permettre un affichage clair des résultats, y compris ceux relatifs à la sensibilité aux antibiotiques, et la communication téléphonique des résultats par le laboratoire est essentielle, en particulier pour les nouveaux cas.

8.3. Amélioration de la phase analytique = réduction des délais analytiques

Outre la période d'incubation des flacons, la phase analytique implique ensuite l'identification bactérienne et la réalisation des tests de sensibilité aux antibiotiques.

Pour l'identification bactérienne, diverses approches d'amélioration sont envisageables :

- Techniques de biologie moléculaire : ces méthodes, qui détectent l'ADN bactérien directement dans le sang total, offrent un avantage significatif en termes de rapidité par rapport aux cultures bactériennes traditionnelles. Toutefois, elles ne peuvent pas remplacer les hémocultures pour l'instant, car il reste essentiel d'isoler la souche bactérienne pour réaliser l'antibiogramme. Ces techniques requièrent un personnel qualifié et dédié, avec une charge de travail conséquente et des coûts substantiels. De plus, les panels de micro-organismes détectables sont souvent limités et la

pertinence clinique de l'identification de l'ADN bactérien circulant dans le sang peut être sujette à interprétation.

- Technique de spectrométrie de masse sur subculture précoce.
- Spectrométrie de masse directe sur flacon positif : l'utilisation d'un culot bactérien obtenu directement à partir d'un flacon d'hémoculture positif peut accélérer significativement l'identification sans attendre la croissance en subculture.
- Technique de biologie moléculaire directe sur flacon positif ou sur subculture.

<u>Concernant les tests de sensibilité aux antibiotiques :</u>

L'amélioration principale recherchée est la réduction du délai pour obtenir les résultats de l'antibiogramme. De nouvelles méthodes, tant phénotypiques que génotypiques, ont été développées ces dernières années et sont désormais disponibles sur le marché. Toutefois, le développement rapide de ces technologies pose un défi pour l'établissement d'un nouveau standard dans le diagnostic des bactériémies.

Le **Figure 17** résume les différentes voies d'amélioration du processus des hémocultures.

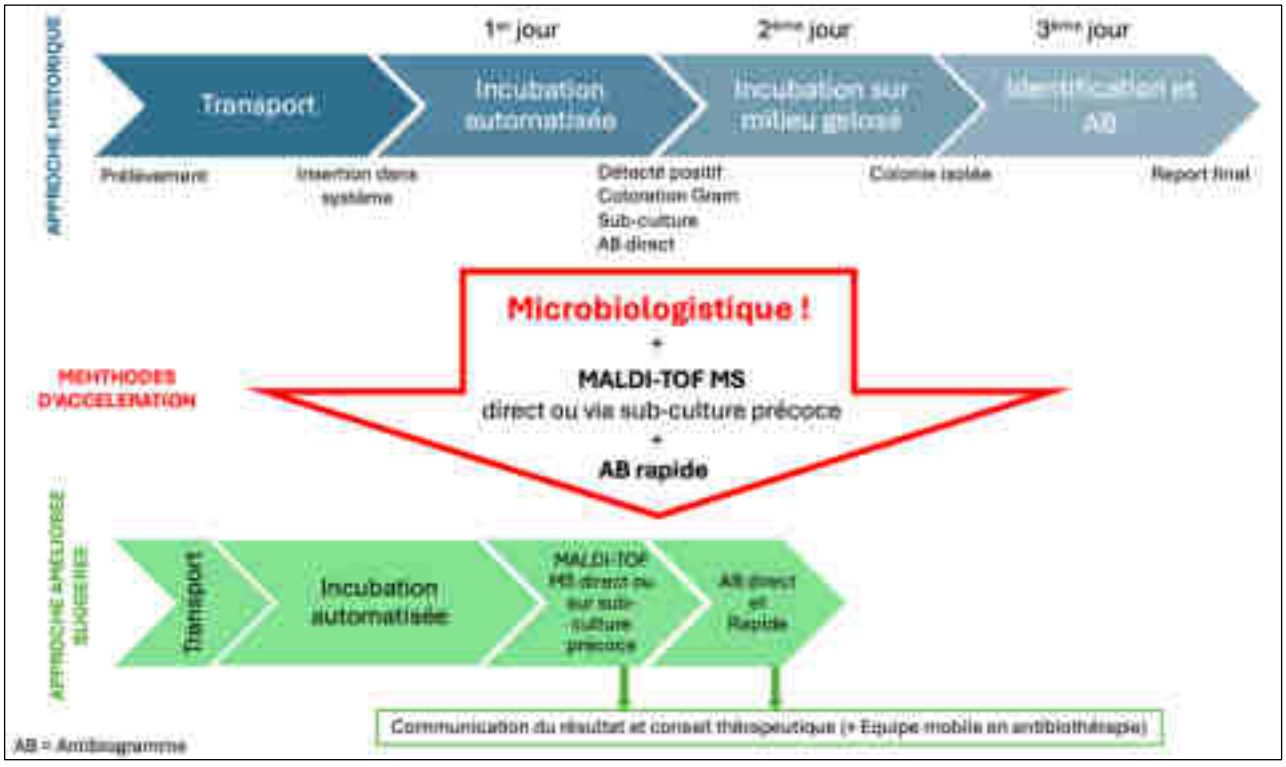


Figure 17 | Synthèse des voies d'amélioration du processus des hémocultures, de Lamy et al., (132).

L'objectif de ce travail de thèse est de **fournir une large revue des méthodes « rapides » permettant de réaliser un antibiogramme à partir d'un flacon positif d'hémoculture**. Cette revue vise à évaluer et clarifier les avantages et les inconvénients de ces technologies utilisables pour le diagnostic et le traitement des infections bactériennes.

II. REVUE DES METHODES DIRECTES A PARTIR DE FLACON D'HEMOCULTURE POSITIF

La spectrométrie de masse a permis de réduire considérablement les délais de rendu des résultats d'identification bactérienne, mais les délais qui concernent la détermination de la sensibilité aux antibiotiques sont encore longs, mettant en lumière la nécessité de nouvelles approches. Les nouvelles méthodes se heurtent à la nécessité d'une **biomasse bactérienne suffisante** et au **temps d'incubation** nécessaire pour obtenir les résultats. Les approches qui visent à réduire la densité de l'inoculum bactérien nécessaire sont rares, et les nouvelles méthodes développées ces dernières années se basent essentiellement sur **l'utilisation directe du contenu du flacon d'hémoculture**, sans attendre de subculture sur milieu gélosé (138,139). L'utilisation directe du flacon d'hémoculture positif élimine *de facto* le temps de subculture et permet de gagner jusqu'à 24 heures sur le délai total de rendu du résultat.

1. Inoculum direct à partir de flacon d'hémoculture

1.1. Maîtrise de l'inoculum

Un élément clé de cette approche est la **maîtrise de l'inoculum**. Les méthodes conventionnelles exigent une concentration bactérienne précise pour garantir des résultats répétables et reproductibles. L'objectif est d'atteindre une concentration équivalente à un inoculum standardisé à 0,5 McFarland (soit 1,5 à 2 × 10^8 UFC/mL). Cependant, la détection de la croissance bactérienne dans les automates d'hémocultures, basée sur la libération de CO_2, ne permet pas de déterminer précisément cette concentration. De plus, il est impossible d'évaluer la concentration bactérienne directement par turbidimétrie en raison de la composition complexe du contenu de l'hémoculture (hématies, hémoglobine, leucocytes, résines, etc.).

La standardisation de l'inoculum à partir d'un flacon d'hémoculture positif est difficile : les concentrations bactériennes dans les flacons positifs sont très variables en fonction des algorithmes de détection utilisés par les systèmes d'hémoculture, mais aussi et surtout en fonction des caractéristiques intrinsèques des différents types de bactéries.

Une étude du CLSI (Clinical and laboratory standards institute) indique que la concentration bactérienne dans un flacon positif peut varier de plus de 3 logs selon le fournisseur : les flacons BacT/Alert sont positifs à une concentration environ 0,25 log plus élevée (1,15 x 10^9 UFC/mL) que celles des systèmes BACTEC et VersaTREK (6,9 × 10^8 et 7,3 × 10^8 UFC/mL, respectivement). Cette concentration est nettement plus élevée que la cible de 0,5 McF (soit environ 1,5 × 10^8 UFC/mL) classiquement utilisée

pour préparer les antibiogrammes (140). D'autres études confirment cette variabilité, obtenant des concentrations allant de 10^7 à 10^9 UFC/mL (18,28,32,141) (**Figure 18**).

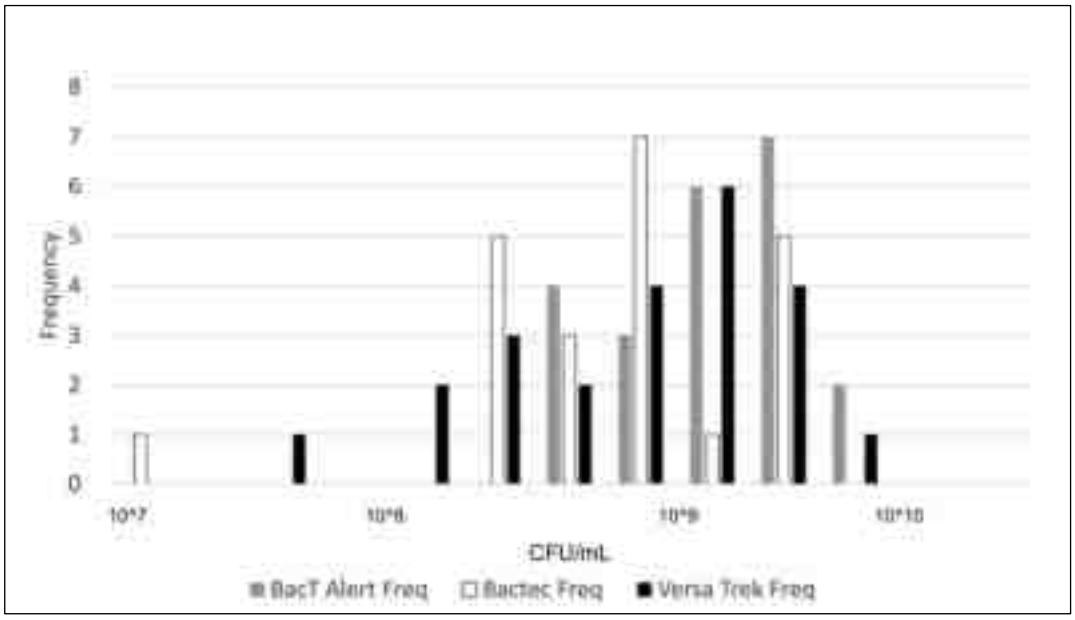


Figure 18 | Répartition de la concentration bactérienne (UFC/mL) dans un panel de flacons positifs selon le type de fournisseurs (140).

Une fois que les flacons ont été détectés positifs, la croissance bactérienne atteint un plateau et l'inoculum bactérien reste alors relativement stable au fil du temps, que le flacon soit sorti d'incubation ou non (142,143). La concentration moyenne à la positivité est par ailleurs relativement similaire pour les souches appartenant à un même « groupe » de bactéries (entérobactéries, BGN-NF, CGP) (**Figure 19**) (143,144).

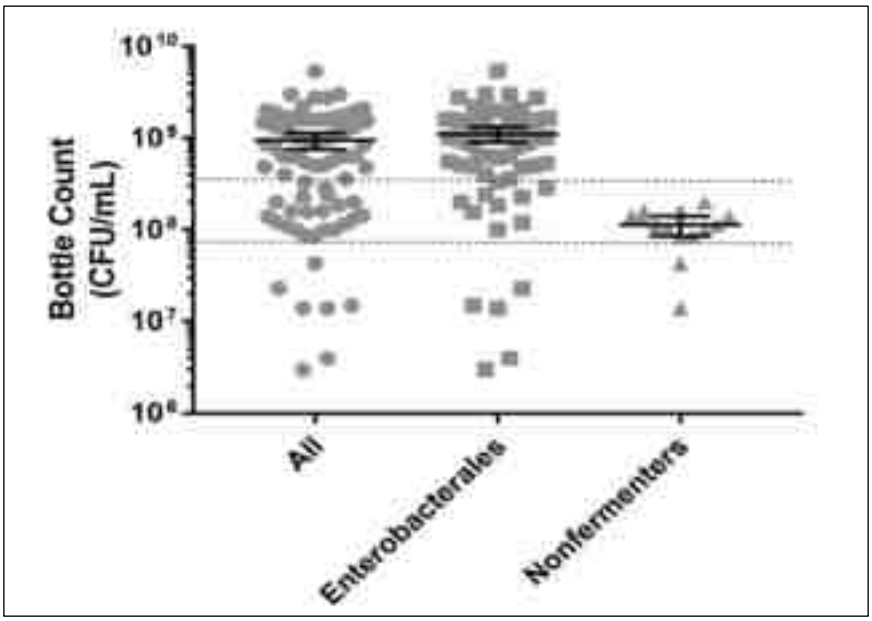


Figure 19 | Distribution de la concentration bactérienne dans des flacons d'hémoculture positifs (BacT/Alert FA Plus et SN) chez des entérobactéries et BGN non fermentaires (144).

Malgré la variabilité de l'inoculum, les études montrent généralement un haut degré d'accord entre les antibiogrammes réalisés de manière directe à partir des flacons positifs et les méthodes de référence (28). En fonction du type bactérien considéré, des dilutions réalisées à partir des flacons positifs permettent d'obtenir un inoculum relativement standardisé. Toutefois, la variabilité individuelle des concentrations entre les différents flacons peut être à l'origine d'une croissance suboptimale, compromettant ainsi la précision des tests de sensibilité.

1.2. Méthodes directes

Il existe actuellement plusieurs stratégies d'inoculum direct à partir d'un flacon d'hémoculture positif : l'utilisation **directe du contenu du flacon (avec ou sans dilution)**, **l'extraction des bactéries sous forme d'un culot, ou l'utilisation de méthode automatisées (Figure 20)**.

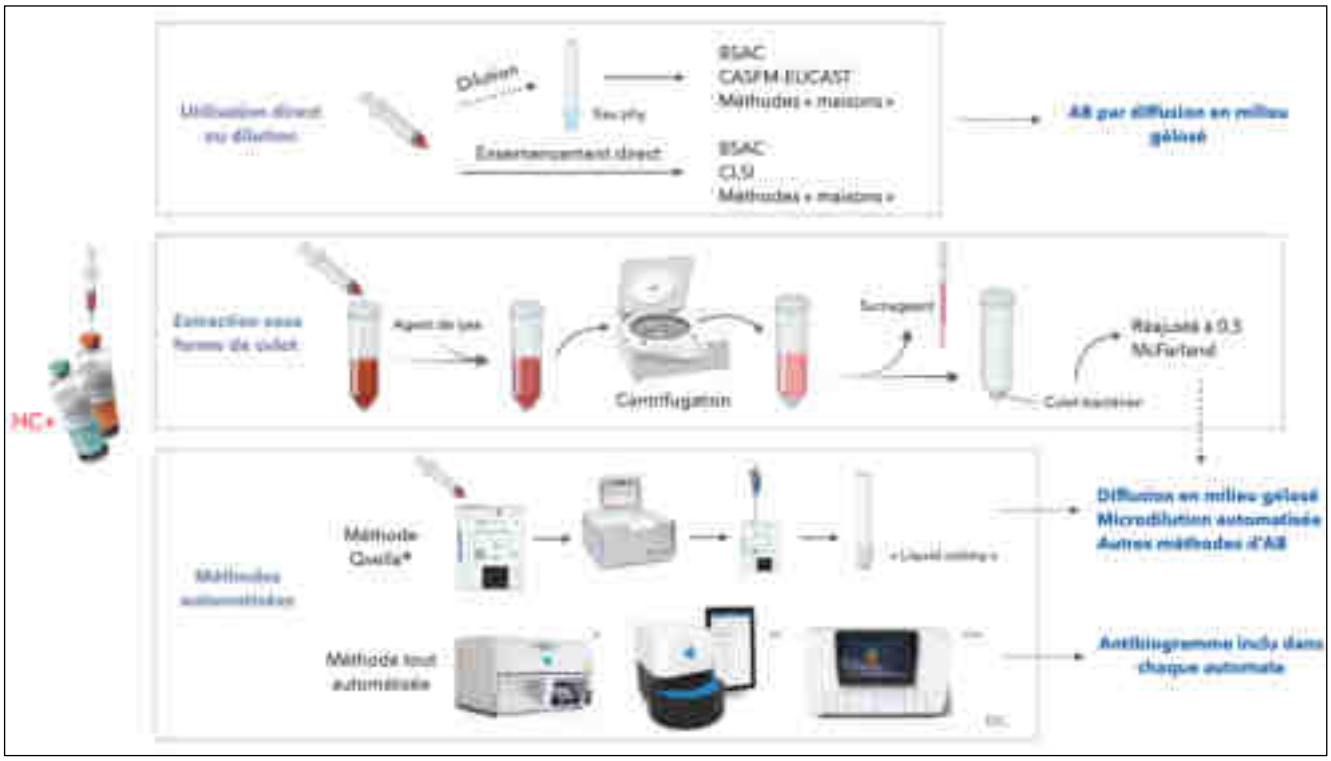


Figure 20 | Méthodes de préparation de l'inoculum à partir d'un flacon d'hémoculture positif (Réalisée avec Biorender). AB : Antibiogramme; HC+ : Hémoculture positive

1.2.1. Utilisation directe ou dilution

Concernant les méthodes par **dilution ou utilisation directe du contenu du flacon**, il convient de noter qu'avant 2013 et l'introduction de la méthode proposée par le BSAC (British society for antimicrobial chemotherapy), aucune recommandation « officielle » n'existait pour la réalisation directe d'antibiogrammes à partir de flacons positifs, bien que cette pratique soit décrite et utilisée en routine depuis longtemps (145–148) : plusieurs types de dilutions différentes (allant du 1/5^{e} au 1/100^{e}) étaient alors utilisées, adaptées ou non selon l'examen direct à la coloration de Gram (BGN, CGP en amas ou

chainettes). À l'heure actuelle, des recommandations sont établies [BSAC (149), CA-SFM/EUCAST (150)], et l'inoculum à utiliser est nettement mieux décrit (**Tableau 4**, disponible en fin de section). Ces méthodes sont toutes destinées à l'ensemencement d'antibiogrammes en milieu gélosé pour une incubation standard de 16 à 24 heures. En France, depuis 2018, le CA-SFM recommande l'ensemencement direct à partir de flacons d'hémocultures (150).

L'ensemencement **direct** du contenu de l'hémoculture n'est pas compatible avec les techniques automatisées en microdilution sans un prétraitement visant à éliminer les cellules sanguines (de l'ordre de 10^9 hématies et 10^6 leucocytes pour 1 mL de sang) ou leurs débris, les résines absorbantes, etc. En effet, ces méthodes reposent sur une détection de la croissance bactérienne par mesure turbidimétrique ou néphélémétrique de micropuits. Par conséquent, la solution inoculée doit être exempte de composés susceptibles de fausser ces analyses. Ainsi, une adaptation de ces méthodes n'est envisageable qu'avec un prétraitement, nécessitant au minimum une dilution du contenu du flacon (souvent peu suffisante) ou l'obtention d'un culot bactérien. Les performances de ces techniques d'antibiogramme réalisables directement à partir de l'hémoculture sont discutées leurs sections du manuscrit (151).

1.2.2. Extraction sous forme d'un culot

Pour les méthodes reposant **sur l'obtention d'un culot**, plusieurs protocoles « maison » ont été décrits dans la littérature. L'utilisation d'un tube à gel séparateur (25,26,142,151–157), d'agents lysant les hématies telles que la saponine, le sodium dodecyl sulfate (SDS) ou le chlorure d'ammonium (méthode du kit Sepsityper®) (154,158–162), ainsi que des méthodes impliquant des centrifugations uniques ou successives (151,163–166).

Trois principaux kits commerciaux actuellement disponibles permettent d'obtenir un culot : le kit **Sepsityper®** (Bruker Daltonics), le kit **Vitek MS blood culture** (bioMérieux) et le kit **rapid BACpro® II** (Nittobo Medical). Aujourd'hui, le kit le plus largement utilisé est le Sepsityper®. Il est basé sur une lyse des hématies, puis un lavage du culot préalablement obtenu par centrifugation. Ce culot peut être utilisé directement pour l'identification par spectrométrie de masse et pour reconstituer une suspension ajustée à 0,5 McFarland, destinée à l'inoculation d'une méthode d'antibiogramme (**Figure 20** et **Tableau 4**).

1.2.3. Méthodes automatisées

Certaines **méthodes entièrement automatisées d'antibiogramme,** comme ASTar™, Alfred60^{AST}, AcceleratePheno™, ou encore QMAC-dRAST™, peuvent comprendre une phase de préparation de l'inoculum sans intervention humaine nécessaire, directement à partir du contenu du flacon positif. Celle-ci permet de pallier la grande variabilité des concentrations bactériennes observables dans un

flacon positif. L'inoculum est généralement préparé par séparation des composés sanguins et des bactéries selon diverses techniques (lyse, électrophorèse, etc.) : une fois purifié, l'inoculum est ajusté par turbidimétrie pour réalisation de l'antibiogramme (**Figure 20**).

Par ailleurs, la société Qvella® propose une technique automatisée dédiée à la préparation d'une suspension bactérienne purifiée à partir d'hémoculture, appelée FAST system (**Figure 20** et **Tableau 4**). Cette suspension peut ensuite être librement employée pour d'autres applications, notamment l'identification bactérienne, la réalisation d'une subculture ou l'ensemencement d'une méthode d'antibiogramme.

Le tableau ci-dessous résume les caractéristiques techniques des différentes méthodes décrites :

Tableau 4 | Protocoles de préparation de l'inoculum à partir de flacons d'hémocultures positifs (hors méthodes entièrement automatisées, dont le principe est détaillé dans des chapitres dédiés).

Protocole	Principe	Organisme(s) concerné(s)	Dilution	Milieu de dilution	Pour quelle technique d'AB?	Commentaire
BSAC 2013	Dilution	BGN	1/100e	Eau stérile	DMG	
		Staphylocoques Entérocoques	1/30e			
	Ensemencement direct	Pneumocoque Streptocoques viridans Diphtérimorphes	une goutte d'hémoculture			
CA-SFM/EUCAST 2018	**Dilution**	**BGN**	**1/50e**	**NaCl 0,9 %**	**DMG**	**Standard actuel en France**
		Staphylocoques				
		Entérocoques	**1/5e**			
Pratique locale CHU Strasbourg	Dilution	BGN CGP amas et chainettes	1/5e	NaCl 0,9 %	DMG	Adapté à partir du CA-SFM/EUCAST
MALDI Sepsityper® *ou équivalent (méthode maison)*	Obtention d'un culot bactérien : ± lyse ± centrifugation ± lavage	Toute hémoculture positive (y compris anaérobies et levures)	Reprise du culot dans un bouillon/eau physiologique à ajuster à 0,5 McF		DMG (159) BD Phoenix (152,158,160,163) MicroScan (161) Vitek 2 (159,163,167)	Développé pour l'identification rapide Sepsityper® : base de données spécifique
FAST system (Qvella®)	Lyse des composés sanguins et séparation des bactéries avec cycles de lavages	Quel que soit le micro-organisme	2 mL d'hémoculture → 80 à 100 µL de suspension bactérienne Cartouche à usage unique		DMG (168) Vitek 2 (169) BD Phoenix (170) MicroScan (168)	Automatisé Suspension ajustable à 0,5 McF

AB : Antibiogramme; DMG : Diffusion en milieu gélosé; NaCl : Chlorure de Sodium; → : extraction

Ces différentes méthodes permettent de gagner 24 heures en se passant de l'étape de subculture. Cependant, **sans nouvelles approches**, le délai reste limité par le temps nécessaire à la croissance bactérienne de « l'antibiogramme classique » (16 à 24 h), ce qui signifie que le résultat ne peut être disponible qu'à J+1 de la positivité du flacon (**Annexe 1**).

2. Méthode de comparaison de techniques d'antibiogrammes

L'évaluation d'une méthode testant la sensibilité aux antibiotiques d'une souche bactérienne est décrite par différentes normes. La stratégie générale consiste en la comparaison des résultats de catégorisations cliniques (S, SFP ou I, R)[2] de la nouvelle méthode avec la méthode de référence.

L'interprétation de ces résultats se base principalement sur le niveau d'accord ou de discordance de catégorisation entre les deux techniques :

- Un **accord de catégorisation (**CA**)** est défini par une catégorisation clinique identique entre les deux méthodes comparée, qu'elle soit S, SFP ou R.
- Une **discordance très majeure** (Very Major Error = VME) est définie par la catégorisation sensible (S) d'une souche par la méthode testée, alors que la méthode de référence catégorise cette même souche comme résistante (R).
- Une **discordance majeure** (Major Error = ME) est définie par la catégorisation résistante (R) d'une souche par la méthode testée, alors que la méthode de référence la catégorise sensible (S).
- Une **discordance mineure** (minor Error = mE) est définie par la catégorisation intermédiaire (I) (ou sensible à forte posologie « SFP ») d'une souche (si celle si existe) par la méthode à l'essai, alors qu'elle est S ou R par la méthode de référence. Et inversement ; souche catégorisée S ou R par méthode à l'essai et catégorisée I ou SFP par la méthode de référence.

L'appréciation de la « nouvelle technique » est donnée par le taux d'accord de catégorisation, d'accord de valeurs de CMI et par le taux de discordances :

- Taux d'accord de catégorisation ou Categorical Agreement (CA) =

$$\frac{Nb\ de\ souche\ avec\ même\ catégorisaiton\ clinique\ (S,I,R)\ que\ la\ méthode\ de\ référence}{\boldsymbol{nombre\ total\ de\ souche\ testées}}$$

- Taux d'accord essentiel ou Essential Agreement (EA) =

$$\frac{Nb\ de\ souche\ avec\ même\ CMI\ que\ la\ méthode\ de\ référence\ (+/-dilution\ de\ raison\ 2)}{\boldsymbol{nombre\ total\ de\ souche\ testées}}$$

- Taux de VME =

$$\frac{Nb\ de\ souche\ catégorisée\ S\ avec\ la\ méthode\ évaluée\ et\ R\ avec\ la\ méthode\ de\ référence}{\boldsymbol{nombre\ de\ souche\ R\ avec\ la\ méthode\ de\ référence}}$$

- Taux de ME =

$$\frac{Nb\ de\ souche\ catégorisée\ \boldsymbol{R}\ avec\ la\ méthode\ évaluée\ et\ \boldsymbol{S}\ avec\ la\ méthode\ de\ référence}{\boldsymbol{nombre\ de\ souche\ S\ avec\ la\ méthode\ de\ référence}}$$

- Taux de mE =

$$\frac{Nb\ de\ souche\ catégorisée\ \boldsymbol{I}\ avec\ la\ méthode\ évaluée\ et\ \boldsymbol{S}\ ou\ \boldsymbol{R}\ avec\ la\ méthode\ de\ référence}{\boldsymbol{nombre\ total\ de\ souche\ testées}}$$

[2] S : Sensible ; SFP : Sensible à forte posologie ; I : Intermédiaire (ancienne catégorie SFP) ; R : Résistant

Selon la norme, les valeurs de ces taux pour considérer une méthode comme valide par rapport à une référence peuvent varier :

- **Norme FDA** (171) : EA et CA ≥ 90 % ; ME ≤ 3 % ; VME ≤ 1,5 % ; mE <10 % ; échec de pousse < 10 % par genre ou espèces testées.
- **Norme ISO 20776-1** : EA et CA ≥ 90 % ; VME ≤ 3 % ; ME ≤ 5 %.
- **Jorgensen, 1993** (172) : CA > 90 ; VME ≤ 3 % et combinaison de ME et mE ≤ 7 %.

Il faut noter que la version 2 de la norme ISO 20776 ne prend plus en compte l'évaluation de l'accord de catégorisation (https://www.iso.org/fr/standard/79377.html). L'analyse du CA et des différents taux d'erreur de catégorisation (mE, ME et VME) y est remplacée par une analyse de biais entre la méthode à évaluer et la méthode de référence. Cependant, la littérature actuellement disponible pour la majorité des tests ne permet pas de s'appuyer sur des données de ce type. Ainsi, l'analyse des techniques discutées plus loin dans le manuscrit s'appuiera sur les normes FDA ou ISO 20776-1. Selon les années et provenances des différentes études présentées dans ce manuscrit, l'utilisation de ces normes peut varier, bien qu'elles soient relativement similaires, notamment sur les CA.

Par ailleurs, afin d'évaluer de manière exhaustive une méthode d'antibiogramme, la FDA recommande de concevoir une étude comparative rigoureuse avec une méthode de référence standard dont les performances ont été validées. L'étude doit inclure une sélection d'isolats cliniques, et selon le besoin de souches et d'organismes « défi » de profils de résistance connus, cliniquement pertinents et adaptés à la population cible de la méthode. Le but de cette sélection est de concevoir une population représentative de celle pour laquelle la méthode sera utilisée en pratique, tout en évaluant la capacité à détecter des résistances. Idéalement, une population composée d'autant d'organismes résistants que sensibles serait nécessaire, mais cette condition est difficilement atteignable avec une sélection d'isolats cliniques prospective. D'où les recommandations d'inclusion de souches « défi ».

Pour l'analyse des différentes méthodes décrites dans cette revue, l'accent est mis sur les résultats de catégorisation (CA) et sur les discordances (VME et ME), car ces paramètres déterminent leur efficacité en microbiologie clinique et influencent le choix du traitement. Les VME sont particulièrement préoccupantes, car elles peuvent orienter à tort le traitement vers une molécule résistante, avec des conséquences cliniques potentiellement graves. Ainsi, il est donc très important d'identifier pour une technique donnée les molécules fréquemment associées aux VME. Les ME, bien que moins graves pour le patient, peuvent limiter l'accès à une molécule de spectre plus restreint, impactant ainsi l'écologie des résistances bactériennes.

3. Techniques rapides phénotypiques

3.1. Principe

Ces techniques disposent du marquage CE-IVD. Il en existe deux types principaux, basés sur la mise en évidence d'enzymes de résistance exprimées chez les bactéries :

- Les tests **immunochromatographiques (ICT)**, dont la détection repose sur une réaction immunologique de type antigène-anticorps (**Figure 21**).
- Les tests **colorimétriques**, de deux types :
    - changement de coloration pH-induite (virage d'un indicateur coloré) d'un milieu suite à l'hydrolyse de l'antibiotique par l'enzyme recherchée (**Figure 21**) ;
    - transformation d'une β-lactamine chromogène par l'enzyme recherchée.

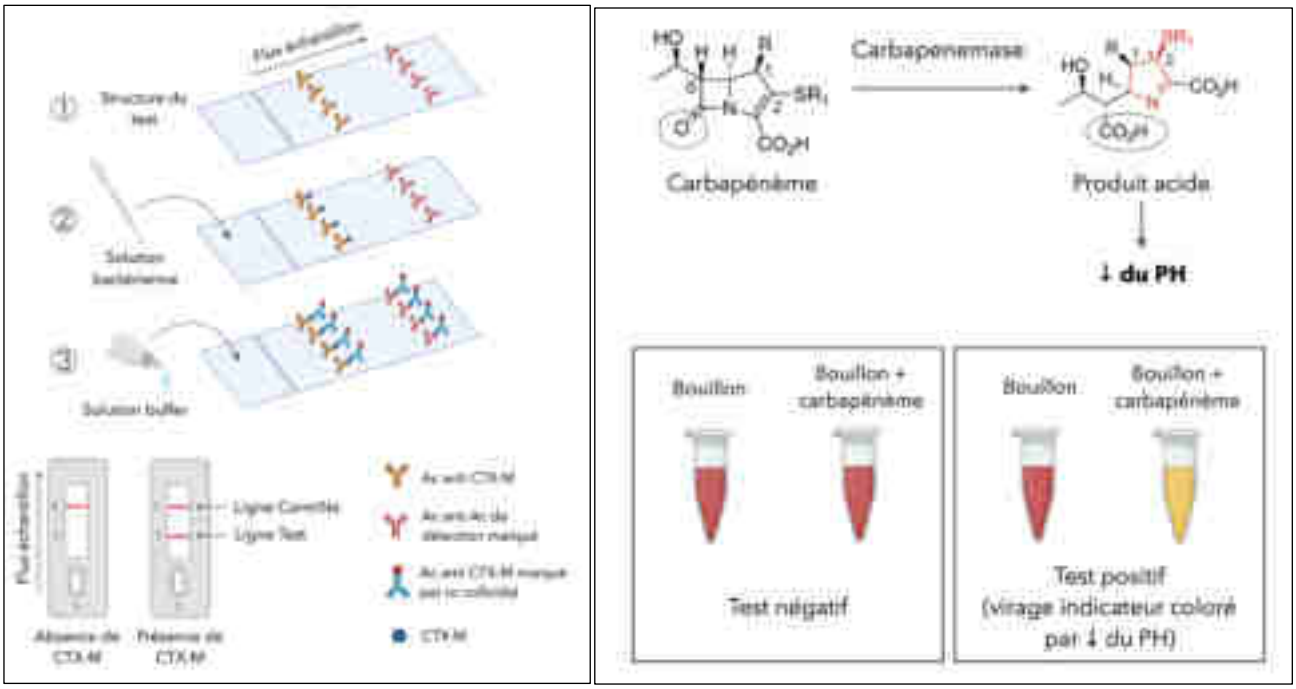


Figure 21 | Fonctionnement d'un ICT (*NG CTX-M* **à gauche)** et d'un test colorimétrique *(β-carba test NP* **à droite**) (Réalisée avec Biorender). Ac : Anticorps; ↓ : Diminution

Ces techniques sont pour la plupart initialement conçues pour identifier l'enzyme responsable d'une résistance constatée ou suspectée sur un antibiogramme phénotypique « classique », réalisé à partir de colonies isolées. Le **Tableau 5** résume les caractéristiques générales de ces tests. Cependant, il est légitime de s'interroger sur leurs performances lorsqu'elles sont appliquées à des hémocultures et par conséquent, la question de leur utilisation comme outil d'orientation thérapeutique se pose également.

Tableau 5 | Résumé des caractéristiques des différents tests phénotypiques rapides disponibles sur le marché.

Nom du test	Cibles/principe	Bactéries	Performances analytiques		Sur HC+	Délai rendu	Avantages	Limites	Ref.
Test ICT									
NG-Test® CTX-M MULTI *NG Biotech*	CTX-M Groupes 1, 2, 8, 9 et 25	EB	Se = 100 % Sp = 100 %	VPP = 100 % VPN = 100 %	Oui	15 min	Performances excellentes sur HC+ Adapté aux groupes de CTX-M de l'épidémiologie française (173)	Ne détecte que BLSE de type CTX-M	(174–178)
RESIST CTX-M *CORIS BioConcept*	CTX-M groupes 1 et 9	EB	Se = 100 % Sp = 100 %	VPP = 100 % VPN = 100 %	Oui	5-10 min	Adapté à l'épidémiologie française des BLSE	Ne détecte que BLSE de type CTX-M Moins de cibles que concurrents	DF
RESIST-5 O.K.N.V.I *CORIS BioConcept*	Carbapénémases de types : OXA-48 like ; KPC; NDM; VIM ; IMP	BGN	Se > 98 % Sp = 100 %	VPP = 100% VPN > 99 %	Oui	5-10 min	Performances excellentes	En 2 cassettes : VIM IMP et OXA KPC NDM [moins bon sur HC+ que concurrents (179)]	(179–182)
NG-Test® CARBA 5 *NG Biotech*	Carbapénémases de types : OXA-48 like ; KPC; NDM; VIM ; IMP	EB Pyo	Se > 98 % Sp = 100 %	VPP = 100% VPN = 100%	Oui	15 min	Performances excellentes sur HC+ 1 cassette/test	-	(179,181,183–186)
Test colorimétrique									
β LACTA™ test *Bio-Rad*	Résistance aux C3G par hydrolyse d'une céphalosporine chromogénique (HMRZ-86)	EB Pyo	Se = 80 à 95 % Sp > 99 %	VPP = 90 à 100 % VPN ≈ 96%	Oui	15 min	Se > 95 % sur BLSE Amplitude > tests ICT (SHV, TEM, carbapénémases) Adaptabilité sur hémoculture bien décrite dans la littérature	Se = 67% EB grp 3 Se = 21 % pour CHN Souvent difficile à interpréter, résultats ambigus Nécessite inoculum large	(178,187–189)
β CARBA™ test *Bio-Rad*	Résistance aux carbapénèmes : hydrolyse d'une β-lactamine chromogène substrat de carbapénémase	EB Pyo	Se = 85 à 100 % Sp > 95 %	VPP > 95% VPN > 95 %	Oui	10 min	Bonnes performances sur EB	Se < 80 % chez *P. aeruginosa* Pas de détection des enzymes de classe A non-KPC Résultat pouvant être ambigu	(190–193)
CARBA NP *Test maison*	Résistance aux carbapénèmes : acidification du milieu lors de l'hydrolyse de l'imipenème par une carbapénémase	EB Pyo	Se = 90 à 100 % Sp = 100 %	-	Oui	15 min à 1 h	Facile à mettre en place Réactifs simples et répandus	Performances < pour *P. aeruginosa*	(194–196)
RAPIDEC® CARBA NP *BioMérieux*		EB Pyo	Se = 95 à 100 % Sp ≈ 100 %	VPP ≈ 99 % VPN ≈ 99 %	Oui	30 sec à 2 h	Meilleures performances Détection classe A non-KPC	Résultat peut être ambigu	(191,194,196,197)
Neo-Rapid CARB Screen *ROSCO Diagnostic*		EB Pyo	Se = 90 à 99 % Sp = 90 à 100 %	VPP = 92 % VPN = 88 %	Oui	30 min à 2 h	Détection classe A non-KPC	Performances légèrement < au RAPIDEC® CARBA NP Résultat peut être ambigu	(191,196,198)

CHN : Céphalosporinase de haut niveau; DF : Données fournisseur; EB : Entérobactéries; grp3 : Groupe 3; HC+ : Hémoculture positive; Pyo : P. aeruginosa; Se : Sensibilité; Sp : Spécificité; VPN : Valeur prédictive négative; VPP : Valeur prédictive positive.

3.2. Performances à partir de flacons d'hémocultures positifs

3.2.1. Résistance aux C3G

À partir de colonie, le test colorimétrique (β LACTA™ test) possède une sensibilité générale légèrement inférieure aux ICT (NG-Test® et RESIST), pour une spécificité équivalente de 100 % (**Tableau 5**). Malgré des performances inférieures, la conception du test [basée sur l'hydrolyse d'une C3G (HMRZ-86)] offre l'avantage de détecter une plus grande diversité d'enzymes (CHN, SHV, TEM, carbapénémases). En comparaison, les ICT ne détectent que l'antigène qu'ils ciblent, à savoir les enzymes de type CTX-M. Toutefois, les CTX-M étant les BLSE majoritaires en France, les ICT restent adaptés à l'épidémiologie nationale (173). Une étude plus ancienne du test colorimétrique (β LACTA™ test) rapporte toutefois des performances décevantes avec les entérobactéries du groupe 3 (67% de sensibilité) et particulièrement celles surexprimant l'AmpC [seulement 21 % de sensibilité pour ces dernières (189)], probablement lié à une hydrolyse peu spécifique du substrat HMRZ-86 par les AmpC, dont l'expression est instable.

Concernant leur applicabilité à partir d'hémoculture positive, les ICT et tests colorimétriques peuvent être réalisé via l'obtention d'un culot (kit type Sepsityper®), ou avec un kit « fabricant » développé à cet effet (exemple : NG-Test® Blood culture prep). Plusieurs études valident l'adaptation des ICT aux hémocultures, avec des performances retrouvées proches de celles obtenues sur colonies [de 92 à 100 % de sensibilité et 100 % de spécificité (174–177)]. Pour les tests colorimétriques, des auteurs valident également leur utilisation, bien que les sensibilités obtenues, similaires à celles sur colonies, soient plus faibles qu'avec les ICT [sensibilité ≈ 75 % (199–201)]. Une méta-analyse conclut néanmoins que les performances de ces différents tests sont acceptables pour une utilisation en routine à partir d'hémocultures positives (202).

3.2.2. Résistance aux carbapénèmes

Les ICT RESIST-5 O.K.N.V.I et NG-Test® CARBA 5 ciblent les enzymes les plus courantes : OXA-48-like, KPC, NDM, VIM et IMP. Leurs performances à partir de colonies sont comparables et excellentes (**Tableau 5**). Cependant, comme tout autre ICT, ils ne peuvent conclure qu'à la présence ou l'absence des enzymes de leurs panels, sans possibilité d'en déduire la sensibilité réelle de la souche testée aux différentes carbapénèmes. Leur rapidité et simplicité d'utilisation en font néanmoins des outils particulièrement intéressants.

Ces deux ICT sont utilisables directement sur flacons d'hémocultures positifs grâce à des kits « fabricants » dédiés (RESIST-BC et NG-Test®Blood culture prep**)** (**Figure 22**).

Figure 22 | Étapes de réalisation d'un test NG-Test® CARBA 5 directement à partir d'une hémoculture positive à l'aide du kit NG-Test® Blood culture prep (https://www.ngbiotech.com/ng-test-carba-5).

Plusieurs auteurs s'accordent sur d'excellentes performances du NG-test® CARBA-5 sur hémocultures pour les entérobactéries, avec des sensibilités et spécificités allant de 97,7 à 100 % et 96,1 à 100 %, respectivement (176,183,203). Comparé au kit RESIST, le NG-test® se distingue par une meilleure détection des métalloenzymes[3] [50 % de positivité avec RESIST contre 100 % avec NG-test (179)]. Pour des tests réalisés à partir d'hémocultures, la méta-analyse de Corpo et al. de 2023 évalue les performances globales des ICT dédiés à la détection des carbapénémases à 98 % de sensibilité et 100 % de spécificité (202).

Concernant les techniques colorimétriques, les études montrent que les kits β CARBA™ test et Neo-Rapid CARB réalisés à partir de colonies offrent des performances similaires (191,196,198). Le kit RAPIDEC® CARBA NP [dérivant de la méthode « Carba NP test » et validé par le CNR en 2018 (204)] semble toutefois se distinguer par des performances légèrement supérieures. Les kits RAPIDEC® et Neo-Rapid ont l'avantage de pouvoir détecter tous les types de carbapénémases, contrairement au test β-CARBA™ qui ne détecte pas les enzymes de classe A non-KPC (IMI, NMC-A, SME et FRI). Évaluées sur culot d'hémoculture, les performances de ces tests sont équivalentes à celles obtenues à partir de colonies isolées [Se = 99,0 % et Sp = 91,4 % pour le test NeoRapid et Se = 100 % et Sp = 95,1 % pour le kit β-Carba™ test (193)]. Pour ces tests, la méta-analyse de Corpo et al. indique des performances globales sur hémoculture à hauteur de 96 % de sensibilité et de 100 % de sensibilité (202).

Pour résumer, les performances de ces tests sont excellentes et comparables à celles obtenues à partir de colonies, permettant leur utilisation directe à partir de flacons d'hémoculture. Les ICT présentent des VPP et VPN excellentes pour les cibles spécifiques de leurs panels. Cependant, on retiendra surtout leur très bonne VPP, car leur VPN « globale » devient assez moyenne lorsqu'il s'agit d'utiliser ces tests comme des outils d'orientation thérapeutique. Par exemple, un résultat négatif d'un test ne détectant que

[3] Enzymes de classe B de la classification d'Ambler.
La classification d'Ambler divise les β-lactamases en quatre classes principales : A, B, C, et D, basées sur leurs mécanismes et structures. Ces classes incluent les β-lactamases à sérine (A et C), les métallobêta-lactamases (B), et les oxacillinases (D).

les enzymes de type CTX-M ne permet pas d'exclure une résistance aux C3G liée à d'autres mécanismes (exemple : TEM, SHV-1, carbapénémases), limitant ainsi la possibilité de désescalade thérapeutique. De plus, un résultat positif n'empêche pas la présence de résistances supplémentaires, par exemple, l'association d'une CTX-M et d'une carbapénémase. La même réflexion s'applique aux ICT recherchant d'autres enzymes. Néanmoins, l'association de plusieurs ICT, avec plusieurs cibles (CTX-M et carbapénémases, par exemple) permet de pallier en partie à cette limite.

Les tests colorimétriques, quant à eux, ne présentent pas ces limitations, car leur détection repose sur l'hydrolyse ou non d'un substrat chromogénique par une enzyme. Par exemple, la plupart des carbapénémases hydrolysant les C3G seront en principe détectées par le test β-LACTA™, qui est fondé sur l'hydrolyse d'une C3G chromogénique. En revanche, le test β-CARBA™, qui repose sur l'hydrolyse d'un carbapénème, ne permettra pas de détecter la résistance aux C3G.

3.3. Impact clinique

Trois études ont exploré l'impact clinique du test colorimétrique β LACTA™. Un premier auteur a démontré que son ajout à l'identification rapide sur culot d'hémoculture permettait d'adapter le traitement chez 75 % des patients présentant une entérobactérie résistante aux C3G. Il est également rapporté un gain de temps significatif pour adapter l'antibiothérapie probabiliste par rapport à l'antibiogramme classique (28 heures) et pour la mise en place des précautions contacts (35 heures) (205). Cependant, une autre étude n'a pas retrouvé de bénéfices similaires sur l'adaptation du traitement en comparaison à l'identification rapide seule dans un établissement doté d'une EMA (206). Plus récemment, une étude multicentrique a montré que le test β-LACTA™, utilisé sur culot d'hémoculture avec transmission des résultats à une EMA, permettait d'ajuster le traitement probabiliste dans un tiers des cas de bactériémies à entérobactéries (207).

Pour mieux déterminer l'impact et la place de ces tests comme outil d'orientation thérapeutique, un essai clinique multicentrique et randomisé (BLUE-CarbA) est en attente de publication. Ce protocole vise à déterminer si une désescalade précoce des carbapénèmes guidée par le β-LACTA™ test n'est pas inférieure à la stratégie de référence de désescalade des carbapénèmes guidée par les résultats « classiques » d'antibiogramme (208).

Ces tests sont complémentaires de l'antibiogramme phénotypique. Ce sont des techniques rapides, peu coûteuses et simples à mettre en œuvre à partir de flacons d'hémocultures. Cependant, une stratégie utilisant ces tests comme information pour une orientation thérapeutique devrait, à minima, ne se baser que sur la communication de tests positifs, tout en notifiant que des résistances associées ne peuvent être exclues. Un test négatif ne devrait pas être communiqué.

4. Techniques rapides génotypiques

La détection des gènes de résistances bactériens à partir d'hémocultures s'est largement développée ces dernières années. Ces techniques sont principalement basées sur l'amplification génique et plusieurs d'entre elles possèdent le marquage CE-IVD (**Figure 23**). Contrairement aux techniques rapides phénotypiques, ces méthodes ont été spécifiquement développées pour une utilisation sur flacons d'hémoculture positifs, notamment pour les cibles d'identification de micro-organismes qu'ils contiennent. Toutefois, la question de leur place dans l'orientation du traitement se pose également.

Figure 23 | Principaux systèmes de biologie moléculaire utilisés pour le diagnostic des hémocultures (Réalisée avec Biorender).

On distingue en pratique deux types de tests : i) les panels syndromiques multiplexés, ciblant plusieurs micro-organismes et/ou mécanismes de résistance, qui sont adaptés à l'écologie globale des bactériémies ; ii) les panels « simples », ciblant un micro-organisme avec un ou plusieurs de ses mécanismes de résistance, qui ne sont pas uniquement destinés aux bactériémies (**Tableau 6**).

4.1. Performances

Le **Tableau 6** résume les caractéristiques et performances des différents kits possédant le marquage CE-IVD, à partir de flacons d'hémocultures positifs.

Tableau 6 | Résumé des caractéristiques et performances des différents kits de biologie moléculaire, à partir de flacons d'hémocultures positifs.

	Fournisseur	Plateforme	Type de test	Spécification	Nom panel	Germes	Gènes de résistances (Cibles)	Performances sur HC+	TAT	Ref
Panels ciblés	Amplex Diagnostics	Genie II	LAMP	2 MD 1 échantillon / MD	eazyplex® SuperBug CRE	-	**Carbapénèmes :** KPC; OXA-48-like ; NDM; VIM **BLSE** : CTX-M groupe 1 et 9	Se = 100 %	15 min	(209,210)
					eazyplex® MRSA	*S. aureus*	**Méticilline** : *mecA/C*	Se = 100 % Sp = 99 %		(211)
	Cepheid®	GeneXpert®	PCR temps réel	MD de 2, 4 et 16 emplacements 1 éch. /emplacement	Xpert® MRSA/SA BC	*S. aureus*	**Méticilline** : *mecA/C*	Se = 98-100 % Sp = 99-100 %	1 h	(212)
					Xpert® Carba-R	-	**Carbapénèmes** : IMP; KPC; OXA-48-like ; NDM; VIM	Se = 100 % Sp = 100 %		(213)
					Xpert® vanA/vanB	-	**Vancomycine** : *vanA/B*			(214)
Panels syndromiques	bioMérieux	BioFire® FilmArray® Torch	PCR nichée Multiplex	MD de 1 à 12 emplacements 1 éch. /emplacement	BCID2®	9 GP 14 GN 7 F	**Carbapénèmes** : IMP; KPC; OXA-48-like ; NDM; VIM **Colistine** : *mcr -1* **BLSE** : CTX-M **Méticilline** : *mecA/C* **Vancomycine** : *vanA/B*	Se > 90 % Sp = 100 %	1 h	(29)
	Icubate®		PCR Multiplex	MD de réaction et lecture 1 éch. /MD de lecture	iC-GN	8 BGN	**Carbapénèmes** : KPC; NDM **BLSE** : CTX-M	nc	4,5 h	nc
					iC-GPC	5 CGP	**Méticilline** : *mecA/C* **Vancomycine** : *vanA/B*	Se = 94-100 % Sp = 98-100 %		(215,216)
	GenMark	ePlex®	PCR et Hybridation	MD de 3 à 24 emplacements 1 éch. /emplacement	BCID-GN	21 GN pan GP pan *Candida*	**Carbapénèmes** : IMP; KPC; OXA-48/OXA-23; NDM; VIM **BLSE** : CTX-M	Se = 100 % Sp = 100 %	1,5 h	(217)
					BCID-GP	20 GP pan GN pan *Candida*	**Méticilline** : *mecA/C* **Vancomycine** : *vanA/B*			
	Luminex	Verigene®	Puce à ADN	MD de réaction et lecture 1 éch. /MD	BC-GN	9 GN	**Carbapénèmes** : IMP; KPC; OXA-48-like ; NDM; VIM **BLSE** : CTX-M	Se = 97 % Sp = 100 %	2,5 h	(218)
					BC-GP	13 GP	**Méticilline** : *mecA/C* **Vancomycine** : *vanA/B*			

LAMP : Loop-mediated isothermal amplification; F : fongique; GN : Gram négatif; GP : Gram positif; HC+ : Hémocultures positives; MD : Module; nc : non communiqué; Se : Sensibilité; Sp : Spécificité.

Intrinsèquement, tous les tests possèdent d'excellentes performances analytiques sur flacons d'hémocultures, avec un délai analytique (identification et gènes de résistance) d'environ 1 heure, compatible avec une adaptation précoce du traitement (**Tableau 6**). Ces méthodes génotypiques sont toutefois conçues pour compléter les techniques standard, plutôt que de les remplacer (139). Bien qu'elles offrent des avantages en termes de rapidité et de performance, elles présentent plusieurs limitations à considérer.

Elles se concentrent principalement sur la résistance à certaines classes d'antibiotiques, comme les β-lactamines pour les BGN ou la méticilline pour *S. aureus*, nécessitant les tests standard en parallèle pour d'autres classes d'antibiotiques. Par ailleurs, la présence d'un gène de résistance n'est pas toujours corrélée à une résistance phénotypique, et l'absence d'un gène de résistance n'exclut pas d'autres mécanismes de résistance (modification de perméabilité, surexpression de porines, enzymes hors panel, etc.). À l'exception des gènes *mecA* et *vanA/B*, qui montrent une bonne corrélation génotype/phénotype, les résistances sont souvent multifactorielles, rendant la prédiction du phénotype difficile, notamment chez les BGN et particulièrement pour *P. aeruginosa*. De plus, ces techniques ne permettent pas d'évaluer la surexpression d'enzymes naturelles comme l'AmpC, et n'intègrent tout simplement pas ces cibles dans leurs panels.

L'attribution d'un gène de résistance dans des hémocultures polymicrobiennes pose également problème. En effet, le risque d'attribution incorrecte, par exemple, du gène *mecA* à un *S. aureus* au lieu d'un *S. epidermidis*, indiquerait un traitement inutile par vancomycine, qui est largement reconnu comme d'évolution moins favorable en cas de bactériémie à *S. aureus* sensible à la méticilline (SASM) (219). Les performances globales sont d'ailleurs souvent compromises pour les échantillons polymicrobiens avec une baisse significative de la sensibilité (220). Enfin, des erreurs de lecture du Gram peuvent prendre les tests à défaut en cas de panels scindés GP/GN (comme les kits de Verigene®). Malgré ces limitations, la détection de résistances combinée aux capacités d'identification de ces panels en font des outils très intéressants pour l'orientation du traitement.

4.2. Impact clinique

La méta-analyse de Timbrooks et al. en 2017 (15), regroupant 31 études, dont deux essais cliniques randomisés, montre que la combinaison de méthodes moléculaires rapides aux méthodes dites « standards » permet de **réduire significativement le délai nécessaire pour initier une antibiothérapie efficace** (gain moyen d'environ 5 heures), ainsi que la **mortalité** et la **durée d'hospitalisation** (gain moyen d'environ 2,5 jours). La méta-analyse met en évidence que l'utilisation de ces méthodes chez une vingtaine de patients bactériémiques suffirait à prévenir un décès dans les 30 jours (15). Il est toutefois

important de noter que la majorité des études proviennent des États-Unis, où l'écologie des résistances bactériennes peut différer de celle observée en Europe.
Un impact sur la mortalité est observé, quel que soit le type de pathogène (Gram négatif, Gram positif, ou polymicrobien), mais il est particulièrement marqué pour les bactériémies liées à des bactéries résistantes, notamment les ERG et les SARM (15,221,222).
Cependant, ces résultats ne sont significatifs que dans les études réalisées dans des établissements dotés d'une EMA, ce qui souligne l'importance de ces équipes pour optimiser l'utilisation des résultats. C'est pourquoi l'IDSA (Infectious diseases society of America) recommande, aux États-Unis depuis 2016, que les EMA puissent bénéficier de la mise en place d'une technique rapide de diagnostic moléculaire, en complément des méthodes standard d'antibiogrammes (223). Parallèlement, le bénéfice en termes de réduction des délais pour la désescalade thérapeutique semble plus modeste que pour l'escalade, probablement parce que les cliniciens sont en attente des résultats complets de sensibilité avant d'initier la mise en place de traitements à spectres étroits (224,225). En ce sens, la problématique est similaire à celle des tests phénotypiques rapides, avec une utilité principale des résultats positifs.

Aucune étude rigoureuse n'a encore évalué de manière globale les coûts d'implémentation des méthodes moléculaires. Néanmoins, la réduction significative de la durée d'hospitalisation fait entrevoir des économies potentielles. De plus, les surcoûts liés à l'implantation de nouveaux automates et à la consommation des réactifs dédiés pourraient être maîtrisés en adoptant une stratégie réservant l'utilisation des méthodes moléculaires aux cas les plus complexes, en complément des méthodes phénotypiques rapides (210,226).

Les différentes études suggèrent que les techniques moléculaires, utilisées en complément des méthodes traditionnelles (et tout particulièrement dans un établissement disposant d'une EMA), améliorent la prise en charge des bactériémies. Leur coût impose cependant une évaluation locale par chaque centre avant intégration dans la stratégie diagnostique.

5. Méthodes rapides en milieu gélosé

Comme mentionné dans la section « II.1. Inoculum direct à partir de flacon d'hémoculture positif », l'antibiogramme « classique » par diffusion en milieu gélosé [méthode de Bauer-Kirby (227)], traditionnellement réalisée à partir de colonies isolées en subculture, a été adapté pour être inoculée directement à partir de flacons d'hémoculture positifs. Depuis la version 2018 du CA-SFM (150), cette méthode est devenue le standard recommandé en France, permettant d'obtenir les résultats à J+1 de la positivité du flacon d'hémoculture. Dans un souci de réduction additionnelle des délais, des méthodes permettant de raccourcir l'incubation ont été développées avec l'ambition de rendre un résultat le jour même de la positivité du flacon : la méthode **RAST** (Rapid antimicrobial susceptibility testing) de L'EUCAST et la gélose **MH-SIR** « rapide » de la société i2a.

- **Méthode utilisant des diamètres critiques spécifiques dédiés :**
    - **RAST de l'EUCAST** : incubation raccourcie, lecture selon des diamètres critiques dédiés lisibles en 4, 6 ou 8 heures.

- **Méthode utilisant les diamètres critiques standard :**
    - **Gélose MH-SIR de la société i2a** : cette gélose, basée sur une composition de MH classique, possède des agents contrastants permettant une lecture dès 6 heures d'incubation selon les diamètres critiques standard du CA-SFM/EUCAST.

5.1. RAST de l'EUCAST

5.1.1. Inoculum et principe

Cette méthode implique l'inoculation directe de 125 ± 25 µL d'hémoculture positive sur une gélose MH ou MH-F, sans dilution préalable. Après ensemencement et ajout des disques d'antibiotiques, l'antibiogramme est incubé à 35 °C. La lecture des diamètres se fait à 4, 6, ou 8 heures d'incubation, en utilisant des diamètres critiques spécifiquement développés pour cette méthode (différent des diamètres critiques « classiques ») (**Figure 24**). Depuis 2022, l'EUCAST permet de prolonger l'incubation à 16-20 heures si nécessaire. Les diamètres critiques sont également spécifiques et adaptés à cette lecture différée, l'inoculum étant plus « lourd » que la méthode standard (229,230). La méthode RAST a été validée pour les flacons d'hémocultures de BD, bioMérieux et Thermo Fisher.

Figure 24 | Exemple d'une souche de SARM ensemencée sur gélose MH avec la méthode RAST, lue à 6 heures d'incubation. **À gauche**, image brute, **à droite**, interprétation des diamètres (231).

L'application de la méthode est restreinte à quelques espèces fréquemment associées aux bactériémies : *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. faecalis/faecium*, et *A. baumannii*. Chaque espèce dispose de diamètres critiques spécifiques selon le temps de lecture (4, 6, 8, et 16-20 heures) (**Tableau 7**). Selon les souches, il n'est pas toujours possible de mesurer correctement les diamètres aux temps les plus précoces. Si la bordure de la zone d'inhibition n'est pas clairement identifiable, alors il faut retarder la lecture au prochain temps de lecture. Selon les caractéristiques de l'espèce, la lecture peut également être complexe, notamment pour *P. aeruginosa*, pour qui le premier temps de lecture n'est qu'à 6 h d'incubation. Par ailleurs, on notera que pour chaque couple antibiotique/bactérie et pour chaque temps de lecture, une zone d'incertitude technique (ZIT) est présente, visant à limiter les erreurs de catégorisation (VME et ME).

Tableau 7 | Diamètres critiques (en mm) pour *P. aeruginosa* selon la méthode RAST de l'EUCAST (Source : https://www.eucast.org/rapid_ast_in_bloodcultures)

Agent antimicrobien	Dosage disque (µg)	6 heures			8 heures			16-20 heures		
		S ≥	ZIT	R <	S ≥	ZIT	R <	S ≥	ZIT	R <
Pipéracilline-tazobactam	30-6	50	13-15	13	50	14-16	14	50	15-16	15
Céfépime	30	50	15-16	15	50	15-16	15	50	17	17
Ceftazidime	10	50	12-14	12	50	13-15	13	50	14	14
Ceftazidime-avibactam	10-4	15	13-14	13	16	14-15	14	18	15-17	15
Ceftolozane-tazobactam	30-10	15	14	14	16	15	15	16	15-17	15
Imipénème	10	50	15-16	15	50	15-16	15	ND	18-50	18

5.1.2. Performances

La méthode RAST a été validée par deux études multicentriques (228,232), montrant de très bonnes performances globales, avec un CA de 97 % après 4 à 6 heures d'incubation, et des taux d'erreurs (VME et ME) inférieurs à 5 %. Cependant, la lisibilité des résultats à 4 heures reste insuffisante pour certaines espèces. Par exemple, dans une des études, seuls 58 % des *S. aureus*, 44 % des souches de *E. faecium* et 0 % des souches de *P. aeruginosa* présentaient des zones de sensibilité mesurables après 4 heures, bien que ce chiffre augmente significativement avec le délai d'incubation (228)[4]. Par ailleurs, un chevauchement entre les populations sensibles et résistantes pour certains antibiotiques, notamment la pipéracilline-tazobactam, la clindamycine et la vancomycine (232), a motivé l'introduction des ZIT. Pour certaines bactéries, en particulier les entérocoques et les pneumocoques, la fréquence élevée des résultats en ZIT limite toutefois le nombre de résultats disponibles précocement (228).
En outre, la détection des résistances (SARM, BLSE, EPC et ERG-*vanA*) est excellente dans ces deux études (228,232) et dans des études plus récentes[5] (229,231,233). À noter que depuis 2024, des diamètres critiques ont été ajoutés pour l'ertapénème et la témocilline, avec de bonnes performances pour dépister les souches productrices d'OXA-48, dès 4 heures d'incubation (235).

Bien que la méthode RAST soit performante et ne génère pas de coûts additionnels pour des réactifs, elle nécessite un changement organisationnel important pour son implantation. Le respect strict des temps de lecture (± 5 minutes) à 4, 6 ou 8 heures complique la gestion lorsque plusieurs géloses doivent être lues séquentiellement pour différents patients. Cette contrainte a freiné son adoption à grande échelle en routine, incitant certaines équipes à explorer l'automatisation de la technique pour en faciliter l'utilisation. Les études portant sur « l'automatisation » de la technique RAST sur les chaines

[4] Pourcentage de lisibilité à 4 heures selon l'espèce : 92 % des *E. coli*, 99 % des *K. pneumoniae*, 58 % des *S. aureus*, 93 % des *E. faecalis*, 89 % des *S. pneumoniae*, 44 % des *E. faecium* et 0 % des *P. aeruginosa*. Pourcentage à 6 heures : 89-100 %, pourcentage à 8 heures : 98-100 % (228).
[5] Détection de la résistance au carbapénèmes : 100 % de sensibilité et 88,7 % de spécificité (233). CA (%) ceftazidime-avibactam vs. MML sur souches d'EPC : 97,5 ; 98 et 99,6 à 4, 6 et 8 heures (234).

automatisées de microbiologie [BD Kiestra™ TLA (231,236) et l'association de la chaine WaspLab® et Radian® (237,238)] indiquent de bonnes performances générales, tout en pointant l'avantage logistique indéniable de l'acquisition automatisée des images aux différents temps de lecture.

5.1.3. Impact clinique

Plusieurs études monocentriques ont évalué l'impact clinique de la méthode RAST, avec des résultats variés concernant la mortalité. Cependant, toutes montrent une adaptation du traitement significativement plus rapide dans les groupes utilisant la méthode RAST, en comparaison à l'antibiogramme classique (239–241). Par ailleurs, ces trois études confirment également les bonnes performances de la méthode RAST en termes de catégorisation, avec des CA supérieurs à 95 % et un nombre d'erreurs de catégorisation très faible.

Avantages :

Le RAST est une méthode validée internationalement, avec des résultats de catégorisation clinique (hors ZIT) fiables permettant de rendre des résultats de manière très précoce et sans surcoût de réactifs. La méthode étant développée directement par l'EUCAST, la documentation est gratuite et régulièrement mise à jour (actuellement version 9). De plus, contrairement à la « méthode » MH-SIR (voir section suivante : 5.2), le RAST est validé pour certains streptocoques, entérocoques et BGN non fermentaires.

Limites :

Toutefois, la technique impose une organisation complexe, poussant certains laboratoires à l'automatiser autant que possible. Elle ne permet pas de gérer une hémoculture polymicrobienne, et présente une proportion élevée de diamètres dans la ZIT pour certaines espèces, limitant la proportion de résultats exploitables d'emblée. De plus, son application reste restreinte à un nombre spécifique d'espèces pour lesquels des diamètres critiques spécifiques sont développés.

5.2. Gélose MH-SIR

Le milieu MH-SIR (société i2a, Montpellier) possède une composition standardisée de milieu Mueller-Hinton, additionnée d'un adjuvant de pousse et d'un agent contrastant, permettant la détection d'une fine croissance bactérienne dès 6 à 8 heures d'incubation (**Figure 25**). Il est réservé aux bactéries à croissance rapide en aérobiose, telles que les entérobactéries et les staphylocoques.

Figure 25 | Aspects des géloses MH-SIR et MH. Gélose MH-SIR (**à gauche**) lue à 6 heures d'incubation et gélose MH (**à droite**) lue à 20 h d'incubation, ensemencées avec la même souche d'*E. coli* productrice d'une pénicillinase de bas niveau. Image prise par l'automate SIRscan 2000®. (Photo : laboratoire de bactériologie, SIRscan 2000®, CHU de Strasbourg)

5.2.1. Inoculum

L'ensemencement peut être réalisé directement à partir d'un flacon d'hémoculture. Un auteur a comparé deux protocoles pour l'ensemencement de la gélose MH-SIR pour les entérobactéries (242) : celui de la BSAC et celui du CA-SFM[6]. La répétabilité et la reproductibilité des résultats ont été analysées pour une souche d'*E. coli* ATCC. La méthode de la BSAC permet d'obtenir des diamètres moyens proches des valeurs cibles de cette souche, tandis que ceux obtenus avec la méthode CA-SFM/EUCAST, plus « resserrés », sont proches de la limite acceptable « basse », certaines valeurs étant même situées hors des valeurs acceptables (céfépime et ticarcilline). Le fait que l'inoculum recommandé par le CA-SFM soit plus « lourd » est probablement en cause. Les autres études ayant évalué la gélose MH-SIR se sont toutes appuyées sur le protocole de la BSAC, qui était le seul « officiellement » disponible au moment de leur réalisation (30,243).

[6] Pour rappel, selon la coloration de Gram :
- **BSAC** : dilution au 1/100e pour les BGN, au 1/30e pour les staphylocoques et les entérocoques et ensemencement direct pour le pneumocoque, les streptocoques viridans et les bactéries diphtérimorphes.
- **CA-SFM** : dilution au 1/50e pour les BGN et les staphylocoques et au 1/5e pour les entérocoques.

5.2.2. Incubation et lecture

La gélose MH-SIR a été développée pour une incubation et une lecture automatique par les automates SIRscan 2000® ou Orion® (commercialisés par i2a). La lecture est réalisée dès six heures de culture, puis retardée toutes les 30 minutes jusqu'à la huitième heure en cas de pousse insuffisante. Les auteurs rapportent que la croissance des entérobactéries est souvent lisible dès six heures, tandis que celle des *Staphylococcus* se fait plutôt en fin d'incubation, vers huit heures. Toutefois, il peut être nécessaire de prolonger l'incubation à 16-24 heures en cas de croissance insuffisante, quelle que soit la souche. Une étude mentionne des tests sur *P. aeruginosa* et *Enterococcus* spp., mais la croissance de ces espèces était trop insuffisante. Actuellement, la gélose est destinée aux hémocultures positives pour les entérobactéries et/ou les staphylocoques, ceux-ci ayant une croissance rapide en aérobiose à 37 °C.

5.2.3. Performances

Actuellement, seules deux études indépendantes ayant évalué les performances de la gélose MH-SIR à partir de flacons d'hémocultures positifs sont disponibles. Elles sont résumées dans le **Tableau 8**.

Tableau 8 | Résumé des principales évaluations des performances du milieu MH-SIR.

Étude Comparateur	Germe	Performances			Ref
		Performances de catégorisation (%)	Délai de rendu	Commentaire	
Périllaud et al., 2019 DMG direct	133 EB et *S. aureus*	EB : CA = 97,7 VME = 0,5 ME = 0,4 *S. aureus* : CA = 97,8 VME = 0 ME = 0,3	-	Bonne détection BLSE, CHN et SARM	(30)
Payen et al., 2022 DMG direct	149 EB	CA = 99,3 CA = 98,2 (souches)	Gain de 16 h	VAM inocula (BSAC vs EUCAST) 39 souches (BLSE, EPC, CHN) Détection 100 % EPC, AmpC, CHN Détection 50-80 % des BLSE	(242)

DMG : diffusion en milieu gélosé; EB : entérobactéries; MH : Mueller-Hinton ; VAM : validation analytique de méthode.

Ces deux études rapportent des CA ≥ 97 %, satisfaisant ainsi les critères de la FDA[7]. Pour les entérobactéries, les ME les plus fréquentes concernent la ciprofloxacine et la témocilline. Celles qui concernent la ciprofloxacine impactent l'ensemble des fluoroquinolones, car les règles d'interprétation du CA-SFM/EUCAST (pour les *Enterobacterales* à l'exception de *Salmonella*) imposent de rendre toutes les fluoroquinolones résistantes en cas de résistance à la ciprofloxacine. Les VME concernaient principalement l'amoxicilline-acide clavulanique, la témocilline et la céfalexine. Pour l'amoxicilline-acide clavulanique, les diamètres sont souvent très proches du diamètre critique de 19 mm, à l'instar des diamètres observés sur gélose MH. L'apparition des ZIT dans l'édition 2020 du CA-SFM permet toutefois de ne plus catégoriser à tort les diamètres entre 19 et 20 mm comme « sensibles » (244). Cette

[7] Critères FDA : EA et CA ≥ 90 % ; ME ≤ 3 % ; VME ≤ 1,5% ; mE <10 % ; échec de pousse < 10 % par genres/espèces testés.

discordance n'aurait donc plus lieu aujourd'hui. La présence de cette ZIT permet d'expliquer l'absence de VME pour l'amoxicilline-acide clavulanique dans l'étude plus récente de Payen et al., de 2022 (242) en comparaison à l'étude de Périllaud et al., publiée en 2019 (30).

Concernant la détection phénotypique de résistances, la gélose semble jusqu'à présent à même de détecter correctement les EPC et les souches productrices de CHN. Pour certains phénotypes, des tests complémentaires étaient cependant nécessaires afin de préciser le mécanisme de résistance exact (cas de mécanismes combinés ou situations amenant à typer l'EPC), sans que ces tests soient plus fréquents que ceux nécessaires pour les antibiogrammes réalisés sur gélose MH. La capacité à détecter les EBLSE[8] par observation de synergies pourrait cependant ne pas être optimale. Elle n'était que de 53 %, sur un panel d'EBLSE dans l'étude de Payen et al., 2022 (242), la moitié des cas ayant nécessité des tests complémentaires. Toutefois, l'étude n'a pas montré un nombre plus élevé de discordances, le CA global sur ces souches étant de 98,2 % (242). De plus, le problème peut éventuellement être contourné en utilisant la technique des disques combinés C3G + acide clavulanique.

Pour *S. aureus*, les principales discordances portaient sur la céfoxitine (principalement des erreurs mineures). Cependant, les diamètres critiques de la molécule ont été modifiés à partir de l'édition 2017 du CA-SFM (disparition de la catégorisation intermédiaire entre 22 et 25 mm, n'autorisant plus qu'une catégorisation S ou R) : de nouvelles études mériteraient d'être réalisées afin de déterminer les performances actuelles de la gélose en tenant compte des nouveaux diamètres critiques pour le couple céfoxitine/*S. aureus*.

D'une manière générale, les études indiquent que les diamètres sont systématiquement « plus petits » à 6 heures qu'à 24 h, les souches tendent donc à apparaitre plus « résistantes » en lecture précoce. Les études « princeps » avaient déjà noté ce phénomène (227). C'est d'ailleurs ce qui peut justifier la volonté d'adapter les diamètres critiques, comme pour la méthode RAST de l'EUCAST, bien que cela soit aussi lié pour cette méthode à un inoculum plus important que pour l'antibiogramme « standard ».

5.2.4. Impact clinique

À ce jour, une seule étude a évalué l'impact clinique de la gélose MH-SIR (243), incluant des hémocultures positives à entérobactéries et à *S. aureus*. Cette étude monocentrique montre qu'il est possible d'adapter l'antibiothérapie probabiliste en moyenne 11 heures plus tôt qu'avec la gélose MH ensemencée directement à partir d'un flacon d'hémoculture positif. Néanmoins, des études menées sur des effectifs plus importants seraient nécessaires. En effet, la proportion de souches résistantes analysées dans cette étude pilote (aucune EPC et uniquement 22 EBLSE pour un total de 330 souches) est

[8] Le CA-SFM indique que les BLSE peuvent être détectées par l'observation des synergies entre des disques de C3G/C4G et des disques comportant un inhibiteur comme l'acide clavulanique, ou via l'utilisation de disques combinés.

insuffisante pour qu'un impact sur le pronostic des patients puisse être mis en évidence (243). L'étude clinique MHR-BLOOD[9], en cours d'inclusion actuellement, correspond au déploiement multicentrique de cette étude pilote. Elle a pour but de mieux évaluer l'impact de l'utilisation de la gélose MH-SIR, sur l'adaptation du traitement, la durée d'hospitalisation et la mortalité.

Avantages :

Pour un laboratoire utilisant déjà un automate SIRscan®, la méthode MH-SIR est à la fois intéressante et économique (le coût des géloses MH-SIR n'étant pas beaucoup plus élevé que celui des géloses MH standard). De plus, la méthode est moins contraignante que la méthode RAST de l'EUCAST (pas de lectures à des temps précis, utilisation des diamètres critiques « classiques » du CA-SFM/EUCAST, pas de paramétrage informatique spécifique des logiciels experts).

Limites :

Cependant, on manque actuellement d'études sur les performances de la gélose et les deux publications disponibles concernaient principalement les entérobactéries. De plus, la méthode n'est pas adaptée pour les entérocoques, les streptocoques ou les BGN non fermentaires, en raison d'une croissance insuffisante avant 8 heures d'incubation.

[9] ClinicalTrial.gov ID : **NCT06425367**

6. Méthodes en microdilution automatisées « rapides »

La microdilution est la méthode de référence pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques. Elle consiste à ensemencer un inoculum bactérien standardisé dans des cupules contenant des concentrations croissantes d'antibiotiques. Après 18 heures d'incubation à 35 °C, la CMI correspond à la plus faible concentration de l'antibiotique capable d'inhiber la croissance bactérienne. Des automates permettent de réaliser des antibiogrammes par microdilution : ils sont utilisés par de nombreux laboratoires de microbiologie médicale. Le **Tableau 9** résume les caractéristiques des trois principaux fournisseurs actuels permettant d'obtenir des résultats plus rapides.

Tableau 9 | Caractéristiques générales des automates de microdilution présentés.

Fournisseur	Plateforme	Exemple carte d'antibiogramme	Technique	Durée d'analyse	Germes
BioMérieux	VITEK 2®		Néphélémétrie	6-8 h (BGN) 9-10 h (CGP)	Entérobactéries BGN non fermentants Staphylocoques Entérocoques Streptocoques Autres GP et GN d'intérêt médical
Becton-Dickinson	Phoenix®		Turbidimétrie	6 à 16 h	
Beckman-Coulter	MicroScan®		Turbidimétrie	5 h à 18 h	

6.1. Inoculum

Les cartes d'antibiogrammes sont normalement ensemencées avec une suspension bactérienne préparée à partir d'une colonie isolée sur milieu gélosé. La détection de la croissance étant mesurée par méthode néphélémétrique ou turbidimétrique, il est en théorie impossible d'ensemencer ces cartes directement avec le contenu d'un flacon d'hémoculture : il est nécessaire d'obtenir un culot bactérien resuspendu dans de l'eau physiologique. De nombreuses études ont évalué l'adaptabilité de ces méthodes à partir de flacon d'hémoculture. Les études « anciennes » utilisaient un culot obtenu par centrifugation avec ou sans tube à gel séparateur. Les plus récentes utilisent des kits comme le Sepsityper®, ou d'autres méthodes « maison » équivalentes, avec l'avantage d'une préparation rapide. Une exception notable concerne l'automate MicroScan, où une dilution du contenu du flacon (notamment au 1/250^{e}) est souvent utilisée, aboutissant à des résultats parfois décevants (27). Cela met en lumière la qualité de l'inoculum qui est primordiale. Une mauvaise centrifugation pour l'obtention d'un culot peut compromettre les

résultats par sous-estimation de sa concentration (26,151,163). Par exemple, un inoculum de 0,5 McF obtenu après centrifugation est souvent insuffisant, nécessitant une cible plus élevée (entre 0,7 et 1 McF) pour compenser la mesure turbidimétrique « faussée » par les éléments du sang restant (165).

Les automates utilisent des cartes d'antibiogrammes GN ou GP choisi selon la coloration de Gram. Cependant, jusqu'à 16 % des prélèvements initialement considérés comme monomicrobiens se révèlent en réalité polymicrobiens après subculture (154), ce qui peut fausser les résultats. Le développement de l'identification directe par MALDI-TOF à toute fois permis de faciliter la gestion de ce type de prélèvements. Si l'hémoculture est polymicrobienne, il est essentiel de réaliser l'antibiogramme à partir de la subculture pour éviter toute erreur (163).

6.2. Performances

De nombreuses études ont évalué les performances de ces méthodes à partir de flacons d'hémoculture positifs : elles sont présentées dans le **Tableau 10**.

Tableau 10 | Résumé des études ayant évalué les performances des trois automates de microdilution, directement sur flacon d'hémoculture positif.

Étude Comparateur	Germes	Performances			Ref
		Performances de catégorisation (%)	Délai de rendu	Commentaire	
VITEK 2					
Hansen et al., 2002 VITEK colonie	140 BGN	CA = 99	≈ 6 h	Faible taux de résistance	(245)
Ling et al., 2003 MML colonie	97 BGN	CA = 97,6	3 à 17 h	VME et ME sur PTZ	(246)
Bruins et al., 2004 VITEK colonie	312 BGN (EB et NF)	CA = 99,2	-	VME sur PIP et CTX	(25)
de Cueto et al., 2004 VITEK colonie	50 BGN (EB et NF) 50 CGP	mauvais calcul CA et EA	-	VME sur PIP, CTX et CAZ problème d'inoculum trop faible (CGP)	(151)
Lupetti et al., 2010 VITEK colonie	49 CGP	CA = 97,7	-	VME sur SXT et GN ajout de saponine = meilleures performances sur CGP	(154)
Quesada et al., 2010 VITEK colonie	113 BGN (EB et NF)	CA > 95 VME = 0,35 ME = 0,05	≈ 7 h	100 % détection BLSE (5 souches)	(164)
Gherardi et al., 2012 VITEK colonie	91 BGN 48 CGP	CA = 98,7 (BGN) CA = 96,2 (CGP)	≈10 h (BGN) ≈11 h (CGP)	VME et ME PTZ et AMC 100 % détection BLSE Excellente performance pour NF	(163)
Romero et al., 2012 VITEK colonie	257 BGN 67 CGP	CA = 97 (BGN) CA = 92 (BGN-NF) CA = 98 (CGP)	≈ 6 h 30 (BGN) ≈ 10 h (CGP)	100 % détection BLSE et SARM VME et ME sur CTX ME sur Tazocilline	(165)
Machen et al., 2014 VITEK colonie	49 BGN 47 CGP	CA = 93,5	Gain de 45 h	VME sur CTX CAZ (EB) VME sur CIP (*P. aeruginosa*)	(247)
Pan et al., 2018 VITEK colonie	57 BGN 72 CGP	CA = 96,89 (BGN) CA = 92,81 (CGP)	-	VME sur SXT (EB) VME et ME sur CL et FQ (SCN/SA)	(167)
Hogan et al., 2019 VITEK colonie	109 BGN	EA = 97,7 CA = 96,8	≈ 9 h	VME sur PTZ et carbapénèmes 26 EPC (96,8 % de CA)	(162)

Kavipriya et al., 2021 VITEK colonie	120 BGN (EB et NF)	CA = 97 (EB) CA = 97,6 (NF)	-	Excellent résultat sur BGN-NF	(166)
Sze et al., 2021 MML colonie	60 BGN 37 CGP	EA = 88,5 CA = 92.6 (BGN) EA = 100 CA = 97.2 (CGP)	≈ 14 h	Détection 100 % BLSE EPC SARM	(220)
Brandt et al., 2023 VITEK colonie	121 BGN 102 CGP	EA = 98 CA = 97 (BGN) EA = 94 CA = 99 (CGP)	Gain de 52 h	Détection 100 % BLSE et SARM VME pour EB avec SXT	(157)
BD Phoenix					
Funke et al., 2004 VITEK colonie	309 BGN (EB et NF)	CA = 99 VME = 0,1 ME = 0,1	-	3 VME et ME sur Ampicilline	(142)
Lupetti et al., 2010 VITEK colonie	68 CGP	CA = 98,1 VME = 0,2 ME = 0,4	Gain de 12 h	Excellentes performances	(248)
Beuving et al., 2011 PHOENIX colonie	49 BGN 84 CGP	CA = 99 (BGN) CA = 95,4 (CGP)	Gain de 23,5 h	Inoculum faible (CGP) VME sur Bactrim (NF et CGP)	(26)
Gherardi et al., 2012 PHOENIX colonie	91 BGN 48 CGP	CA = 99 (BGN) CA = 99,5 (CGP)	≈ 12 h (BGN) ≈ 13 h (CGP)	-	(163)
Wimmer et al., 2012 PHOENIX colonie	50 BGN (EB et NF)	-	-	-	(152)
Hazelton et al., 2014 PHOENIX colonie	64 BGN	CA = 97,9 VME = 0,07 ME = 0,19		-	(158)
Florio et al., 2015 VITEK colonie	85 BGN 124 CGP	CA = 96 (BGN) CA = 97,7 (CGP)	-	-	(249)
Maelegheer et al., 2017 PHOENIX colonie	45 BGN 56 CGP	CA = 98,9	-	Excellents résultats 100 % détection ERG, EPC, SARM, BLSE	(250)
Watanabe et al., 2022 PHOENIX colonie	105 BGN 122 CGP	CA = 98,3		Taux de résistance faible	(160)
Microscan WalkAway					
Quesada et al., 2010 Microscan colonie	113 BGN (EB et NF)	CA > 95 VME = 0,5 ME = 0	-	100 % détection BLSE	(164)
Infante et al., 2021 Microscan colonie	1 070 BGN	CA = 92,86	-	46 VME : AMC, PTZ, CAZ, CTX, SXT	(27)
Jacobs et al., 2022 Microscan colonie	86 BGN	CA = 92,3 VME = 0.4 ME = 1,9 %	Gain de 16 h	100 % détection BLSE et EPC	(144)
Brandt et al., 2023 Microscan colonie	121 BGN 102 CGP	CA > 97	Gain de 52 h	VME sur SXT (EB) Détection 100 % BLSE et SARM	(157)
Gallois et al., 2023 Microscan colonie	124 BGN (EB)	EA = 98,8 % CA = 98,5 % VME = 0,6 % ME = 2 %	Gain de 18 h	VME sur PIP et AMC ME sur PTZ	(251)
Sy et al., 2023 DMG direct	70 BGN 154 CGP	CA = 97,3 (BGN) CA = 96 (CGP)	Pas de différence	VME sur GN et FQ (CGP) VME sur Fosfomycine (BGN)	(168)

AMC : amoxicilline-acide clavulanique; CAZ : ceftazidime; CIP : ciprofloxacine ; CL : clindamycine; CTX : céfotaxime; FQ : fluoroquinolones; GN : gentamicine; MML : Microdilution en milieu liquide; NF : BGN non fermentant ; PIP : pipéracilline; PTZ : pipéracilline-tazobactam; SXT : triméthoprime-sulfaméthoxazole.

L'automate VITEK 2 montre généralement un accord de catégorisation élevé, souvent supérieur à 95 % et atteignant plus de 99 % dans plusieurs études (25,245). Cependant, une étude largement citée dans plusieurs revues révèle de très mauvaises performances sur les CGP (151), mais le processus non optimal d'obtention du culot peut remettre en question ces « mauvaises performances ». Des VME et ME sont certes décrites pour le cotrimoxazole et la clindamycine, mais à des taux acceptables dans toutes les autres études ayant testé des CGP, et ce quelle que soit la plateforme. De plus, la détection des SARM n'a posé en général aucun souci technique. Enfin, l'ajout de saponine avant centrifugation, pendant la

préparation de l'inoculum à partir d'un flacon, permettrait d'améliorer nettement les performances pour les CGP (154).
Concernant les BGN, certaines discordances (plus particulièrement des VME) sont relevées : elles concernent la pipéracilline (et son association avec le tazobactam), le céfotaxime et la ceftazidime. Malgré le fait qu'elles concernent des molécules importantes pour le traitement des bactériémies, elles restent rares. En revanche, la détection des phénotypes BLSE et EPC apparait satisfaisante : les CA globaux sont tous excellents et les taux de discordance excèdent rarement 1 %.
Les autres automates, Phoenix et MicroScan, affichent des performances équivalentes (CA globaux > 90 % et taux de ME et VME conformes aux critères de la FDA).

Les temps de rendu des résultats varient cependant considérablement selon les études et l'automate utilisé. Pour le Vitek 2, les résultats sont disponibles en moyenne entre 6 et 10 heures pour les BGN, et entre 9 et 10 heures pour les CGP. Toutefois, des écarts importants sont observables, allant de 3 heures pour des organismes multisensibles à plus de 19 heures pour des souches multirésistantes. Le Phoenix présente des temps légèrement plus longs, avec une moyenne de 7 à 12 heures pour les BGN, et plus de 10 heures pour les CGP. Comme pour le Vitek, selon la bactérie et son profil de sensibilité, les résultats peuvent être disponibles dès 4 heures, mais peuvent aussi dépasser 15 heures d'incubation, comme dans le cas d'EPC avec des CMI élevées pour les carbapénèmes (250). Enfin, pour le Microscan, son temps d'analyse est classiquement de 16 à 24 heures, cependant plusieurs études mentionnent des temps d'analyse moins longs, d'environ 10 heures (14). Des auteurs ont également tenté d'évaluer une lecture précoce des plaques, notamment à 4, 6 et 8 heures d'incubation, mais les performances s'en trouvaient considérablement réduite (CA de 60 %, 65 % et 67 % au temps d'incubations respectifs) (252). Par ailleurs, il est important de préciser que les plaques Sensititre et l'automate Aris HiQ n'ont volontairement pas été inclus dans cette sous-partie, car leur temps d'analyse, systématiquement de 16 à 24 heures, n'est pas adapté.

En résumé, pour obtenir un résultat le même jour que la positivité d'une hémoculture, les délais de rendu de l'automate Vitek semble être les plus appropriés, avec des performances qui apparaissent optimales.

6.3. Impact clinique

L'impact clinique des méthodes automatisées a été évalué, avec des résultats variés. Une première étude avait pu montrer un gain de 16 heures pour le rendu des résultats avec l'automate MicroScan à partir d'un culot d'hémoculture, et une réduction significative de la mortalité (14). Cependant, deux autres études plus récentes avec l'automate Vitek 2 n'ont pas objectivé d'impact sur la mortalité (253,254). L'une d'elles met toutefois en évidence une diminution de la durée d'hospitalisation, ainsi qu'un gain de 23 heures dans le rendu du résultat (253). Cependant, comme pour bien d'autres études, ce gain

d'environ une journée est attendu, puisque les performances de l'automate Vitek avec un antibiogramme réalisé directement sur hémoculture y sont comparées avec le même automate ensemencé à partir d'une subculture de 24 h.

Avantages :

Ces automates offrent de bonnes performances à partir de flacons d'hémoculture positifs, avec des coûts « raisonnables » et une intégration facile dans le flux de travail, pouvant justifier leur utilisation dans des laboratoires possédant déjà ces équipements. Leur capacité, leur polyvalence et leur robustesse permettent d'expliquer qu'ils font partie des standards d'antibiogramme dans de nombreux laboratoires de microbiologie médicale.

Limites :

Les délais de traitement relativement longs peuvent limiter l'utilité de ces automates dans des contextes nécessitant l'obtention d'un résultat à J0 de la positivité d'une hémoculture, particulièrement en cas de micro-organisme présentant des résistances.

7. Méthode basée sur la diffusion de la lumière : Alfred 60^{AST}

Le système Alfred 60^{AST} (Société Alifax®, Portugal) est une méthode tout-automatisée d'antibiogramme phénotypique disposant du marquage CE-IVD. Basée sur une évaluation de la croissance bactérienne par mesure de la diffusion de la lumière, la méthode a initialement été développée pour le dépistage de bactéries dans les urines (255). Son développement a ensuite été orienté vers la réalisation d'antibiogrammes rapides directs à partir de flacons d'hémocultures et d'autres liquides biologiques. Le panel bactérien testé comprend plusieurs BGN (entérobactéries, BGN non fermentaires) et CGP (staphylocoques, entérocoques, streptocoques).

7.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture

La **Figure 26** résume les étapes de réalisation d'un antibiogramme avec l'Alfred 60^{AST}, à partir d'un flacon d'hémoculture.

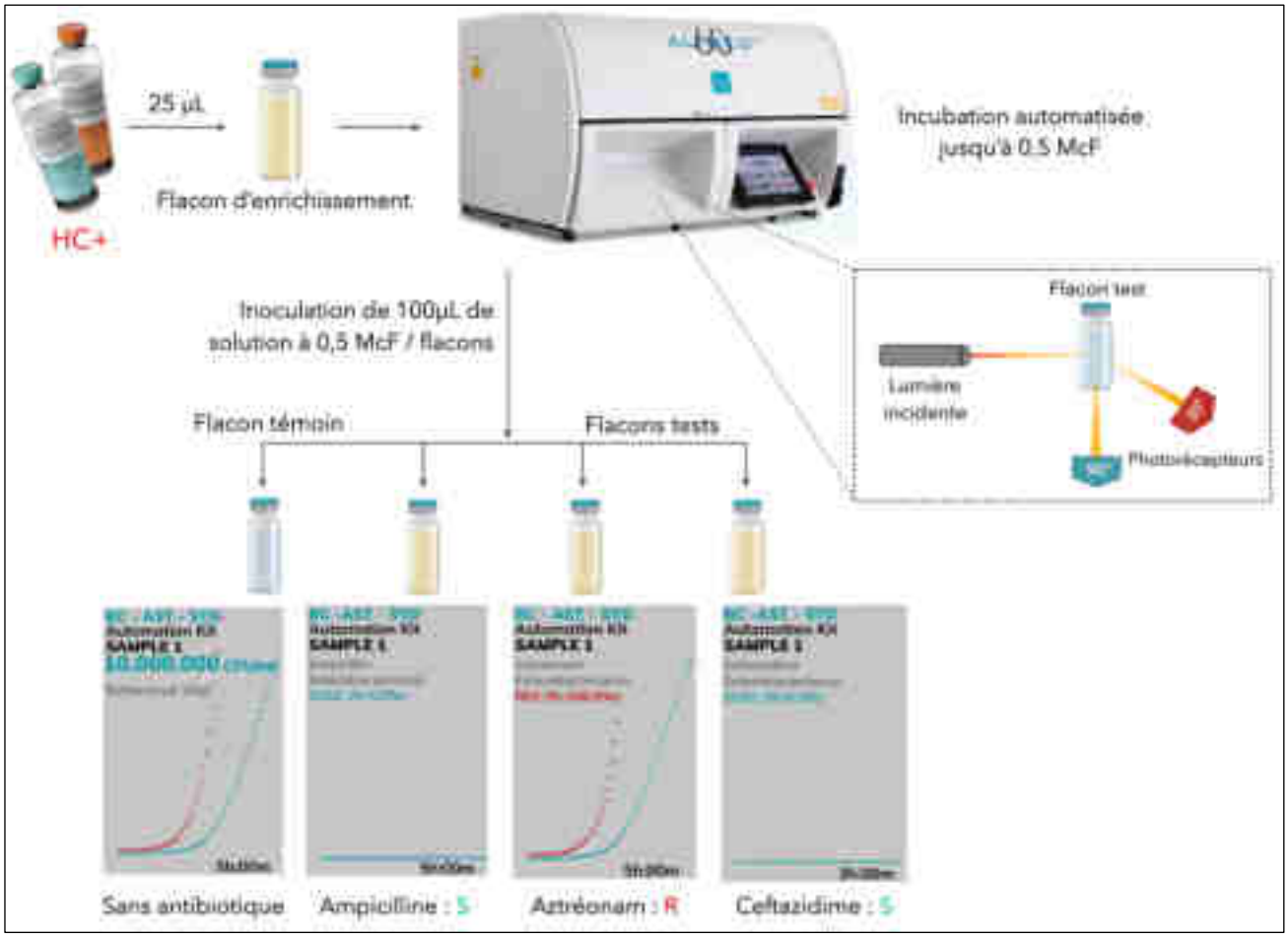


Figure 26 | Principe de l'analyse par diffusion de la lumière de l'automate Alfred 60^{AST} (Réalisée avec Biorender). HC+ : Hémoculture positive.

L'automate intègre une préparation automatisée de l'inoculum avec un incubateur, un module réfrigéré pour stocker les solutions bactériennes à 0,5 McF, ainsi qu'un rack de 64 positions pour les tests. Les

solutions à 0,5 McF sont inoculées dans des fioles tests contenant les antibiotiques selon un panel ajustable par le biologiste. La croissance bactérienne est ensuite mesurée en temps réel par la diffusion de la lumière incidente via des photorécepteurs à 30° et 90° (**Figure 26**). Un algorithme mathématique exprime les résultats en pourcentage d'inhibition par comparaison directe de la croissance dans les fioles tests avec une fiole témoin ne contenant pas d'antibiotique (voir courbes de croissance **Figure 26**). Ces pourcentages d'inhibition sont ensuite catégorisés en « S », « SFP » ou « R » quand ils sont respectivement compris entre 0-35 % et 35-50 % ou s'ils sont > 50 %. Les résultats sont obtenus en 4 à 6 heures, avec possibilité de visualiser et d'interpréter les courbes de croissance en temps réel.

7.2. Performances

Les performances de l'automate Alfred 60^{AST} varient selon les études, principalement en raison de la diversité des panels utilisés, rendant les comparaisons complexes. Bien que les accords de catégorisation soient généralement supérieurs à 90 %, des taux de discordances (VME et ME) non conformes[10] sont signalés dans presque toutes les études (**Tableau 11**).

Tableau 11 | Résumé des études évaluant les performances de l'automate Alfred 60^{AST} ®.

Étude Comparateur	Germes	Performances			Ref
		Performances de catégorisation (%)	Délai de rendu	Commentaire	
Barnini et al., 2016 VITEK	194 BGN et CGP	CA = 90,5 VME = 4,3 (BGN) CA = 93,8 VME = 4,5 (CGP)	-	Comparaison culot vs préincubation	(156)
Giordano et al., 2018 SENSITITRE	58 BGN et CGP	CA = 91,6 VME = 14,5 ME = 4,5	-	Performance CGP > BGN VME sur PTZ et TEI	(256)
Anton-Vazquez et al., 2019 PHOENIX subculture précoce	387 BGN et CGP	CA = 95 (BGN) CA = 89 (CGP)	Gain de 13 h	VME sur GL et CL Performances CGP < BGN	(257)
Boland et al., 2019 PHOENIX culot	275 BGN et CGP	CA = 88,1 VME = 2,3 (CGP) CA = 90,8 VME = 5,6 (BGN)	Gain de 7,6 h	VME sur PTZ Bonne détection résistance C3G	(258)
Sánchez-Carrillo et al., 2019 MICROSCAN	115 BGN et CGP	CA = 97,1	-	VME sur PTZ, GL	(259)
Van Den Poel et al., 2020 VITEK et DMG	175 BGN et CGP	CA = 93,4 VME = 6,9 ME = 3,8	-	Discordances : PTZ et CL	(260)
Mantzana et al., 2021 VITEK et MML	176 BGN et CGP	CA = 94,05	≈ 6-6,5 h	Discordances FOX (CGP)	(261)
Cupaiolo et al., 2022 VITEK culot	233 BGN et CGP	CA = 94,9 VME = 7,4 ME = 3,0	Gain de 5,7 h	Bonne détection BLSE Discordances : CL, ME Comparaison inocula 2 vs 7 gouttes	(262)
Potvin et al., 2023 VITEK colonie	53 EB et ENT	-	Gain de 19 h		(263)

CL : clindamycine; DMG : diffusion en milieu gélosé; EB : entérobactéries; ENT : entérocoques; FOX : céfoxitine; GL : glycopeptides; ME : méropénème; PTZ : pipéracilline-tazobactam; TEI : téicoplanine.

[10] Critère FDA : EA et CA ≥ 90% ; ME ≤ 3% ; VME ≤ 1,5% ; mE <10% échec de pousse < 10 % par genre ou espèces testées.

Des discordances sont principalement observées avec l'association pipéracilline-tazobactam pour les entérobactéries et avec les glycopeptides pour les CGP. L'instabilité des réactifs est largement mise en cause, bien que des améliorations récentes aient réduit ces dernières.
Plusieurs études décrivent également : i) des VME pour la clindamycine chez les staphylocoques, ainsi qu'une incapacité à détecter les phénotypes MLSb inductibles (257,260,262), ii) des ME pour certaines fluoroquinolones (256,262), et iii) des VME pour la céfoxitine chez des staphylocoques (S. *aureus* et staphylocoques non-*aureus*), pouvant avoir un impact clinique potentiellement majeur (261,262).

Même si une étude mentionne l'impossibilité de tester *Acinetobacter* spp. et *Stenotrophomonas* spp. (257), une autre portant sur 25 souches d'*Acinetobacter* montre pourtant d'excellents CA. Néanmoins, des difficultés générales pour les BGN non fermentaires sont mises en avant en raison d'une croissance souvent non optimale (261). Certains ajustements portant sur l'étape de préincubation pourraient néanmoins améliorer ces performances (156).
De même, le délai de rendu pourrait être également réduit par certains ajustements, tels que l'utilisation d'un inoculum de 7 gouttes d'hémoculture au lieu de 2 (262), ou la possibilité de supprimer l'étape de préincubation (156). Toutefois cela entrainait des performances inférieures (CA < 90 %), dans les études correspondantes.

Concernant la détection de profils de résistance, la détection des EPC, des ERG, ainsi que des entérobactéries productrices de BLSE et de CHN fait partie des spécifications annoncées par le fabricant. Cependant, il est difficile de conclure sur les EPC et ERG en raison d'effectifs globalement insuffisants. Le dispositif semble toutefois fiable pour la détection de résistance aux C3G ; particulièrement des EBLSE, bien qu'aucune donnée ne soit disponible concernant les souches surexprimant l'AmpC. Par ailleurs, la détection des SARM, qui ne fait pas partie du panel proposé par le fabricant, montre effectivement de mauvaises performances dans les études disponibles (261,262).

Enfin, une interrogation persiste concernant l'interprétation des résultats de catégorisation clinique. L'absence de détermination des CMI soulève des doutes sur la pertinence de l'attribution de la catégorie « SFP » (ou « I ») par l'automate, d'autant plus que celle-ci n'existe pas systématiquement pour tous les couples antibiotique/bactérie, tout comme les posologies correspondantes. Il est ainsi possible d'avoir des résultats « S »/« R » sans catégorie « SFP », ou « SFP »/« R » sans catégorie « S ». De plus, pour les molécules disposant d'une ZIT, les résultats pourraient être discordants par rapport aux méthodes de référence.

7.3. Impact clinique

Une étude montre un délai médian significativement réduit pour obtenir une antibiothérapie adaptée, avec un gain de 17,5 heures par rapport au standard (BD Phoenix testé sur subculture précoce de 4 heures) dans une cohorte de patients présentant des bactériémies à BGN (264). Chez les patients ayant une antibiothérapie initiale inefficace, le délai pour optimiser l'antibiothérapie était également significativement réduit (39,5 vs 57 heures). Cependant, aucune différence en termes de mortalité ou de durée d'hospitalisation n'a pu être mise en évidence.

Avantages :

Le test Alfred 60^{AST} à un coût estimé à 30-40 € par échantillon, avec une préparation automatisée de celui-ci et un chargement en continu (257,263). Le système est ouvert, tout automatisé, avec un panel d'antibiotiques adaptable, et une capacité pouvant être augmentée par des carrousels satellites. Son insertion dans le flux de travail d'un laboratoire semble assez aisée. Les premiers résultats sont disponibles dès 4 heures, avec une visualisation précoce des courbes permettant une interprétation rapide des résistances (259). Enfin, on peut mettre en avant la polyvalence globale du système [applications multiples : dosages, culture (urines et liquides) et antibiogrammes], et la possibilité d'obtenir un résultat indépendamment de la connaissance de l'identification (résultat brut).

Limites :

L'automate est à l'origine de trop nombreuses discordances, souvent attribuées à l'instabilité des réactifs. De plus, on manque d'évaluation pour certains genres bactériens (BGN-NF, streptocoques, entérocoques). Enfin, bien que la méthode soit « phénotypique », le résultat ne peut pas être interprété avec les valeurs critiques du CA-SFM/EUCAST (CMI), et la catégorisation clinique rendue peut-être discutable.

8. Méthodes basées sur la vidéomicroscopie

8.1. AcceleratePheno™

AcceleratePheno™ (Société Accelerate diagnostic, USA) est un système entièrement automatisé, disposant du marquage CE-IVD. À partir d'hémocultures positives, il réalise une identification, par FISH et un antibiogramme phénotypique (CMI), basé sur une analyse morphocinétique cellulaire, en environ 7 heures. L'unique kit d'analyse se compose d'un panel de 19 molécules[11] pour des BGN[12] et six molécules[13] pour des CGP[14].

8.1.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture

Le système AcceleratePheno™ se compose d'un à huit modules, chacun étant capable de ne traiter qu'un seul échantillon. Le kit PhenoTest™ BC inclut un flacon échantillon pour préparer l'inoculum, une cartouche de réactifs avec les sondes de FISH et les antibiotiques, et une cassette test avec 48 cellules à écoulement (**Figure 27**).

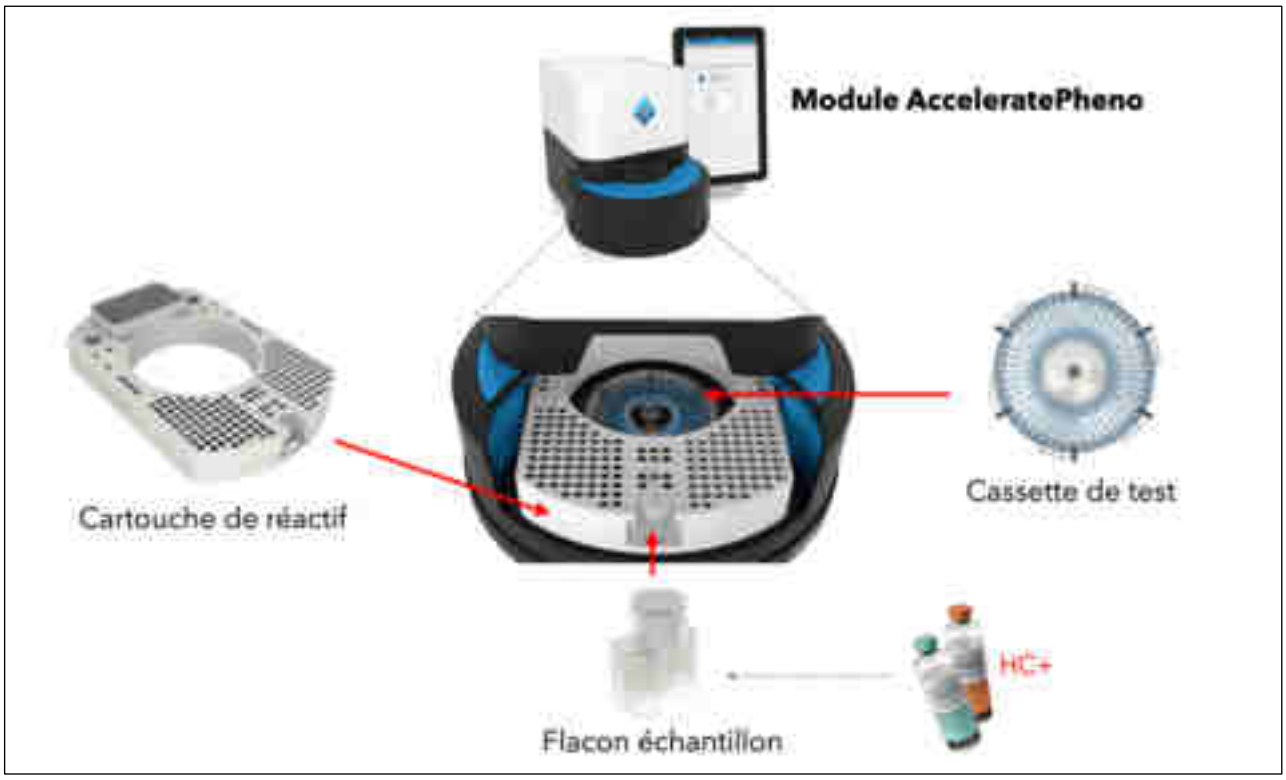


Figure 27 | Module AcceleratePheno™ et kit PhenoTest™ BC (Réalisée avec Biorender). HC+ : Hémoculture positive.

[11] Ampicilline, amoxicilline-acide clavulanique, pipéracilline-tazobactam, ceftazidime-avibactam, ceftolozane-tazobactam, céfazoline, céfuroxime, ceftriaxone, ceftazidime, céfépime, aztréonam, ertapénème, méropénème, gentamicine, tobramycine, amikacine, triméthoprime-sulfaméthoxazole, ciprofloxacine, colistine, dépistage AmpC (céfoxitine).

[12] *E. coli, K. oxytoca, K. pneumoniae, E. cloacae, K. aerogenes, P. mirabilis, P. vulgaris, C. freundii, C. koseri, S. capitis, S. epidermidis, S. haemolyticus, S. hominis, S. lugdunensis, S. warneri, S. agalactiae, S. gallolyticus, S. mitis, S. oralis, S. pneumoniae., S. marcescens, P. aeruginosa, A. baumannii*.

[13] Ampicilline, céftaroline, triméthoprime-sulfaméthoxazole, daptomycine, linézolide, vancomycine, résistance à la méticilline (céfoxitine).

[14] *S. aureus, S. lugdunensis,* staphylocoques à coagulase négative*, E. faecalis, E. faecium, Streptococcus* spp.*, S. agalactiae.*

Pour démarrer un test, la cassette et la cartouche sont chargées dans le module, et le flacon rempli avec 0,5 mL d'hémoculture. L'inoculum est automatiquement préparé par lyse et électrophorèse, puis transféré dans la cassette test. Après une préincubation standardisant l'inoculum, les bactéries sont positionnées sur la surface de la cellule à écoulement par application d'un courant électrique. L'identification bactérienne est réalisée par FISH, suivie de l'ajout d'un milieu de culture avec les différents antibiotiques. La croissance bactérienne est ensuite évaluée par vidéomicroscopie toutes les 10 minutes pendant 5 heures (**Figure 28**).

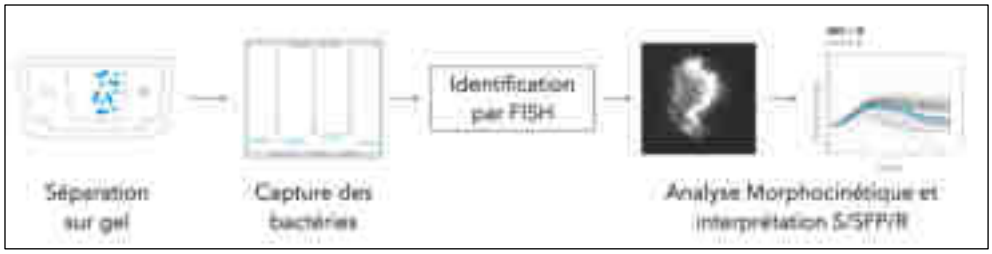


Figure 28 | Étapes de traitement d'un échantillon par AcceleratePheno™ (Réalisée avec Biorender).

La technique repose sur l'analyse de l'évolution morphologique et cinétique de microcolonies bactériennes en présence d'un antibiotique donné (**Figure 29**). Plusieurs paramètres sont évalués, notamment l'aire des microcolonies, leurs modes de croissances, leurs temps de doublements, l'intensité lumineuse et leurs morphologies (**Figure 29**). Le profil morphocinétique est ensuite comparé à une banque de profils de références qui ont été corrélées à des CMI obtenues en microdilution. La catégorisation clinique « S » / « SFP » / « R » qui en découle est déterminée et interprétée selon les règles de l'EUCAST par le logiciel expert.

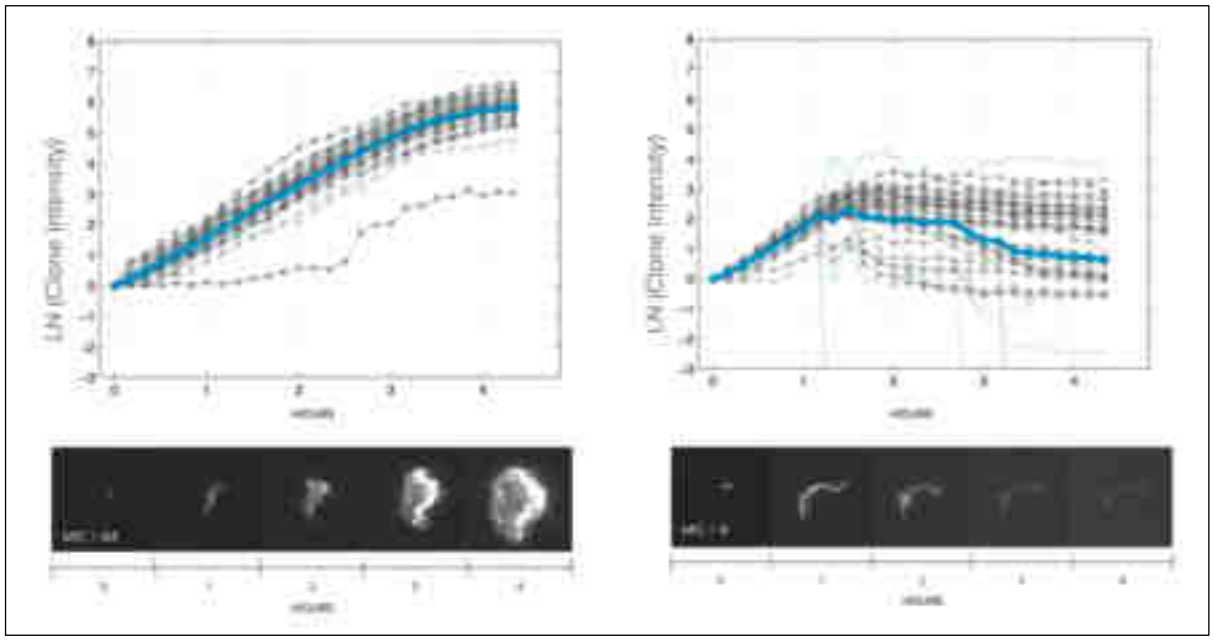


Figure 29 | Analyse morphocinétique cellulaire (MCA). Représentation des paramètres d'une souche d'*E. coli* résistante **à gauche** et sensible **à droite**. Les graphiques représentent les courbes de croissance. En dessous se trouvent les photos de microcolonies. (acceleratediagnostics.com)

L'automate peut prendre en charge un échantillon polymicrobien contenant jusqu'à trois espèces différentes pour l'identification ; cependant, le profil de résistance ne sera rendu que pour la bactérie prédominante. En cas de bactéries présentes en proportion identique, aucun résultat de sensibilité ne pourra être rendu par l'automate.

8.1.2. Performances

Depuis 2017, de nombreuses études indépendantes ont évalué les performances de l'automate AcceleratePheno™ (**Tableau 12**).

Tableau 12 | Résumé des études évaluant les performances de l'automate AcceleratePheno™.

Étude comparateur	(N) Germes	Performances			Ref
		Performance catégorisation %	Délai de rendu	Commentaire	
Marschal et al., 2017 VITEK 2 subculture	95 BGN	CA = 96,4 VME = 1,0 ME = 2,3	Gain de 40,4 h	100 % détection BLSE	(265)
Descours et al., 2018 VITEK 2 subculture	104 BGN	CA = 93,7 EA = 92,3	Gain de 24,4 h	Mauvaise performance si polymicrobien	(266)
Giordano et al., 2018 SENSITITRE	50 BGN 10 CGP	CA = 91,3 EA = 81,8 VME = 3,1 ME = 4,1	-	VME sur PTZ 100 % détection MLSb	(256)
Pancholi et al., 2018 MML et DMG	1938 BGN et CGP	BGN : CA = 97,9 VME = 1 ME = 0,7 CGP : CA = 94,3 VME = 0,5 ME = 0,9	-	Multicentrique 96 % détection MRSA et MLSb	(267)
Charnot et al., 2018 VITEK 2 subculture	232 BGN et CGP	CA = 95,5 EA = 95,1 VME = 0,1 ME = 0,3	Gain de 41,9 h	Peu de résistances CA = 50 % pour pyo	(268)
Pantel et al., 2018 DMG et/ou E-test	105 BGN	CA = 94,9 VME = 0,7 ME = 0,3	-	Panel de multirésistance : BLSE, CHN, EPC (> 95 % détection)	(269)
Lutgring et al., 2018 MICROSCAN subculture	146 BGN et CGP	CA = 94,1 VME = 3,0 ME = 0,4	Gain de 48,4 h	30 % de tests en échec 86 % détection MLSb	(270)
Burnham et al., 2019 DMG et/ou E-test subculture	125 BGN	CA = 92,0 VME = 0 ME = 0,8	Gain de 40,8 h	Échec du test dans 12 % des cas CA < 90 % pour CAZ et PTZ	(271)
Elliott et al., 2019 VITEK 2 subculture	87 BGN	CA = 95,4 EA = 96,1 VME = 0 ME = 0	Gain de 36,7 h	-	(272)
De Angelis et al., 2019 MML	62 BGN 24 CGP	CA = 92,7 VME = 3,6 ME = 2,2	-	Détection 100 % SARM	(273)
Schneider et al., 2019 VITEK 2 subculture	149 BGN	CA = 93,5 EA = 94,5	Gain de 26 h	Bonne détection BLSE	(274)
De Socio et al., 2020 MICRONAUT	28 BGN	CA = 97,9 VME = 0,2 ME = 1,5	-	-	(275)
Banerjee et al., 2021 DMG et/ou MML subculture	448	VME = 0,1 ME = 1	Gain de 36 h	ECR	(276)
Patel et al., 2021 DMG	263 EB 21 Pyo	CA > 90	-	CA < 90 % pour certaines β-lactamines. Performances variables pyo	(277)
Sze et al., 2021 DMG	60 BGN 37 CGP	CA = 90,3 EA = 93,2 (BGN) CA = 97,2 EA = 98,9 (CGP)	-	Dépistage 100 % BLSE EPC SARM	(220)
Truong et al., 2022 PHOENIX culot	162 BGN	CA = 91,5 % VME = 0,1 ME = 1,1	Gain de 13,3 h	7,4 % de mE vers la résistance CA sur BGN-NF = 64,4 %	(278)

CAZ : ceftazidime; DMS : diffusion en milieu solide; ECR : essai clinique randomisé; MML : microdilution en milieu liquide; pyo : P. aeruginosa; PTZ : pipéracilline-tazobactam; ≠ : différence.

De manière globale, les études s'accordent sur de bonnes performances, satisfaisant les critères de la FDA[15], avec des CA allant de 90 à 98 %.

Les performances pour les CGP sont excellentes, avec des CA > 90 % dans toutes les études. De plus la détection des SARM ou des phénotypes MLSb apparait très performante (220,267,268,270,273). De rares discordances sont notées : quelques VME avec la céfoxitine (SCN) et des ME avec le triméthoprime-sulfaméthoxazole pour *S. aureus* et *S. lugdunensis* (267).

Concernant les BGN, les études mentionnent de très bonnes performances pour les entérobactéries avec la plupart des molécules, mais des résultats plus variables pour certaines β-lactamines et pour *P. aeruginosa*. Des CA < 90 % sont en effet rapportés dans deux études pour plusieurs β-lactamines importantes chez les BGN (entérobactéries et BGN-NF), notamment le céfépime, l'association pipéracilline-tazobactam et la ceftazidime (266,277) ; dans l'étude la plus récente, toutes les β-lactamines avaient même un CA < 80 % pour *P. aeruginosa* (277).
Les discordances les plus fréquemment rencontrées pour les BGN sont observées avec l'ampicilline-sulbactam, la ceftazidime et l'association pipéracilline-tazobactam. La fréquence élevée de ME avec ces molécules pour les BGN-NF a même conduit un laboratoire à retarder le rendu de ces molécules et à les vérifier systématiquement par une méthode complémentaire (278).
Pour les BGN, une étude portant sur 100 souches d'entérobactéries présentant divers profils de résistance (BLSE, CHN et carbapénémases) montre la bonne capacité du système à mettre en évidence ces phénotypes de résistances, avec un CA de 95 % et de très faibles taux de VME et ME (269) ; plusieurs autres études retrouvent des résultats similaires (220,265,274).

Enfin, l'automate AcceleratePheno™ permet un gain de temps (10 à 50 heures selon les sources et les méthodes utilisées pour la comparaison). Avec un délai de rendu moyen se situant entre 5 et 7 h, il est possible d'obtenir un antibiogramme complet le jour même de la positivité d'un flacon d'hémoculture.

8.1.3. Impact clinique

À ce jour, une seule étude clinique randomisée a évalué l'impact clinique de l'automate AcceleratePheno™ par rapport à un standard (276). Cette étude met en évidence un gain de temps de 24,8 heures pour la première adaptation thérapeutique. Cependant, le standard utilisé étant l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé réalisé à partir d'une subculture, la réduction des délais est attendue. Il faut noter que dans cette étude, aucun impact sur la durée d'hospitalisation ou la mortalité n'a été mis en évidence.

[15] Critères FDA : EA et CA ≥ 90 % ; ME ≤ 3 % ; VME ≤ 1,5 % ; mE <10 % échec de pousse < 10 % par genre ou espèces testées.

Par ailleurs, plusieurs études « pseudo-expérimentales » ont comparé l'évolution de l'attitude thérapeutique après l'implémentation de l'automate AcceleratePheno™. Ces études mettent notamment en évidence une réduction significative de la durée des antibiothérapies à large spectre (278–281), des délais nécessaires à l'obtention d'une antibiothérapie optimale, avec des gains de temps allant de 11 à plus de 22 heures (278,280,282–285) et une diminution des durées moyennes d'hospitalisation pour les bactériémies à BGN (281–284). Mis à part une étude (279), aucun impact sur la mortalité n'est reporté. Il est important de préciser que les établissements dans lesquels se sont déroulées ces études disposaient très majoritairement d'une EMA avant la mise en place de l'automate.

Avantages :

L'automate AcceleratePheno™ offre l'avantage principal d'être complet en réalisant – en plus de l'antibiogramme avec détermination des CMI – une identification par FISH, fournissant ainsi toutes les informations nécessaires pour une hémoculture positive. De plus, les échantillons polymicrobiens peuvent être analysés (jusqu'à trois espèces différentes pour l'identification), mais le profil de résistance n'est fourni que pour l'espèce prédominante. Cependant, si plusieurs bactéries sont présentes en proportions égales, aucun résultat de sensibilité ne pourra être rendu par l'automate.

Limites :

L'automate présente une capacité limitée, sans chargement continu des échantillons. Il ne détermine pas de « véritables » CMI par microdilution et certaines entérobactéries comme *M. morganii* ou *H. alvei* ne font pas partie du panel analysé. Par ailleurs, le taux d'échec des tests peut atteindre 30 % dans certaines études, témoignant d'un certain manque de fiabilité de l'automate (270). Enfin, la capacité du système à produire des résultats même en cas d'échantillon polymicrobien doit être nuancée par la nécessité de réaliser des tests complémentaires pour les bactéries non prédominantes du flacon d'hémoculture.

8.2. QMAC-dRAST™

Le système QMAC-dRAST™ (Société QuantaMatrix, Corée) est une solution tout-automatisée certifiée CE-IVD. Dédié à une utilisation directe à partir de flacons d'hémoculture positifs, le système détermine des CMI par observation vidéomicroscopique accélérée de la croissance bactérienne en présence de dilutions d'antibiotiques. Deux panels sont disponibles : un premier de 15 molécules[16] pour les CGP (*Staphylococcus* spp. et *Enterococcus* spp.) et un second de 18 molécules[17] pour les BGN (*Enterobacterales*, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *S. maltophillia* et *Burkholderia cepacia*/*pseudomallei*), sous forme de plaques de 96 puits avec antibiotiques lyophilisés.

8.2.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture

La **Figure 30** résume les étapes de réalisation d'une antibiogramme sur QMAC-dRAST à partir d'un flacon d'hémoculture positif.

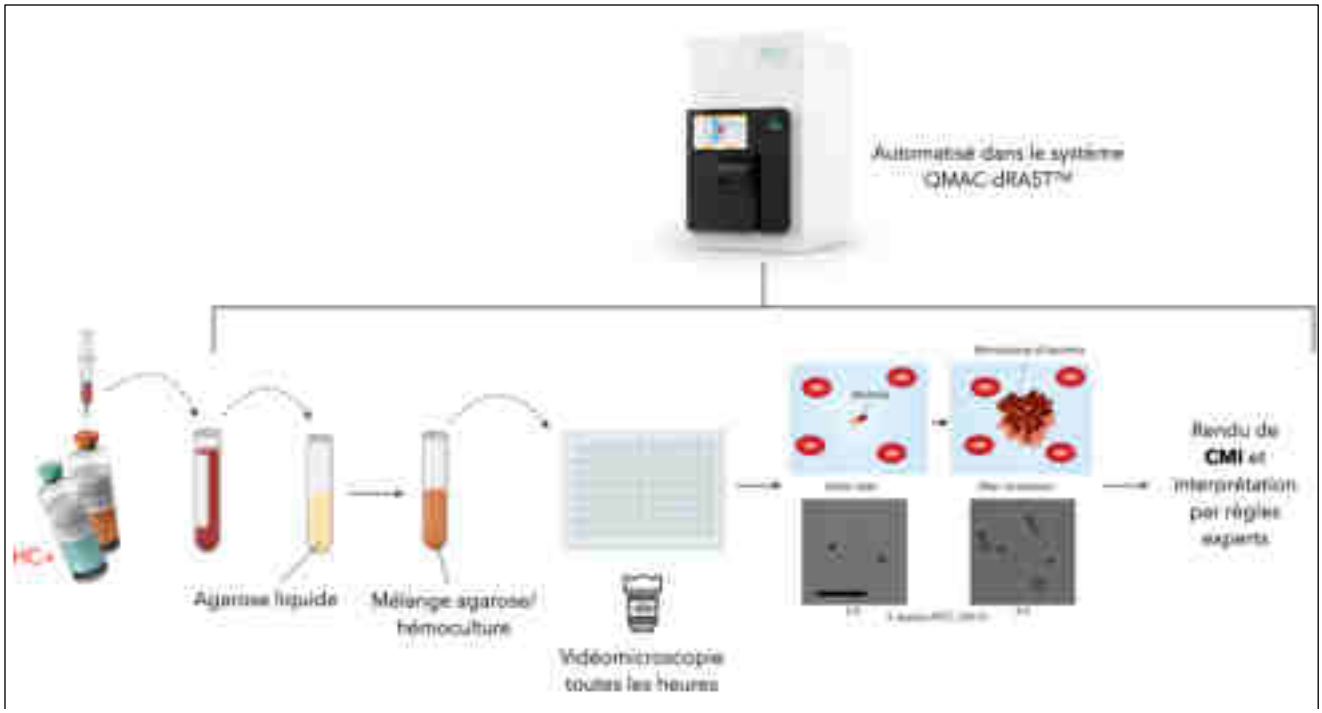


Figure 30 | Fonctionnement d'un antibiogramme QMAC-dRAST™. À l'état initial de l'analyse vidéomicroscopique, on aperçoit uniquement les hématies. Après quatre heures d'incubation, en cas de résistance à l'antibiotique, les bactéries se multiplient et forment des microcolonies. Les triangles pleins représentent des hématies, les triangles vides représentent des microcolonies bactériennes (adapté de Choi et al., 2017 (32) avec Biorender).

[16] Ampicilline, céfoxitine, clindamycine, résistance inductible à la clindamycine, daptomycine, érythromycine, acide fusidique, gentamicine, gentamicine haut-niveau, lévofloxacine, linézolide, oxacilline, pénicilline, rifampicine, streptomycine haut-niveau, téicoplanine, tétracycline, vancomycine.

[17] Amikacine, amoxicilline-acide clavulanique, ampicilline, céfépime, céfotaxime, céfotaxime-acide clavulanique (BLSE), ceftazidime, ceftazidime-avibactam, ceftazidime-acide clavulanique (BLSE), ciprofloxacine, colistine, ertapénème, gentamicine, imipénème, lévofloxacine, méropénème, pipéracilline-tazobactam, triméthoprime-sulfaméthoxazole.

Une dilution directe du contenu de l'hémoculture positive est faite dans de l'agarose liquide. Cette solution est transférée dans les micropuits des plaques dRAST^{TM} GN ou GP. Un bouillon de culture est ensuite ajouté, réhydratant les antibiotiques lyophilisés avec mise en contact du mélange agarose/hémoculture. Toutes ces étapes sont automatisées dans le système dRAST^{TM}, réduisant le temps technique au seul chargement d'un aliquote de l'hémoculture dans un tube à hémolyse. La plaque est ensuite incubée à 37 °C et lue par vidéomicroscopie optique toutes les heures. Les puits sont étudiés à 2, 4 et 6 heures, par comparaison des images. La CMI est déterminée par la première dilution d'antibiotique sans croissance détectée par visualisation de microcolonies (**Figure 30**). L'automate dispose d'un logiciel expert interprétant les résistances naturelles et la catégorisation clinique (« S » / « SFP » / « R ») selon le référentiel EUCAST et la CMI.

8.2.2. Performances

Le **Tableau 13** résume les études indépendantes disponibles ayant évalué les performances de l'automate.

Tableau 13 | Résumé des études évaluant les performances de l'automate QMAC-dRAST^{TM}.

Étude Comparateur	Germes	Performances			Ref
		Performance de catégorisation (%)	Délai de rendu	Commentaires	
Choi et al., 2017 MML subculture	206 CGP et BGN	CA = 91,11 VME = 1,5 ME = 6,7	Gain de 36 h	-	(32)
Huh et al., 2018 MML	110 CGP	CA = 91,5 VME = 1,2 ME = 4,3	≈ 6 h	CA < 90 % pour ENT ME sur CIP (BGN) VME/ME sur glycopeptides (CGP)	(286)
Kim et al., 2018 Microscan	115 CGP	CA = 94,9 EA = 98,3 VME = 1 ME =1,3	≈ 6 h	Bonne détection SARM	(287)
Kim et al., 2019 MML subculture	384 CGP et BGN	CA = 96,1 VME = 3,3 ME = 1,1	Gain de 22 h	Inclusion polymicrobien	(120)
Grohs et al., 2020 DMG	100 BGN	CA = 92,9 VME = 0,8 ME = 3,2	≈ 7 à 8 h	Bonne détection BLSE	(288)
Grohs et al., 2021 DMG	106 BGN	CA = 91 VME = 0 ME = 4,2	≈ 4 à 6 h	Améliorations logicielles réduction temps de rendu	(289)
Rosselin et al., 2022 PHOENIX	250 BGN et CGP	CA = 94,4 VME = 2,6 ME = 2,8	≈ 6,7 h	Bonne détection SARM/BLSE ME/VME sur LEV (BGN)	(290)
Wong et al., 2022 DMG	231 BGN et CGP	CA = 95,5 VME = 13,1 (BGN) 17,7 (CGP) ME = 0,9 (BGN) 1,3 (CGP)	-	Bonne détection SARM VME sur PTZ (BGN)	(291)
Choi et al., 2022 VITEK	80 BGN	EA = 95 CA = 93 VME = 17 ME = 2,3	-	Cohorte d'AmpC VME sur PTZ	(292)
Gallois et al., 2023 Microscan	124 BGN	EA = 95,7 CA = 93,5 VME = 3 ME = 4	≈ 6,6 h	-	(251)

CIP : ciprofloxacine; DMG : diffusion en milieu gélosé; ENT : entérocoques; LEV : lévofloxacine; MML : microdilution en milieu liquide; PTZ : pipéracilline-tazobactam.

Les études sont concordantes, les CA et EA généralement supérieurs à 90 % indiquent une bonne performance globale par rapport aux standards utilisés. Quelques études indiquent cependant des taux de ME et VME non conformes aux critères FDA[18], souvent liés à la faible proportion de souches résistantes testées. Comme pour d'autres méthodes basées sur la microdilution, des discordances sont fréquemment observées pour l'association pipéracilline-tazobactam (293).

Pour la détection des BMR, les résultats sont encourageants, en particulier pour les EBLSE et les SARM. Toutefois, une amélioration de l'algorithme de microscopie est suggérée pour pouvoir mieux détecter les entérobactéries productrices de CHN (292). Les BHRe (ERG et EPC) ainsi que les bactéries non fermentaires étant peu représentées, il est difficile de déterminer les performances du système pour ces dernières.

Par ailleurs, un auteur rapporte que la vidéomicroscopie est peu sensible à des variations d'inoculum allant de 10^5 à 10^7 UFC/mL, après dilution (testée sur plusieurs souches ATCC) (32).

8.2.3. Impact clinique

Une seule étude a évalué l'impact clinique de l'automate comme méthode rapide (294). Il s'agit d'une étude clinique randomisée (ECR) monocentrique, menée sur un effectif total de 89 patients bactériémiques. L'efficacité des recommandations d'une EMA basées sur les résultats rapides de l'automate QMAC-dRAST™ était analysée comparativement à celles basées sur un standard, correspondant ici à l'antibiogramme Vitek réalisé à partir d'une subculture. Dans cette étude, la méthode QMAC-dRAST™ a permis de réduire le délai nécessaire pour obtenir une antibiothérapie optimale tout en diminuant l'utilisation d'antibiotiques à large spectre. Encore une fois, le gain de temps est attendu, la comparaison étant effectuée avec une méthode réalisée sur subculture.

Avantages :

L'automate QMAC-dRAST™ permet de réaliser un antibiogramme phénotypique rapide avec rendu de CMI. C'est un système tout-automatisé, dédié aux hémocultures, facile d'utilisation et permettant le chargement simultané ou en continu jusqu'à 12 échantillons. Ses premiers résultats sont disponibles dès 4 heures et contrairement aux techniques « classique » de microdilution, la méthode semble peu impactée par la variabilité de l'inoculum (295).

[18] Critères FDA : EA et CA ≥ 90 % ; ME ≤ 3 % ; VME ≤ 1,5 % ; mE <10 % échec de pousse < 10 % par genre ou espèces testées.

Limites :

Plusieurs études obtiennent des taux non conformes de VME et ME. Des discordances récurrentes sont notamment décrites pour la pipéracilline-tazobactam ainsi que pour certaines fluoroquinolones. Par ailleurs, il est nécessaire de disposer de l'identification pour obtenir le résultat (pas de rendu brut, nécessité de déterminer l'identification en parallèle) et le panel des molécules testées n'est pas modulable. On peut également noter un manque dans le panel CGP avec les streptocoques qui ne sont pour l'instant pas validés sur cet automate. Enfin, aucune étude ne mentionne le prix de l'acquisition d'un tel automate.

8.3. ASTar™

L'automate ASTar™ (Société Q-Linea, Suède) permet la réalisation entièrement automatisée d'antibiogrammes phénotypiques, en 6 heures à partir d'hémocultures positives. Le système a obtenu le marquage CE-IVD en 2021. Il s'agit d'une méthode en microdilution, dont l'analyse est basée sur la vidéomicroscopie accélérée, permettant l'obtention de CMI. Actuellement, seul le disque pour BGN[19] est validé, comportant un panel de 23 antimicrobiens[20].

8.3.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture

La **Figure 31** résume les étapes de réalisation d'un antibiogramme sur l'ASTar™ à partir d'hémoculture.

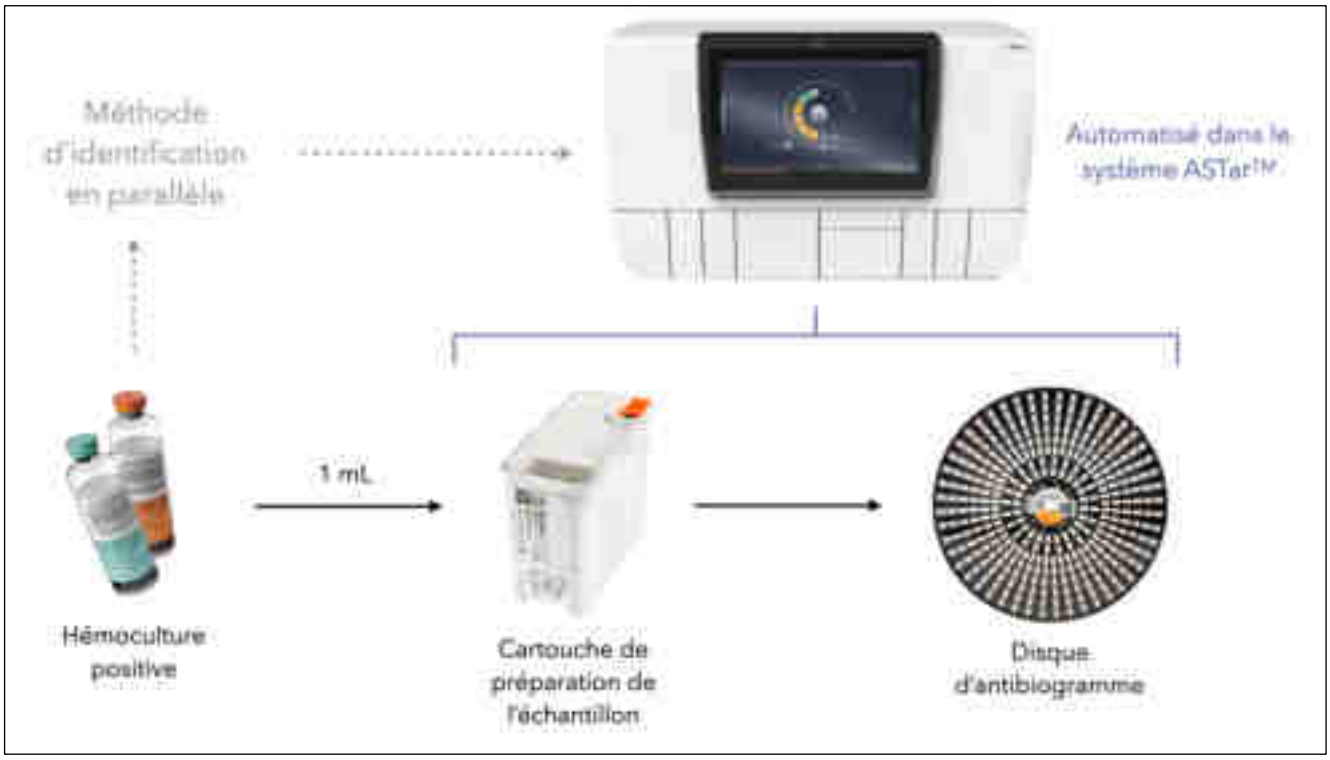


Figure 31 | Flux de travail de l'automate ASTar™ pour la réalisation d'un antibiogramme (Réalisée avec Biorender).

Une fois l'aliquote d'hémoculture positive ajoutée à la cartouche de préparation (moins de 3 minutes), l'automate prend en charge toutes les étapes suivantes. Les bactéries sont isolées du sang par lyse et filtration. L'inoculum filtré est ajusté en deux solutions (allant de 2×10^5 à 8×10^5 UFC/mL), l'une en bouillon MH et l'autre en bouillon MH avec sang de cheval, pour les microorganismes exigeants. Les suspensions sont déposées sur un disque d'antibiogramme comportant 330 micropuits, la durée

[19] *E. coli, K. pneumoniae, K. oxytoca, K. aerogenes, P. mirabilis, P. vulgaris, E. cloacae, C. freundii, C. koseri, S. marcescens, M. morganii, P. aeruginosa, A. baumannii* et *H. influenzae.*

[20] Amoxicilline-acide clavulanique, ampicilline, pipéracilline-tazobactam, céfazoline, céfépime, céfotaxime, céfoxitine, ceftazidime, ceftazidime-avibactam, ceftolozane-tazobactam, ceftriaxone, céfuroxime, ertapénème, méropénème, aztréonam, ciprofloxacine, lévofloxacine, amikacine, gentamicine, tobramycine, tigécycline, colistine et triméthoprime-sulfaméthoxazole.

d'incubation est de 6 heures, avec un suivi par vidéomicroscopie. L'identification du micro-organisme (qui doit être obtenue avec une autre méthode) permet ensuite d'interpréter les CMI obtenues selon les règles du CA-SFM/EUCAST. L'automate peut analyser 12 disques d'antibiogrammes en parallèle ; cependant, il n'est possible de charger l'automate qu'avec cinq échantillons simultanément. Il faut donc attendre que la préparation de l'inoculum soit effectuée et transférée vers les disques (environ 40 min) avant de pouvoir charger de nouvelles cartouches d'échantillons.

8.3.2. Performances

Bien que la méthode soit disponible depuis plusieurs années, les données sur ses performances restent limitées (**Tableau 14**).

Tableau 14 | Résumé des études évaluant les performances de l'automate ASTar™.

Étude Comparateur	Germes	Performances			Ref
		Performances de catégorisation (%)	Délai de rendu	Commentaire	
Esse et al., 2023 VITEK subculture précoce	78 BGN	EA = 90,7 CA = 95,6 VME = 2,4 ME = 2	Gain de 16 h	ME avec AMC et colistine VME sur PTZ, SXT et CTX	(296)
Göransson et al., 2023 MML	486 BGN	EA = 95,8 CA = 97,6 VME = 2,4 ME = 0,9	-	VME sur gentamicine	(297)
Banchini et al., 2024 Microscan	43 BGN	EA = 98 CA = 96,1 VME = 3,3 ME = 2,5	-	VME sur gentamicine et ceftolozane-tazobactam	(298)

AMC : amoxicilline-acide clavulanique; CTX : céfotaxime; MML : microdilution en milieu liquide; PTZ : pipéracilline-tazobactam; SXT : triméthoprime-sulfaméthoxazole.

Les trois études disponibles à ce jour rapportent des performances de catégorisation satisfaisantes, avec des CA globaux > 95 %. Des VME sont cependant mises en évidence, avec des taux supérieurs aux critères de la FDA[21]. Toutefois, il est pour l'instant difficile d'identifier si certaines molécules sont plus concernées par cette problématique que d'autres, mais la gentamicine est plus particulièrement citée dans deux des trois articles. Le gain de temps semble effectivement important, avec un rendu de résultat raccourci de 16 heures par rapport à une méthode conventionnelle : l'antibiogramme VITEK réalisé à partir de subcultures précoces (296).

8.3.3. Impact clinique

L'étude clinique RASTA, visant à évaluer l'impact de résultats précoces de sensibilité obtenus avec l'automate ASTar dans une cohorte de patients présentant des bactériémies à BGN, est en cours d'inclusion au Portugal. Cet essai vise notamment à évaluer les délais nécessaires pour obtenir une antibiothérapie efficace et optimale[22].

[21] FDA : VME < 1,5 %
[22] ClinicalTrials.gov ID : NCT06218277, RASTA trials : https://clinicaltrials.gov/study/NCT06218277?cond=Bacteremia&viewType=Table&page=3&rank=29

Avantages :

L'automate ASTar™ est un système tout automatisé, dédié aux hémocultures. Facile d'utilisation, la capacité de l'automate est bonne, avec un chargement possible en continu. On dispose d'un antibiogramme phénotypique (avec rendu de CMI) pour un large panel de molécules, adapté aux bactériémies à BGN. De plus, les délais d'analyse sont courts, de 6 à 8 heures selon le remplissage du système (6 heures pour le premier échantillon et jusqu'à 8 heures pour le dernier des 12 échantillons).

Limites :

On ne dispose que d'un nombre limité d'études ayant évalué l'automate, limitant pour l'instant la connaissance des performances de celui-ci. Ensuite, le coût de la méthode est élevé [plus de 300 000 $ pour l'acquisition de l'instrument et plus de 100 $ par test (296)], pour un panel de molécules testées non modulable. Le disque pour les CGP, en cours de développement, n'est pas validé pour l'instant. Enfin, comme pour d'autres automates, l'interprétation et le rendu des résultats nécessitent que l'identification soit obtenue en parallèle.

8.4. QuickMIC®

Le système QuickMIC® (Société Gradientech®, Suède) est une méthode automatisée, certifiée CE-IVD depuis 2022, qui permet d'obtenir un antibiogramme phénotypique en environ 3 heures à partir de flacons d'hémoculture positifs. Il utilise une puce microfluidique pour exposer les bactéries à un gradient d'antibiotiques, la croissance bactérienne est ensuite analysée par vidéomicroscopie pour fournir une CMI. Pour l'instant, seule la cassette « QuickMIC GN » destinée aux BGN (entérobactéries et BGN-non fermentaires[23]) est validée, incluant 12 antibiotiques[24].

8.4.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture

La **Figure 32** résume les étapes techniques de réalisation d'un antibiogramme QuickMIC® à partir d'un flacon d'hémoculture positif.

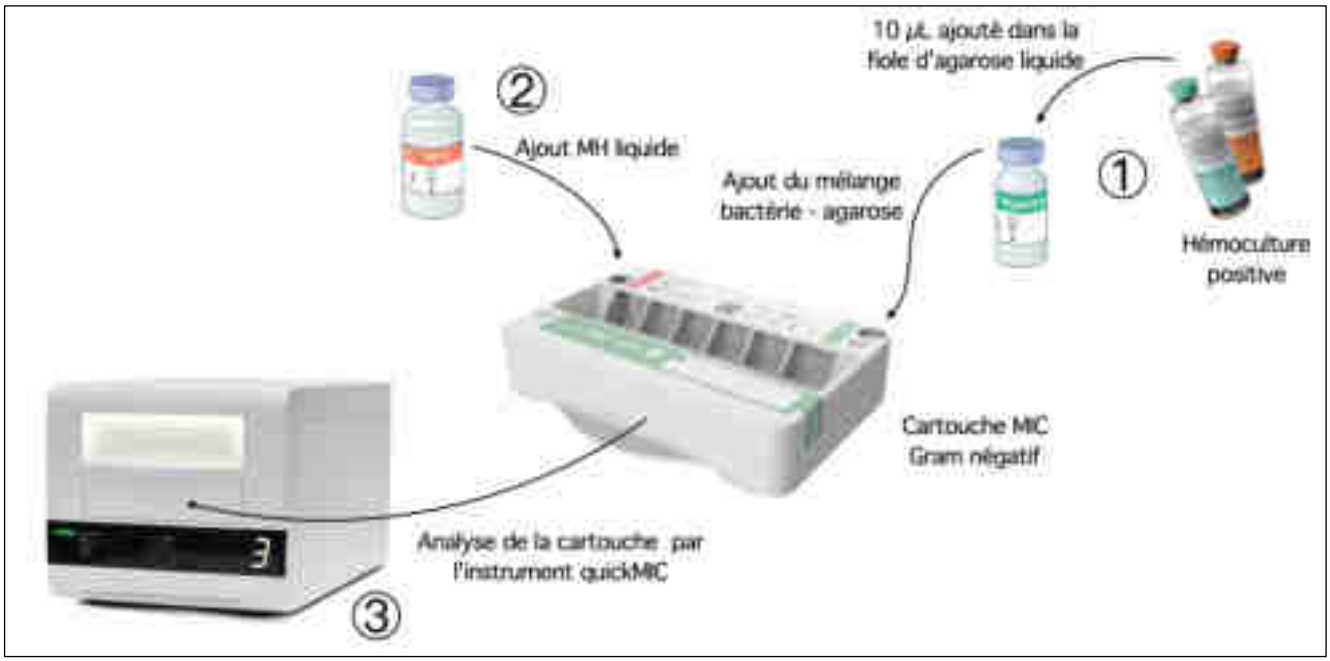


Figure 32 | Préparation d'une cassette quickMIC GN (Réalisée avec Biorender).

① Une dilution de l'hémoculture au 1/200e est préparée en ajoutant 10 µL du bouillon de l'hémoculture positive à l'aide d'une œse calibrée dans la fiole d'agarose prêt-à-l'emploi du kit. La solution obtenue est aspirée à travers une seringue filtrante séparant les bactéries des composés sanguins, puis la solution filtrée est insérée dans la cassette. ② Un milieu de culture liquide « MH II » est ensuite inséré dans la cassette. Dans la puce de microfluidique, la solution bactérienne et la molécule antibiotique diffusent

[23] *E. coli, Klebsiella* spp., *P. aeruginosa, A. baumannii, E. cloacae, S. marcescens, K. pneumoniae, K. oxytoca, K. aerogenes, K. variicola, P. mirabilis, P. vulgaris, C. koseri* et *C. freundii*.
[24] Amikacine, céfépime, ciprofloxacine, colistine, céfotaxime, ceftazidime-avibactam, ceftazidime, gentamicine, méropénème, pipéracilline-tazobactam, tigécycline, tobramycine.

dans la zone de lecture, créant un gradient de concentration en antibiotique. ③ La cartouche est enfin insérée dans l'instrument QuickMIC pour incubation et analyse (**Figure 32**).

Les cartouches sont incubées jusqu'à 4 heures, avec un suivi de la croissance bactérienne toutes les 10 minutes par vidéomicroscopie. L'interprétation repose sur une analyse algorithmique de l'évolution des microcolonies sur un principe similaire à l'AcceleratePheno™ : celles qui n'augmentent pas de taille sont considérées inhibées par l'antibiotique, tandis que celles en expansion sont considérées résistantes. Les CMI correspondent à la concentration de l'antibiotique au niveau de la jonction entre colonie en expansion et colonie inhibée (**Figure 33**). Elles sont recalculées à chaque mesure et reportées lorsqu'il n'y a pas eu de variation de plus de 5 % pendant 30 minutes. Les valeurs de CMI sont fournies de manière brute, sans interprétation spécifique (pas d'interprétation des résultats selon le référentiel européen de l'EUCAST ou selon le référentiel français CA-SFM).

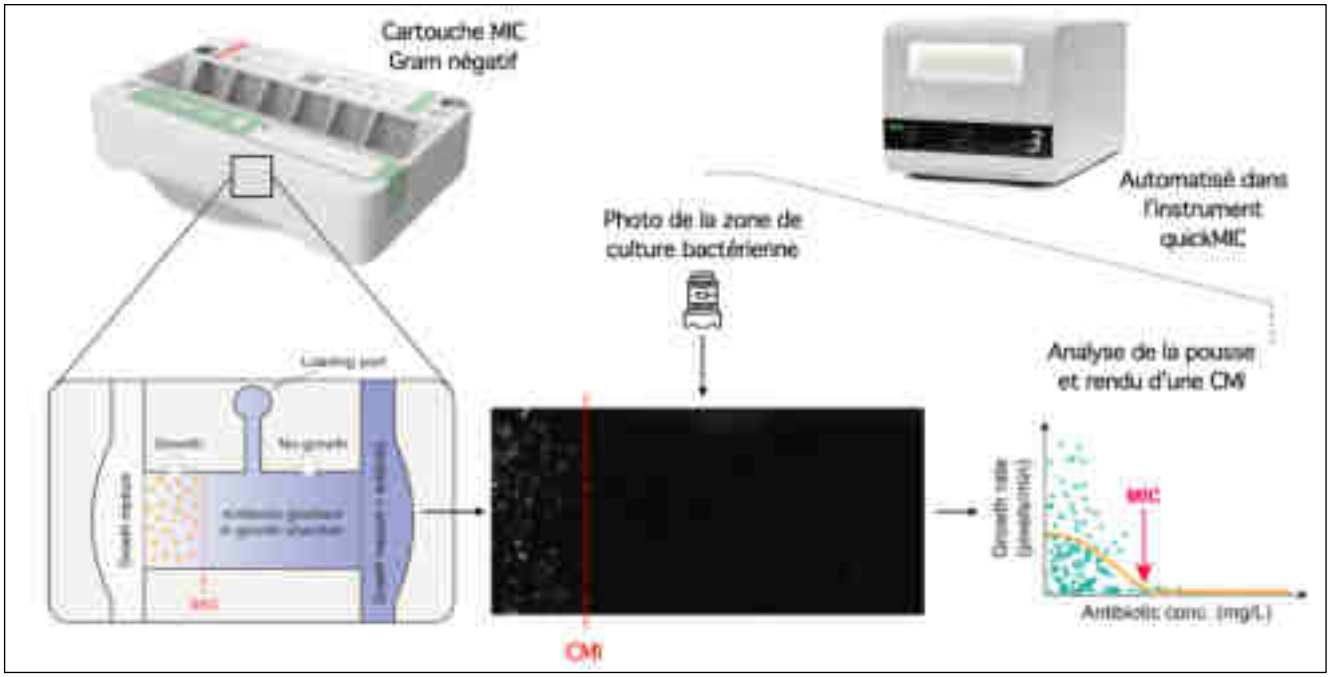


Figure 33 | Principe de la détermination d'une CMI par QuickMIC® (Réalisée avec Biorender). Exemple d'une souche d'*E. coli* cultivée dans un gradient d'amikacine et de sa transposition en CMI.

8.4.2. Performances

Une seule étude a évalué cette méthode (299), testant 151 hémocultures inoculées par des souches de BGN et 41 hémocultures issues de patients. Concernant les souches, les résultats globaux sont décevants (EA = 83,4 %, CA = 87,4 %, VME = 3,4 %), avec de multiples VME portant sur la tigécycline, l'ampicilline, la ceftazidime-avibactam, la tobramycine, la gentamicine et le céfotaxime. Pour l'application à partir d'hémoculture de patients, les résultats sont obtenus dans de très courts délais, avec un gain estimé à 22 heures par rapport à la méthode de référence en France (diffusion en milieu gélosé

directe à partir d'hémoculture). Cependant, même si les résultats obtenus semblent meilleurs pour les isolats cliniques (EA = 91 %, CA = 96,7 %), les faibles effectifs et taux de résistances des souches concernées doivent inciter à la prudence dans l'interprétation de ces résultats de performance.

Avantages :

Le système QuickMIC® se distingue par sa rapidité : les CMI obtenues en environ 3 heures font actuellement de ce système la méthode phénotypique rendant des CMI la plus rapide disponible sur le marché (les autres systèmes proposant des rendus de résultats en 4 heures minimum). L'automate offre un résultat brut, indépendamment de la connaissance de l'identification. De plus, la miniaturisation et la simplicité d'utilisation de l'automate pourraient avoir un intérêt pour des pays à revenu faible ou intermédiaire ou comme automate de biologie délocalisée.

Limites :

Le système est encore en développement et il est actuellement difficile de déterminer précisément ses performances. Toutefois, les quelques données disponibles pointent le risque de discordances par rapport aux méthodes de références. De plus, l'étroitesse des plages de concentrations couvertes par l'automate peut conduire à des résultats « hors échelle » pour des souches très sensibles ou très résistantes, et la cassette pour les CGP n'est pas disponible pour l'instant. Enfin, l'automate produit des résultats sans interprétation ni expertise, c'est donc au microbiologiste de mettre en rapport la CMI, l'identification et la catégorisation clinique correspondante selon le CA-SFM.

9. Méthode basée sur la volatolomique : REVEAL®

Le système VITEK® REVEAL™ (bioMérieux) est une technique automatisée innovante d'antibiogramme phénotypique, dédiée à l'utilisation directe sur flacons d'hémoculture positifs, certifiée CE-IVD en 2020. Cette méthode repose sur une approche appelée « volatolomique », basée sur la détection des composés organiques volatils produits par les bactéries. Il n'existe pour l'instant qu'un unique panel destiné à l'analyse de BGN[25] pour un total de 23 molécules par test[26].

9.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture

L'automate REVEAL se compose d'un module scelleur de plaque, d'un module de lecture avec deux emplacements et d'un écran tactile de contrôle. Le processus commence par la dilution au 1/1000e de l'hémoculture, qui est ensuite distribuée dans une plaque de 96 puits contenant des dilutions d'antibiotiques. La plaque est scellée par un couvercle composé d'un réseau hexagonal de biomarqueurs colorimétriques situés au-dessus de chaque micropuits. Une fois scellée, la plaque est incubée sous agitation et analysée toutes les 10 minutes (**Figure 34**).

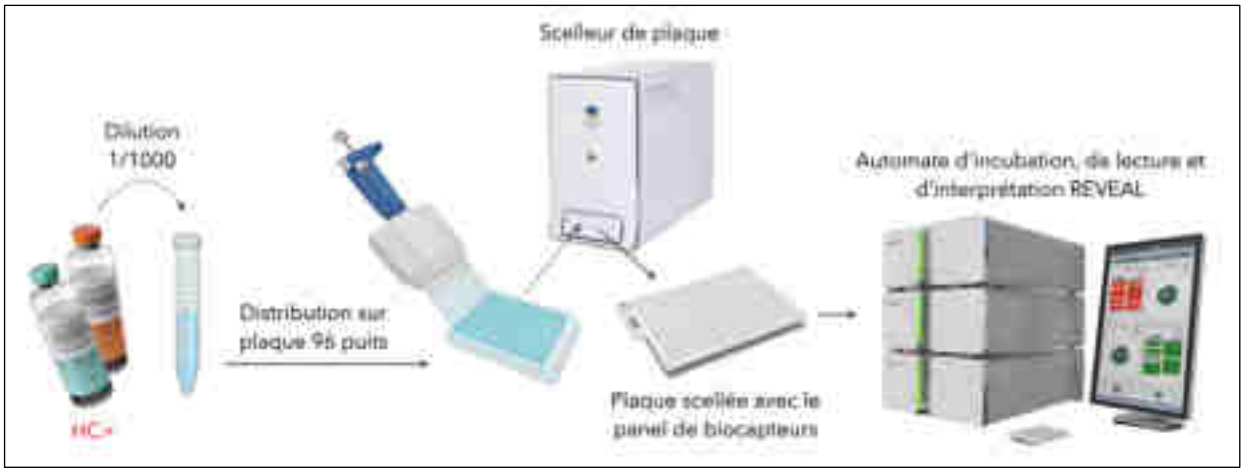


Figure 34 | Étapes de réalisation d'un antibiogramme sur l'automate REVEAL® (Réalisée avec Biorender).

Si une croissance bactérienne intervient dans un puits, des acides organiques volatiles sont alors libérés par les bactéries, induisant un changement de couleur des biocapteurs. L'efficacité antimicrobienne est évaluée dans chaque puits et pour chaque dilution par un suivi cinétique des biocapteurs. Les CMI correspondent à la première dilution de l'antibiotique inhibant la croissance et donc sans activation du capteur (**Figure 35** et **Figure 36**). Ces dernières sont ensuite interprétées selon le référentiel CA-SFM/EUCAST, mais il est nécessaire pour cela de renseigner l'identification de la bactérie testée (devant être obtenue parallèlement par une autre technique).

[25] *A. baumannii, C. freundii, C. koseri, E. cloacae, E. coli, K. aerogenes, K. oxytoca, K. pneumoniae, P. mirabilis,* et *P. aeruginosa*

[26] Amikacine, amoxicilline-acide clavulanique, ampicilline, aztréonam, céfépime, céfotaxime, céfoxitine, ceftazidime, ceftazidime-avibactam, ceftazidime-acide clavulanique, ceftolozane-tazobactam, ciprofloxacine, ertapénème, gentamicine, imipenème, lévofloxacine, méropénème, méropénème-vaborbactam, pipéracilline, pipéracilline-tazobactam, tigécycline, tobramycine, triméthoprime-sulfaméthoxazole.

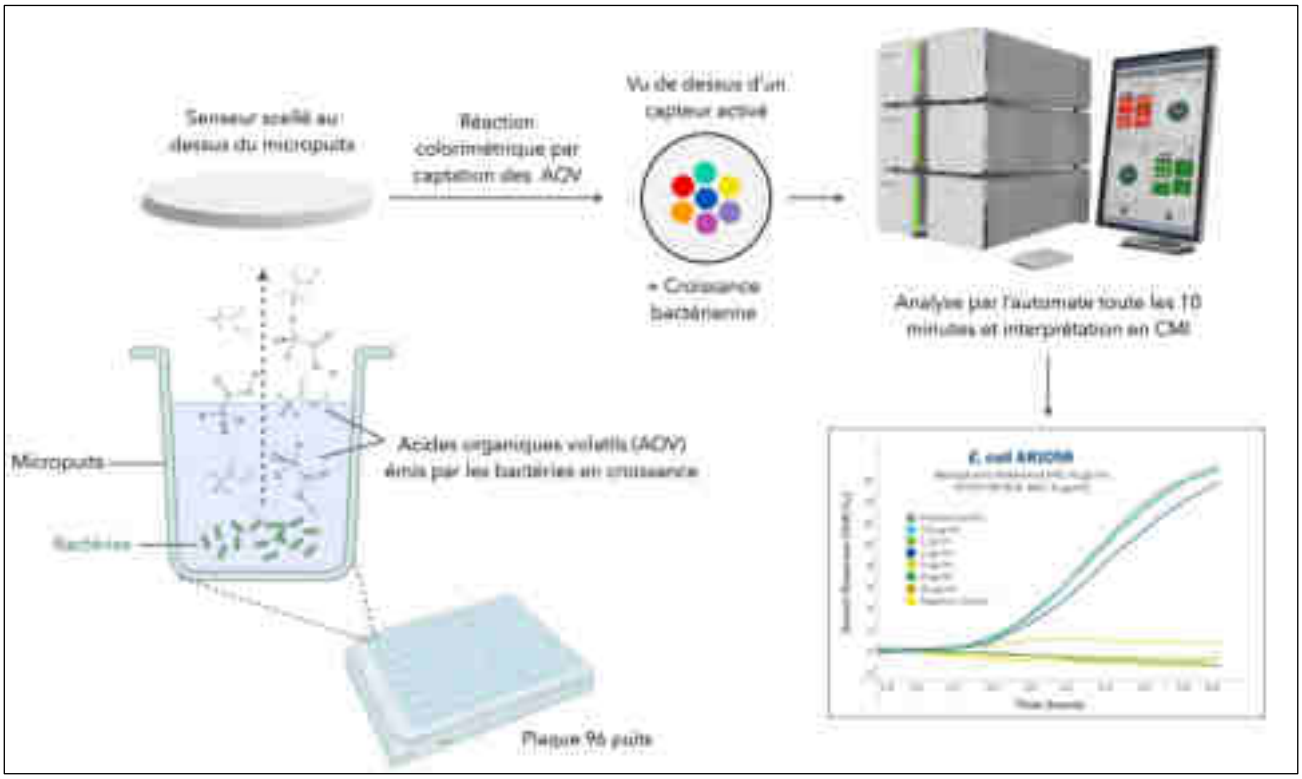


Figure 35 | Principe de la volatolomique utilisée par l'automate REVEAL® (Réalisée avec Biorender).

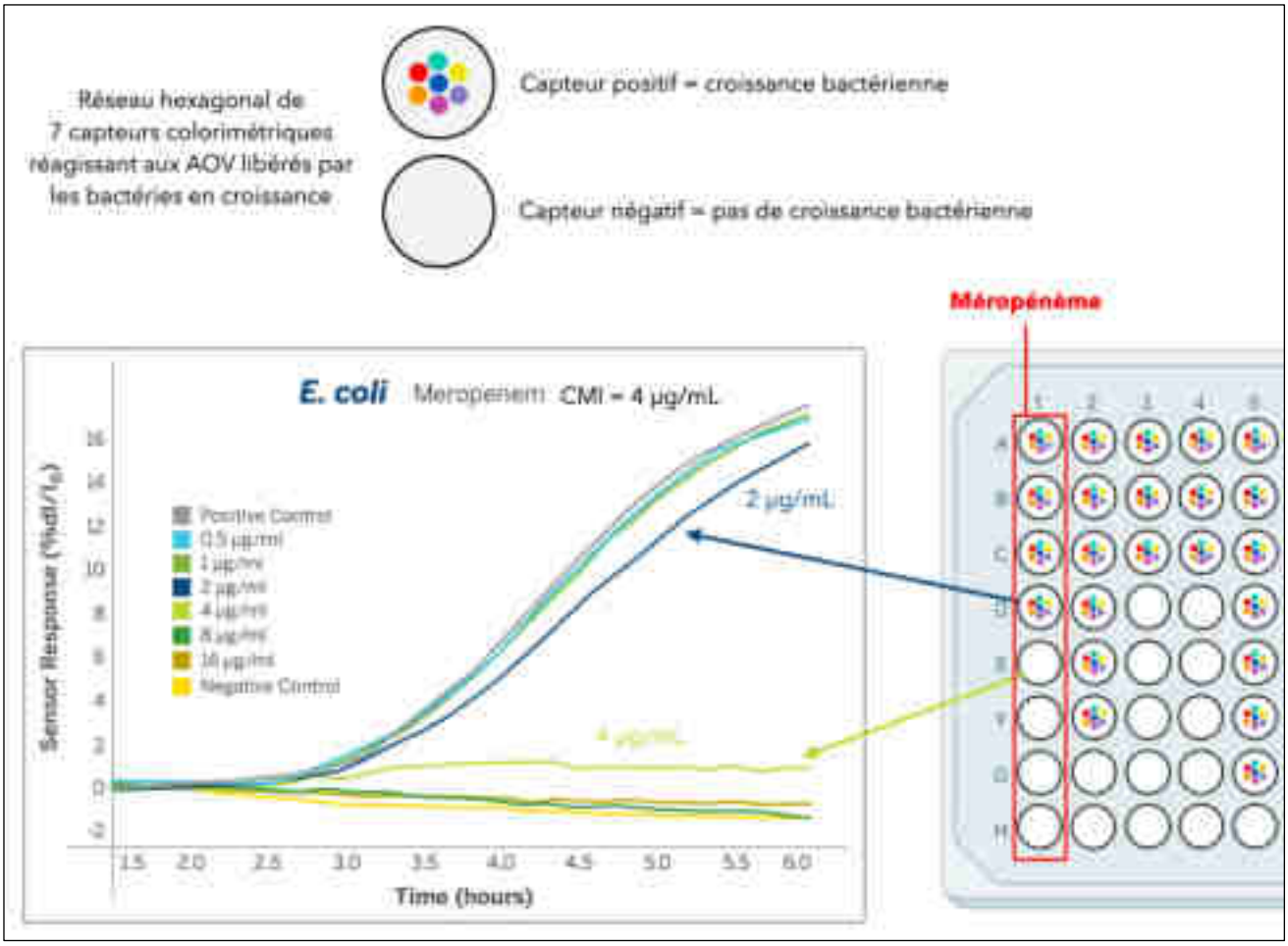


Figure 36 | Détermination d'une CMI par l'automate REVEAL® (Réalisée avec Biorender). AOV : acide organique volatile.

9.2. Performances

La technique étant très récente, il n'existe que quelques évaluations indépendantes de ses performances (**Tableau 15**).

Tableau 15 | Résumé des études évaluant les performances de l'automate VITEK REVEAL®.

Étude Comparateur	Germes	Performances			Ref
		Performances de catégorisation (%)	Délai de rendu	Commentaire	
Rajeev et al., 2021 PCR Carbapénémase	317 BGN	Méropénème : EA = 95,3 CA = 90,9 ME = 6,8 VME = 1,5 Ertapénème : EA = 95,4 CA = 94,5 ME = 0 VME = 1,6 Imipénème : EA = 93,7 CA = 91,5 ME = 5,2 VME = 1,1	-	Souches avec carbapénémases génotypées Détection résistances : 98,4 % REVEAL 62,8 % PCR	DF
Tibbetts et al., 2022 (1) VITEK (2) Sensititre (3) souches	137 BGN	(1) EA = 97 CA = 96,2 ME = 0,3 VME = 1,3 (2) EA = 98 CA = 96,3 ME = 0,3 VME = 1,3 (3) EA = 97,7 CA = 95,3 ME = 0 VME = 1	≈ 4,6 h	33 souches génotypées Détection 100 % BLSE	(33)
Rottman et al. 2022 DMG ou Phoenix	692 BGN	CA = 96,7 ME = 0,8 VME = 0,8	≈ 5,6 h	CNR antibiorésistance (FR) 200 souches de *P. aeruginosa*	(300)
Girlich et al., 2024 DMG	197 EB	CA = 94,1 VME = 3,8 ME = 3,7		177 EPC de phénotype connu	(301)

BGN : bacille à Gram négatif; DF : données fournisseur; DMG : diffusion en milieu gélosé; EB : entérobactéries.

Les résultats obtenus sont globalement homogènes et conformes aux critères de la FDA[27], bien que des discordances aient été observées avec les associations pipéracilline-tazobactam et ampicilline-sulbactam (principalement mE, et quelques VME).

Le système permet une excellente détection des BLSE grâce à la comparaison des puits de ceftazidime et de l'association ceftazidime-acide clavulanique[28], comme recommandé par le CA-SFM (33). Pour la résistance aux carbapénèmes, les bons résultats observés dans une première étude avec un CA > 95 % (Rajeev et al., 2021) n'ont pas été retrouvés dans une étude indépendante plus récente dans laquelle les CA de l'imipénème et du méropénème étaient < 90 % (301). Toutefois, le peu d'études disponibles sur le sujet limite pour l'instant la possibilité de conclure sur les performances de la méthode. Les résultats pour *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sont encourageants, mais trop peu de souches ont été étudiées pour *A. baumannii*. De plus, la technique semble en difficulté avec la détection des entérobactéries productrices de CHN.

[27] Critères FDA : EA et CA ≥ 90 % ; ME ≤ 3 % ; VME ≤ 1,5% ; mE <10 % échec de pousse < 10 % par genre ou espèces testées.

[28] Identification d'une BLSE selon les critères du CA-SFM : diminution d'au moins 3 dilutions d'antibiotique entre C3G et C3G + acide clavulanique.

9.3. Impact clinique

Une étude prospective actuellement en cours au CHU de Nîmes, portant sur une cohorte de patients de réanimation bactériémiques à BGN, vise à évaluer l'impact clinique de l'association du panel d'identification BCID2 BioFire® et d'un antibiogramme par REVEAL®. La capacité de ces deux techniques combinées à optimiser le traitement antibiotique sera comparée à un standard reposant sur l'identification par MALDI-TOF couplée à un antibiogramme par diffusion en milieu gélosé réalisé directement sur flacon d'hémoculture[29].

Avantages :

Approche innovante de détection de la croissance bactérienne par volatolomique, marquant une véritable rupture méthodologique avec les autres techniques de réalisation d'antibiogrammes. Grâce à la modularité de l'automate, cette méthode peut être adaptée aux besoins et au volume de travail des laboratoires. De plus, à l'instar de l'automate QMAC-dRAST™, les résultats obtenus semblent peu sensibles aux variations d'inocula (33).

Limites :

Le test REVEAL doit être couplé à une méthode d'identification directe et ne propose actuellement pas de panel dédié aux CGP. De plus, le panel actuel des BGN n'est pas validé pour certaines entérobactéries (*M. morganii*, *P. mirabilis*, *S. marcescen*s et *H. alvei*), alors que ces espèces peuvent représenter jusqu'à 10 % des bactériémies à entérobactéries, ce qui en fait un panel moyennement adapté (301). En outre, l'absence de validation de la technique pour le couple céfépime – *K. aerogenes* pose également un problème. Enfin, les coûts de la technique sont assez élevés, de l'ordre de 60 000 € pour un module et de 60 à 70 € par test, voire jusqu'à 150 € par test en cas de mise à disposition de l'automate.

[29] ClinicalTrials.gov ID : NCT05741424
https://clinicaltrials.gov/study/NCT05741424?cond=Bacteremia&viewType=Table&page=2&rank=12

10. Méthode basée sur la cytométrie en flux : FASTinov®

La société FASTinov® (Porto, Portugal) a développé des kits d'antibiogrammes phénotypiques basés sur la cytométrie en flux, disposant du marquage CE-IVD. Ils permettent d'obtenir un résultat en 2 heures à partir d'une hémoculture positive. Actuellement, trois kits sont disponibles : un kit CGP (staphylocoques et entérocoques) contenant sept molécules[30], un kit BGN (entérobactéries, *P. aeruginosa* et *A. baumannii*) contenant 12 molécules[31], ainsi qu'un kit pour la résistance à la colistine.

10.1. Préparation de l'inoculum, principe, incubation et lecture

La préparation de l'inoculum n'est pas automatisée, elle implique l'obtention d'un culot d'hémoculture par un kit de type Sepsityper®, resuspendu et ajusté à 0,5 McF. Les panels FASTinov®, sous forme de plaques 96 puits contenant des antibiotiques et une sonde fluorescente, sont ensuite inoculés avec cette suspension et incubés pendant 1 heure à 37 °C sous agitation. En présence d'un antibiotique, les bactéries sensibles subissent des dommages immédiats, ce qui active un fluorochrome se liant aux bactéries lésées. Cette technique se distingue par son indépendance vis-à-vis de la croissance bactérienne[32]. Après incubation, la plaque peut être lue sur un cytomètre commercial préalablement réglé (**Figure 37**).

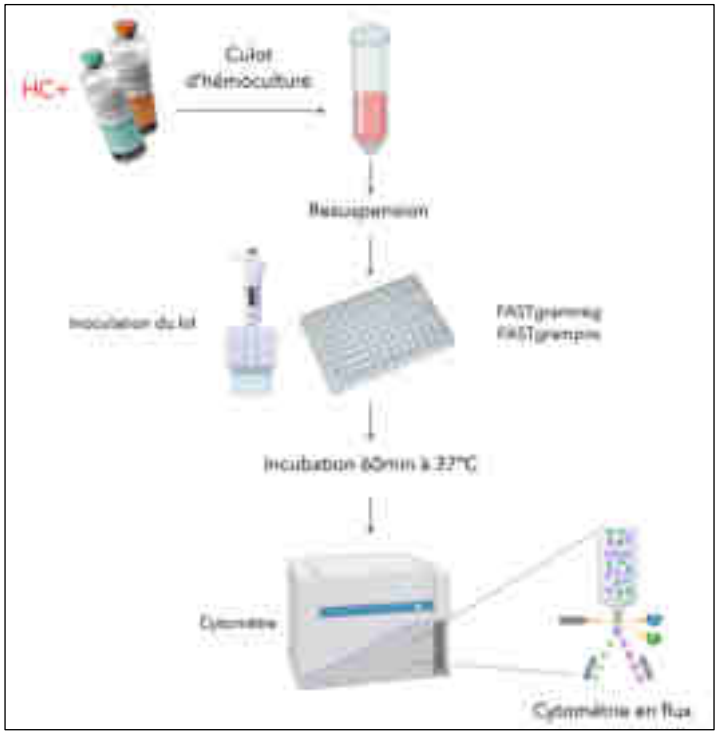


Figure 37 | Étapes de réalisation d'un antibiogramme avec un kit FASTInov® (Adapté de Marutescu, 2023 (303) avec Biorender). HC+ = Hémoculture positive.

[30] Pénicilline, ampicilline, céfoxitine, oxacilline, vancomycine, linézolide, gentamicine.
[31] Ampicilline, amoxicilline-acide clavulanique, céfotaxime, ceftazidime, céfépime, pipéracilline-tazobactam, ceftolozane-tazobactam, ceftazidime-avibactam, méropénème, ciprofloxacine, gentamicine, amikacine.
[32] Une méthode similaire, décrite par Faria-Ramos et al. (302), utilise le fluorochrome DiBAC4(3), qui se lie aux membranes endommagées lorsque leurs potentiels membranaires diminuent.

Le cytomètre permet de lire la fluorescence et de déterminer un certain nombre de paramètres morphologiques, puis les données sont analysées par le logiciel « bioFAST » dédié (**Figure 38**). Le logiciel « valide » la viabilité bactérienne, la concentration de l'inoculum et le fonctionnement des fluorophores. Si ces critères ne sont pas remplis, le test est invalidé. Les résultats peuvent être fournis sans identification pour les souches très sensibles ou résistantes, mais une identification est nécessaire pour obtenir une catégorisation complète et une interprétation des phénotypes[33]. Selon le fabricant, le logiciel permet également d'alerter sur la présence de BLSE, d'AmpC et de carbapénémases. Le temps d'analyse total, incluant la préparation et l'incubation, est de moins de deux heures, avec un temps de lecture de 9 à 39 minutes selon le nombre de molécules du panel et donc de puits.

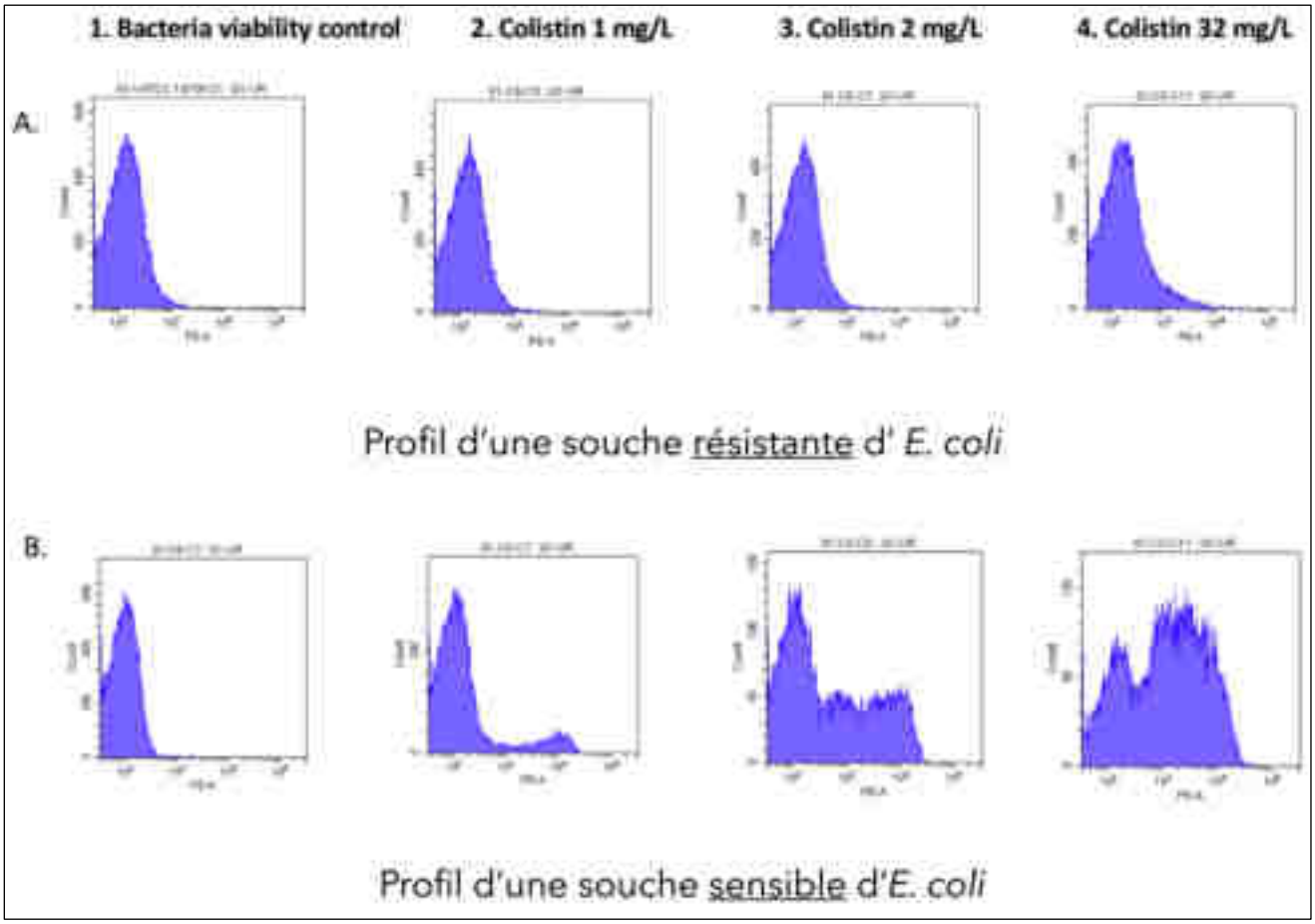


Figure 38 | Profils d'analyse cytométrique de souche sensible et résistante.
A. Souche résistante : pas de variation de l'intensité de fluorescence selon la concentration. **B.** Souche sensible : une augmentation de l'intensité de la fluorescence (décalage de la population en bleu vers la droite) témoigne d'une augmentation de la perméabilité membranaire et de la toxicité de l'antibiotique sur la bactérie. D'après Fonseca E Silva et al., 2019 (304).

[33] Les kits FASTinov fournissent des CMI uniquement pour la vancomycine et la colistine.

10.2. Performances

L'analyse des performances du kit FASTgramneg montre des résultats globalement excellents, avec des CA supérieurs à 96 %, conformes aux normes de la FDA (CA > 90 %) (**Tableau 16**). Bien que peu d'études aient évalué ce kit, les discordances semblent rares et réparties de manière égale entre les molécules du panel, avec quelques VME observées, mais en faible proportion. Une étude indique une détection efficace des phénotypes de résistance (BLSE, CHN, carbapénémases), avec un CA supérieur à 96 % (31). Concernant les BGN non-fermentaires, les études n'ont pas objectivé de VME pour *P. aeruginosa* ni pour *A. baumannii*. Enfin, le kit de CMI pour la colistine semble disposer d'excellentes performances (304,305), et pourrait constituer une réelle alternative rapide aux standards actuels.

Tableau 16 | Résumé des études évaluant les performances des kits FASTinov®.

Étude Comparateur	Germes	Performances			Réf
		Performance de catégorisation %	Délai de rendu	Commentaire	
Costa de Oliveira et al., 2017 MML	102 BGN	CA = 98 VME = 1,06 ME = 1,59	≈ 2 h	Détection 100 % BLSE VME sur AMC, GN, MEM faible taux de résistance	(306)
Silva-Dias et al., 2021 MML	256 BGN 189 CGP	CA = 96,8 VME = 0,6 ME = 1,3	≈ 2 h	Souches résistantes > 96 % de détection des BLSE, CHN et carbapénémases VME sur AMC CAZ CTX GN 100 % concordance FOX (CGP)	(31)
Pina-Vaz et al., 2024 MML et DMG	253 EB 115 BGN-NF 303 CGP	CA = 98,9 VME = 1,2 ME = 0,8	< 2 h	VME pour C-T, PTZ, CAZ Détection 100 % BLSE et CHN 97 % carbapénémases	(307)
Fonseca E Silva et al., 2019 MML	137 EB 35 *P. aeruginosa* 32 *A. baumannii*	Colistine : CA = 99 VME = 0 ME = 0	< 2 h	Performances optimales Rendu de CMI	(304)
Silva et al., 2020 MML	78 EB 28 *P. aeruginosa* 10 *A. baumannii*	Colistine : CA = 100 EA = 95,7	≈ 1,5 h	Performances optimales Rendu de CMI	(305)

AMC : amoxicilline-acide clavulanique; CAZ : ceftazidime; C-T : ceftolozane-tazobactam; DMG : diffusion en milieu gélosé; EB : entérobactéries; FOX : céfoxitine; GN : gentamicine; MEM : méropénème; MML : microdilution en milieu liquide; PTZ : pipéracilline-tazobactam.

Pour le kit FASTgrampos, les performances retrouvées sont également excellentes, avec des CA supérieurs à 94 % pour toutes les molécules, sans VME décrite. Par ailleurs, l'EA pour la CMI de la vancomycine atteint 100 % dans une étude, sur un ensemble de 303 souches de CGP (307). Enfin, concernant le dépistage des SARM avec la céfoxitine, les CA sont de 96 % et 100 % dans les études de Pina-Vaz (2024) et Silva-Dias (2021), respectivement (31,307).

Concernant l'impact potentiel de la technique, il n'existe à ce jour aucune étude l'ayant évalué dans un contexte clinique prospectif en tant que méthode rapide d'antibiogramme.

Avantages :

Le kit FASTinov® est une méthode phénotypique très rapide, avec un délai de rendu inférieur à 2 heures pour un panel de BGN et de CGP. Son panel est adapté aux bactériémies, avec de bonnes performances, y compris pour les BGN non fermentaires. Le logiciel BioFAST lui permet de rendre des résultats bruts et d'interpréter les phénotypes si l'identification est fournie pour un coût qui semble modéré.

Limites :

La préparation des échantillons n'est pas automatisée, ce qui représente un défi en termes de gestion du temps et des ressources. De plus, un cytomètre en flux « ouvert » est requis, un équipement que tous les laboratoires de microbiologie ne possèdent pas nécessairement.

Bien que phénotypique, cette méthode repose sur le principe de « breakpoint », c'est-à-dire qu'elle n'utilise qu'un nombre limité de dilutions d'antibiotiques autour des valeurs critiques de CMI (« breakpoints »), ce qui permet uniquement de fournir une catégorisation clinique (S, SFP ou R). Seules la vancomycine, pour le kit CGP, et la colistine, dans un kit distinct, bénéficient d'un nombre suffisant de dilutions pour permettre la détermination précise d'une CMI. Enfin, la méthode étant assez récente, on ne dispose que d'un nombre très limité d'études sur ses performances, limitant pour le moment la généralisation de celles-ci.

III. SYNTHESE DES ETUDES SUR L'IMPACT CLINIQUE DES METHODES RAPIDES CHEZ DES PATIENTS BACTERIEMIQUES

1. Revue des études cliniques randomisées

Pour la plupart des techniques/méthodes présentées dans ce manuscrit, on dispose d'études portant sur l'impact clinique de leur implantation en routine. Bien que certaines montrent un potentiel impact sur la mortalité, les durées d'hospitalisation, les délais pour obtenir une antibiothérapie optimale, voir sur les coûts, les résultats sont hétérogènes. On peut attribuer cette hétérogénéité à la qualité variable des études considérées, à leur nature rétrospective et observationnelle, ainsi qu'à la petite taille des cohortes qui y sont analysées. Seules de rares études cliniques randomisées (ECR), plus robustes, sont disponibles à ce jour. Contrairement aux essais cliniques thérapeutiques/médicamenteux, ces dernières restent rares dans ce domaine et ne permettent pas toujours de tirer des conclusions fiables. Ces études sont résumées dans le **Tableau 17**.

Les ECR (basées sur une diversité de méthodes génotypiques et phénotypiques « rapides ») montrent toutes une **réduction significative du délai pour adapter et obtenir une antibiothérapie optimale**. Cependant, la quasi-totalité de ces études ayant comme méthode contrôle/standard, une méthode d'antibiogramme réalisé à partir d'une subculture, les résultats sont peu adaptés à une interprétation dans le contexte actuel. En effet, on peut considérer que les antibiogrammes réalisés pour les hémocultures (même s'ils ne sont lus qu'après 16 à 24 h d'incubation) sont actuellement déjà réalisés en routine directement à partir des flacons positifs[34]. Pour pouvoir apprécier de manière pertinente les gains de temps apportés par les nouvelles méthodes, les études cliniques randomisées futures devraient effectuer la comparaison avec des méthodes de routine aussi réalisées à partir de flacons d'hémoculture positifs. Par ailleurs, les gains observés dans les délais d'adaptation ne sont significatifs dans les études déjà publiées sur le sujet que dans les établissements correspondants dotés d'une EMA.

Il faut noter qu'une seule étude a mis en évidence une **diminution significative de la durée d'hospitalisation**, probablement attribuable au soin apporté dans celle-ci au relais des traitements antibiotiques vers la voie orale (253).

Il est également intéressant d'observer dans plusieurs ECR que l'adoption d'une méthode rapide permet également de **diminuer les durées d'utilisation d'antibiotiques à large spectre**. On peut espérer un impact important avec une réduction de l'émergence des résistances – enjeu majeur de santé publique.

[34] pour rappel, recommandation dans le CA-SFM depuis l'édition 2018 (150)

Tableau 17 | Résumé des études cliniques randomisées ayant évalué l'impact clinique de l'utilisation d'une méthode rapide d'antibiogramme chez des patients bactériémiques.

Étude Pays / référence	Design de l'étude	Méthode rapide	Méthode standard	Performance méthode rapide	Résultats du test rapide par rapport aux méthodes standard	EMA	Commentaires
Doern et al., 1994 USA (14)	ECR monocentrique 2 bras (N = 573) BGN et CGP	**MicroScan** via culot HC+	**MicroScan** sur colonie	Résultats obtenus 16 h plus tôt	↓ mortalité, ↓ examens complémentaires, ↓ coûts ↓délais adaptation antibiothérapie (gain de 15 h) = DH	Non	Randomisation basée sur la première lettre du nom du patient
Beuving et al., 2015 Pays-Bas (225)	ECR monocentrique 2 bras (N = 250) BGN et CGP	**PCR ARNr 16S** sur HC+	**BD PHOENIX** sur colonie	94 % d'accord avec standard Résultats obtenus 15 h plus tôt	↓ TAO = mortalité et DH	Non	Résultats peu utilisés par cliniciens
Banerjee et al., 2015 USA (308)	ECR monocentrique 3 bras (N = 617) BGN et CGP	**BioFire® BCID** avec EMA	**MALDI-TOF et DMG** sur colonie sans EMA	97 % d'accord pour bactéries du panel 19 % de bactéries hors panel Résultats 49 h plus tôt	↓ TAO, ↓ délais d'escalade et désescalade ↓traitement des contaminants, ↓ antibiotiques à large spectre = mortalité, DH, événements indésirables, coûts	Oui 24 h/24 et 7 j/7	Impact chez les infections à GP > GN. Faibles taux de résistance Biais : EMA que dans le groupe méthode rapide
Emonet et al., 2016 Suisse (222)	ECR monocentrique 2 bras (N = 100) staphylocoques	**PCR triplex maison (SA, SCN et mecA)** sur HC+	**MALDI-TOF et DMG** sur colonie	97 % d'accord avec standard	↓ TAO dans sous-groupe *S. aureus* = mortalité, DH, TAO, complications	Non	Faible taux de résistance (13 % SARM)
Kim et al., 2020 Corée (294)i	ECR monocentrique 2 bras (N= 89) BGN et CGP	**QMAC-dRAST** sur HC+	**MicroScan, VITEK 2** sur colonie	Résultats obtenus 35 h plus tôt	↓ TAO ↓d'utilisation d'ATB large spectre = mortalité, infections à *C. difficile*, infections multirésistantes	Oui	EMA pour les deux groupes
Banerjee et al., 2021 USA (276)	ECR multicentrique 2 bras (N = 448) BGN	**Accelerate Pheno System** sur HC+	**MALDI-TOF, MML, DMG** sur colonie	Résultats obtenus 36 h plus tôt	↓ TAO = mortalité, DH, événements indésirables, coûts	Oui lundi au vendredi en journée	Impact > pour isolats résistants Faibles taux de résistance EMA pour les deux groupes
Christensen et al., 2022 USA (253)	ECR monocentrique 2 bras (N=274) BGN	**VITEK 2** via culot HC+	**VITEK 2** sur colonie	Résultats obtenus 23 h plus tôt	↓ du TAO sur les horaires de travail de l'EMA, ↓ DH, ↓ délai pour voie orale = mortalité, récidive, séjour en réa à 30 jours réadmission à 30 jours, antibiotique et durée traitement	Oui lundi au vendredi en journée	Exclusion bactériémie sans contrôle source infection (30 patients) Faible taux de résistance ↓ DH a permis ↓ 1,2 million de dollars EMA pour les deux groupes
Caspar et al., 2024 France (309)	ECR monocentrique 2 bras (N=309) BGN et CGP	**ePlex en plus** sur HC+	**MALDI-TOF, DMG** sur HC+	98 % d'accord pour bactéries du panel 6 % de bactéries hors panel	↓ TAO = mortalité, DH, coûts, antibiotiques large spectre (tendances cependant)	Oui	Faible taux de résistance 100 % détection prélèvements polymicrobiens EMA pour les deux groupes

ATB : antibiothérapie; ↓ : diminution; ≠ : différence; DMG : diffusion milieu gélosé; DH : durée d'hospitalisation; ECR : étude clinique randomisée; HC+ : hémoculture positive; ↑ : augmentation; MML : microdilution en milieu liquide; = : pas de différence significative; SA : S. aureus; SCN : staphylocoque à coagulase négative; TAO : temps pour obtenir une antibiothérapie optimale.

À l'exception d'une seule étude (14), aucune des ECR analysées, y compris les ECR les plus récents (253,309) **n'a pu mettre en évidence une diminution significative de la mortalité en utilisant une méthode rapide d'antibiogramme**. Un biais de randomisation nécessite cependant de s'interroger sur l'étude qui se distingue des autres (**Tableau 17**) : l'étude a d'ailleurs été exclue pour cette raison de la méta-analyse de Anton-Vazquez et al. publiée en 2021 (310). Cette dernière reprend les ECR disponibles avant 2021 et conclut à la non-supériorité des méthodes rapides en termes de mortalité, durée de séjour, complications et rechute. Il semble cependant légitime de penser que les techniques d'antibiogramme rapide pourraient avoir malgré tout un réel impact bénéfique sur la mortalité des patients : des effectifs plus larges, mais aussi et surtout l'application de ces méthodes à des contextes cliniques avec des taux de résistance aux antibiotiques plus élevés permettrait peut-être de démontrer cette hypothèse. Par ailleurs, la méta-analyse publiée par Timbooks et al. en 2017 (basée sur 29 études), concernant exclusivement les méthodes génotypiques rapides, indique de manière encourageante un impact significatif sur la mortalité (15).

Enfin, plusieurs études soulignent l'importance de disposer d'une EMA au sein de l'établissement, afin de maximiser les bénéfices des techniques d'antibiogrammes rapides (15,253,311,312).

2. Études futures

D'autres études cliniques randomisées sont en cours ou en attente de publication des résultats et pourront venir compléter les connaissances disponibles sur le sujet (clinicaltrials.gov) :

- **NCT03744728** : États-Unis (statut : inclusion de 2019-2023, statut actuel inconnu) : ECR évaluant l'impact clinique de l'identification et de l'antibiogramme phénotypique rapide avec l'automate AcceleratePheno™, comparativement à une identification et un antibiogramme « standard » (sans précision sur le principe de l'inoculum) associé au panel multiplexe de Verigene®.

- **NCT03147807** : AP-HP, Paris (statut : fini) : ECR de non-infériorité d'une désescalade basée sur le test betaLACTA® comparé à une désescalade selon la méthode d'antibiogramme standard à partir d'une subculture.

- **NCT06425367** Hôpital St-Joseph, Paris (statut : en inclusion) : ECR multicentrique évaluant l'impact clinique d'un antibiogramme réalisé sur gélose MH-SIR directement sur hémoculture positive, comparé à la méthode « standard » réalisée elle aussi sur hémoculture positive, mais avec des géloses MH « classiques » lues après 16 à 24 h d'incubation. L'effectif prévu est de **960 inclusions** dans **20 centres répartis en France**, ce qui en ferait la plus grande ECR évaluant l'impact d'une méthode rapide d'antibiogramme à ce jour. Le CHU de Strasbourg est l'un des centres de cette étude, sa participation ayant motivé ce travail de revue.

IV. ÉVALUATION DE LA GELOSE MH-SIR AU CHU DE STRASBOURG

La participation du CHU de Strasbourg à l'étude MHR-Blood a été l'un des moteurs de cette revue de la littérature, ainsi que de l'évaluation indépendante des performances de la gélose MH-SIR au laboratoire.

Les objectifs de l'évaluation sont les suivants :

1. **Prise en main et organisation préalable** : Avant de débuter les inclusions dans l'étude MHR-Blood, nous avons paramétré l'automate SIRscan® pour la lecture des géloses MH-SIR et pris le temps de tester l'organisation spécifique que nécessite la lecture des géloses en fin de journée.
2. **Évaluation de la performance de la gélose MH-SIR** sur flacon d'hémoculture positif : le but principal sera de comparer cette nouvelle méthode avec notre technique de routine. Cette évaluation comporte ainsi deux volets :
    - Comparaison des résultats après 6 à 8 heures d'incubation de la gélose MH-SIR par rapport à la gélose MH, afin de valider la lecture précoce.
    - Comparaison après 16 à 24 heures d'incubation de la gélose MH-SIR avec la gélose MH, pour valider son utilisation en cas de prolongation d'incubation (notamment pour les molécules qui pourraient être « laissées en cours » en cas de résultat initialement douteux).
3. **Réception clinique des résultats rapides** : la prise en compte des résultats « rapides » par les services cliniques sera également évaluée.
4. **Intégration potentielle dans la routine du laboratoire** : en fonction des résultats obtenus, il pourrait être envisagé d'intégrer cette méthode en routine pour les hémocultures du laboratoire positives à BGN.

À ce jour, 106 hémocultures ont été incluses, principalement des souches d'entérobactéries et quelques souches de *P. aeruginosa*. Une première analyse des résultats met en évidence des discordances possibles entre les résultats obtenus avec la méthode de routine et la méthode « MH-SIR », notamment avec les fluoroquinolones (les quelques données disponibles dans la littérature allant également dans ce sens). La lecture des diamètres sur gélose MH-SIR peut également poser quelques problèmes. En effet, les diamètres obtenus semblent souvent un peu plus « resserrés » que sur gélose MH, avec en conséquence un plus grand nombre de souches « sensibles » pour lesquelles les diamètres se rapprochent des diamètres critiques. Enfin, les quelques souches de *P. aeruginosa* testées présentaient une croissance insuffisante pour les lectures effectuées à 8 heures d'incubation, nécessitant de prolonger l'incubation pour une lecture « standard » à 16 à 24 heures. Leur adaptation à la gélose MH-SIR ne serait donc pas envisageable en routine.

CONCLUSION

Avec pour objectif majeur la réduction des délais de rendu des résultats de sensibilité/résistance aux antibiotiques pour la prise en charge des bactériémies, la place et l'intérêt des nouvelles techniques innovantes restent à définir avec précision. Ces méthodes semblent prometteuses, mais leur efficacité réelle et leur impact clinique doivent encore être pleinement établis.

Avant d'intégrer ces nouvelles technologies, il est très important de revoir et de consolider l'ensemble du processus de diagnostic. Un prélèvement de mauvaise qualité compromet l'efficacité de tout test, rendant ainsi les innovations inutiles si elles ne sont pas accompagnées de bonnes pratiques. La qualité des résultats ne doit pas pâtir des efforts consacrés à en rendre leur libération plus rapide. En ce sens, plusieurs actions sont primordiales pour optimiser le diagnostic des hémocultures : garantir des pratiques de prélèvement rigoureuses (désinfection adéquate, volume suffisant, prélèvement unique), assurer un acheminement rapide des échantillons, mise en incubation continue 24 h/24 et 7j/7 des flacons, procéder à une identification rapide des bactéries, et établir une communication efficace des résultats.

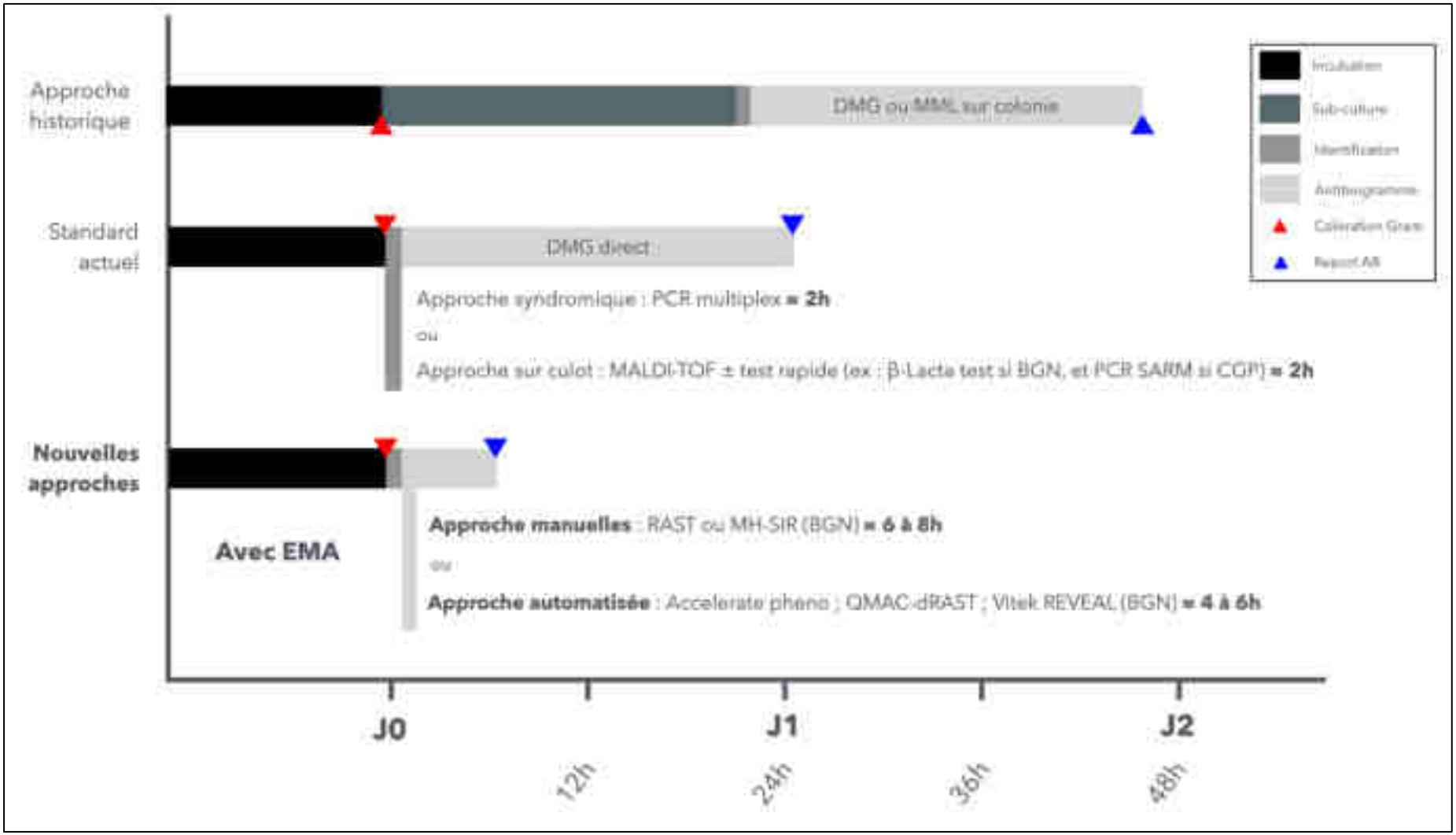
L'antibiogramme reste toutefois un élément central du diagnostic microbiologique, et la rapidité avec laquelle les résultats sont mis à disposition peut avoir un impact sur la prise en charge des patients bactériémiques. Le choix de la technique à adopter dans un laboratoire dépend de plusieurs facteurs, tels que les performances intrinsèques des automates, l'écologie microbienne locale, l'organisation du laboratoire (horaires de travail ± permanence des soins (24 h/24), présence d'un microbiologiste pour valider les résultats, etc.), et l'adaptabilité au flux de travail de la « filière » des hémocultures (voir tableau résumé des techniques **annexes 2 et 3**). Il est également important d'évaluer l'intérêt et la faisabilité médico-économique de l'acquisition de nouvelles méthodes, ainsi que de considérer les besoins spécifiques des services cliniques. Certaines techniques rapides (ICT, PCR syndromiques) sont d'ailleurs déjà devenues quasiment indispensables et font désormais partie de la « routine » des laboratoires de microbiologie (**annexe 1**).

Pour établir un nouveau standard, il est impératif de démontrer l'impact clinique réel des nouvelles approches. Cependant, les résultats des études actuelles restent souvent ambigus. On peut toutefois insister sur la valeur ajoutée pour un établissement de pouvoir disposer d'une EMA ou d'une organisation équivalente, permettant d'optimiser au maximum l'utilisation et l'interprétation appropriées des résultats (qu'ils soient obtenus de manière « rapides » ou non), accompagnées de recommandations thérapeutiques adaptées (15,253,311,312). Cependant, que l'établissement dispose ou non de telles équipes, la mise en place de nouvelles techniques d'antibiogramme rapide pour les hémocultures devrait préalablement faire l'objet de discussions avancées avec les cliniciens en charge

des traitements anti-infectieux afin de définir avec eux le circuit optimal permettant d'exploiter au mieux les résultats fournis. Des études supplémentaires de grande envergure sont nécessaires pour mieux comprendre l'impact des nouvelles méthodes (phénotypiques ou génotypiques) et en définir le positionnement.

Ainsi, bien que les méthodes rapides d'antibiogramme soient prometteuses, leur succès repose sur une mise en œuvre réfléchie et une coordination efficace clinico-biologique. Il est essentiel que les gains en rapidité se traduisent *in fine* par une amélioration tangible de la prise en charge des patients, sans compromettre la qualité des résultats.

Annexe 1 | Résumé des différentes stratégies d'identification et d'antibiogramme en fonction de la période.



Annexe 2 | Résumé général des méthodes présentées dans cette revue.

	Système	Méthode Détection	Temps de rendu	Germes	Performance de catégorisation (CA)	Avantages (+) Limites (-)
Actuelles	**Vitek 2** *Biomérieux*	Microdilution Néphélémétrie	8-10 h	Plusieurs BGN CGN CGP et BGP	92 à 99 % (CGP) 93 à 100 % (EB) 92 à 97 % (BGN-NF) ME et VME ok FDA	**+** : Bonnes performances générales sur culot d'HC+, implantation large de ces automates en routine dans les laboratoires de microbiologie clinique **-** : Temps de rendu moyennement adaptée à un rendu rapide dans la plupart des cas
	MicroScan WalkAway *Beckman-Coulter*	Microdilution Turbidimétrie	10-15 h			
	Phoenix *Becton-Dickinson*		10-12 h			
Nouvelles techniques	**Accelerate Pheno** *Accelerate Diagnostic*	FISH Vidéomicroscopie accélérée	5-7 h	Plusieurs BGN Plusieurs CGP	90 à 98 % ME et VME ok FDA	**+** : Avec identification par FISH en fait un système complet **-** : modularité de 1 échantillon, performances < pour certaines β-lactamines et pour *P. aerguinosa*, manque de fiabilité
	Alfred 60/AST *AliFAX*	Diffusion de la lumière	4-6 h	Plusieurs BGN Plusieurs CGP	88 à 93 % (CGP) 90 à 95 % (BGN)	**+** : panel de molécule adaptable, chargement continu, méthode innovante, automate polyvalent **-** : Trop de discordances, réactif instable et coût élevé
	ASTar *Q-linea*	Microdilution vidéomicrscopie accelérée	6 h	BGN *Enterobacterales* *P. aeruginosa* *A. baumannii*	88 à 93 % (CGP) 90 à 95 % (BGN)	**+** : chargement continu, rendu de CMI **-** : pas de disque pour CGP, encore peu de données publiées, coût important
	FAST inov	Cytométrie en flux	2 h	BGN et CGP	> 96 VME et ME ok FDA	**+** : AB phénotypique le plus rapide, règles d'expertise (logiciel BioFast) **-** : Peu de données, temps technique (culot, extraction), manipulation ++, pas de CMI (hors colistine et vancomycine)
	QMAC-dRAST *Quantamatrix*	Vidéomicroscopie accélérée	4-6 h	Plusieurs BGN Plusieurs CGP	91 à 95 % VME et ME non ok FDA	**+** : Tout automatisée, « random-access », grande capacité **-** : Taux de ME et VME souvent non conformes
	QuickMIC *Gradientech*	Microdilution Vidéomicroscopie accelerée	2-4 h	BGN *Enterobacterales* *P. aeruginosa* *A. baumannii*	1 étude, performances moyennes	**+** : CMI la plus rapide, miniaturisation **-** : peu de données, pas de carte CGP actuellement, pas de logiciel expert.
	REVEAL *Biomérieux*	Microdilution Volatolomique Colorimétrique	5,5 h	BGN *Enterobacterales* *P. aeruginosa* *A. baumannii*	> 94 %	**+** : technique innovante, capacité modulable **-** : peu de données sur les BGN-NF, panel non adaptable, coût important, pas de panel de CGP
	MH-SIR *I2a*	Composé contrastant la pousse bactérienne	6-8 h	*Enterobacterales* *S. aureus*	CA > 97 %	**+** : économique, lecture automatisée (SIRscan®), valeurs critiques standard du CASFM **-** : uniquement pour EB et *S. aureus*, nécessite de disposer d'un automate SIRscan®
	RAST *EUCAST*	Inoculum plus élevé lecture à 4, 6 ou 8 heures	4-8 h	*E.coli, K. pneumoniae*, *P. aeruginosa, S. aureus, S. pneumoniae, E. faecalis/faecium et A. baumannii*	CA ≈ 97 % VME et ME ok FDA	**+** : économique, validé et développé par l'EUCAST **-** : temps de lecture contraignants, lecture difficile, panel limité en bactéries et molécules, nécessité de confirmer résultat, valeurs critiques dédiées

Annexe 3 | Résumé des caractéristiques techniques des différentes méthodes présentées dans cette revue.

	Système	Caractéristiques										Délai de rendu			
		Analyse Automatisée	Préparation automatisée de l'inoculum	Rendu de CMI	PEC du polymicrobien	panel bactéries	Logiciel expert	Panel de molécule adaptable	Chargement continu	Capacité de chargement	ID	<4h	4 - 6h	6 - 8h	> 8h
Actuelles	**Vitek 2** *Biomérieux*	oui	manuel (culot)	oui	-	Plusieurs BGN CGN CGP et BGP	oui	-	oui	15 et plus	-			x	x
	MicroScan WalkAway *Beckman-Coulter*	oui	manuel (culot)	oui	-		oui	-	oui	12 et plus	-				x
	Phoenix *Becton-Dickinson*	oui	manuel (culot)	oui	-		oui	-	oui	20 et plus	-			x	x
Nouvelles méthodes	**Accelerate Pheno** *Accelerate Diagnostic*	oui	oui	oui	oui (en partie)	Plusieurs BGN Plusieurs CGP	oui	-	-	1 échantillon à la fois	oui		x		
	Alfred 60/AST *AliFAX*	oui	oui	-	-	Plusieurs BGN Plusieurs CGP	-	oui	oui	Variable selon le nombre de molécules du panel	-		x		
	ASTar *Q-linea*	oui	oui	oui	-	BGN *Enterobacterales* *P. aeruginosa* *A. baumannii*	oui	-	oui	5 à 12	-			x	
	FAST inov	-	manuel (culot)	uniquement colistine et vancomycine	-	BGN et CGP	oui	-	NA	1	-	x			
	QMAC-dRAST *Quantamatrix*	oui	oui	oui	-	Plusieurs BGN Plusieurs CGP	oui	-	oui	12	-		x		
	QuickMIC *Gradientech*	oui	manuel	oui	-	BGN *Enterobacterales* *P. aeruginosa* *A. baumannii*	-	-	-	1 échantillon par module	-	x			
	REVEAL *Biomérieux*	oui	manuel	oui	-	BGN *Enterobacterales* *P. aeruginosa* *A. baumannii*	oui	-	oui si plusieurs modules, 2 échantillons par module	Modules de 2 emplacements, cumulables	-		x		
	MH-SIR *I2a*	Incubation et lecture diamètre	manuel (dilution)	-	-		NA	oui	oui (SIRscan)	NA	-			x	
	RAST *EUCAST*	-	manuel (direct depuis HC+)	-	-		NA	oui	NA	NA	-		x	x	

BIBLIOGRAPHIE

1. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. Lancet Lond Engl. 18 janv 2020;395(10219):200-11.

2. Verway M, Brown KA, Marchand-Austin A, Diong C, Lee S, Langford B, et al. Prevalence and Mortality Associated with Bloodstream Organisms: a Population-Wide Retrospective Cohort Study. J Clin Microbiol. 7 mars 2022;60(4):e02429-21.

3. Arefian H, Heublein S, Scherag A, Brunkhorst FM, Younis MZ, Moerer O, et al. Hospital-related cost of sepsis: A systematic review. J Infect. févr 2017;74(2):107-17.

4. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. Lancet Lond Engl. 12 févr 2022;399(10325):629-55.

5. Infectious Diseases Society of America (IDSA), Spellberg B, Blaser M, Guidos RJ, Boucher HW, Bradley JS, et al. Combating antimicrobial resistance: policy recommendations to save lives. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. mai 2011;52 Suppl 5(Suppl 5):S397-428.

6. Havey TC, Fowler RA, Pinto R, Elligsen M, Daneman N. Duration of antibiotic therapy for critically ill patients with bloodstream infections: A retrospective cohort study. Can J Infect Dis Med Microbiol J Can Mal Infect Microbiol Medicale. 2013;24(3):129-37.

7. Smith KP, Kirby JE. Rapid Susceptibility Testing Methods. Clin Lab Med. sept 2019;39(3):333-44.

8. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. Intensive Care Med. nov 2021;47(11):1181-247.

9. Retamar P, Portillo MM, López-Prieto MD, Rodríguez-López F, de Cueto M, García MV, et al. Impact of inadequate empirical therapy on the mortality of patients with bloodstream infections: a propensity score-based analysis. Antimicrob Agents Chemother. janv 2012;56(1):472-8.

10. Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, et al. Bloodstream Infections Caused by Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacilli: Risk Factors for Mortality and Impact of Inappropriate Initial Antimicrobial Therapy on Outcome. Antimicrob Agents Chemother. févr 2005;49(2):760-6.

11. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock*: Crit Care Med. juin 2006;34(6):1589-96.

12. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Initiation of Inappropriate Antimicrobial Therapy Results in a Fivefold Reduction of Survival in Human Septic Shock. Chest. nov 2009;136(5):1237-48.

13. Klein Klouwenberg PMC, Cremer OL, van Vught LA, Ong DSY, Frencken JF, Schultz MJ, et al. Likelihood of infection in patients with presumed sepsis at the time of intensive care unit admission: a cohort study. Crit Care Lond Engl. 7 sept 2015;19(1):319.

14. Doern GV, Vautour R, Gaudet M, Levy B. Clinical impact of rapid in vitro susceptibility testing and bacterial identification. J Clin Microbiol. juill 1994;32(7):1757-62.

15. Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL. The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. Clin Infect Dis. 1 janv 2017;64(1):15-23.

16. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. Front Microbiol. 2016;7:697.

17. Martiny D, Debaugnies F, Gateff D, Gérard M, Aoun M, Martin C, et al. Impact of rapid microbial identification directly from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry on patient management. Clin Microbiol Infect. 1 déc 2013;19(12):E568-81.

18. Christner M, Rohde H, Wolters M, Sobottka I, Wegscheider K, Aepfelbacher M. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting. J Clin Microbiol. mai 2010;48(5):1584-91.

19. CASFM/EUCAST: Recommandations 2024 V.1.0 Juin. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2024/06/CASFM2024_V1.0.pdf.

20. Lamy B. Blood culture time-to-positivity: making use of the hidden information. Clin Microbiol Infect. mars 2019;25(3):268-71.

21. Le Guern R, Titécat M, Loïez C, Duployez C, Wallet F, Dessein R. Comparison of time-to-positivity between two blood culture systems: a detailed analysis down to the genus-level. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. juill 2021;40(7):1399-404.

22. MacBrayne CE, Williams MC, Prinzi A, Pearce K, Lamb D, Parker SK. Time to Blood Culture Positivity by Pathogen and Primary Service. Hosp Pediatr. 1 sept 2021;11(9):953-61.

23. 2024 World Sepsis Congress : Unmet need in sepsis diagnosis and therapy. S2: The Need for Early Diagnosis and Treatment of Sepsis in Surgical Patients. 23 Avr 2024.

24. Venturelli C, Righi E, Borsari L, Aggazzotti G, Busani S, Mussini C, et al. Impact of Pre-Analytical Time on the Recovery of Pathogens from Blood Cultures: Results from a Large Retrospective Survey. PloS One. 2017;12(1):e0169466.

25. Bruins MJ, Bloembergen P, Ruijs GJHM, Wolfhagen MJHM. Identification and susceptibility testing of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* by direct inoculation from positive BACTEC blood culture bottles into Vitek 2. J Clin Microbiol. janv 2004;42(1):7-11.

26. Beuving J, van der Donk CFM, Linssen CFM, Wolffs PFG, Verbon A. Evaluation of direct inoculation of the BD PHOENIX system from positive BACTEC blood cultures for both Gram-positive cocci and Gram-negative rods. BMC Microbiol. 30 juin 2011;11:156.

27. Infante A, Ortiz De La Tabla V, Martín C, Gázquez G, Buñuel F. Rapid identification and antimicrobial susceptibility testing of Gram-negative rod on positive blood cultures using MicroScan panels. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. janv 2021;40(1):151-7.

28. Tan TY, Ng LSY, Kwang LL. Evaluation of disc susceptibility tests performed directly from positive blood cultures. J Clin Pathol. 7 sept 2007;61(3):343-6.

29. Peri AM, Ling W, Furuya-Kanamori L, Harris PNA, Paterson DL. Performance of BioFire Blood Culture Identification 2 Panel (BCID2) for the detection of bloodstream pathogens and their associated resistance markers: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies. BMC Infect Dis. 20 oct 2022;22(1):794.

30. Périllaud C, Pilmis B, Diep J, Péan De Ponfilly G, Vidal B, Couzigou C, et al. Prospective evaluation of rapid antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion on Mueller-Hinton rapid-SIR directly on blood cultures. Diagn Microbiol Infect Dis. janv 2019;93(1):14-21.

31. Silva-Dias A, Pérez-Viso B, Martins-Oliveira I, Gomes R, Rodrigues AG, Cantón R, et al. Evaluation of FASTinov Ultrarapid Flow Cytometry Antimicrobial Susceptibility Testing Directly from Positive Blood Cultures. J Clin Microbiol. 20 sept 2021;59(10):e0054421.

32. Choi J, Jeong HY, Lee GY, Han S, Han S, Jin B, et al. Direct, rapid antimicrobial susceptibility test from positive blood cultures based on microscopic imaging analysis. Sci Rep. 25 avr 2017;7:1148.

33. Tibbetts R, George S, Burwell R, Rajeev L, Rhodes PA, Singh P, et al. Performance of the Reveal Rapid Antibiotic Susceptibility Testing System on Gram-Negative Blood Cultures at a Large Urban Hospital. J Clin Microbiol. 15 juin 2022;60(6):e0009822.

34. Accoceberry I., Cornet M., Lamy B. Hémoculture. Remic 2015 : Référentiel en Microbiologie Médicale, 5ème édition. Bourlet T., Courcol R., Laudat P., Hermann JL., Lachaud L., Lamy B., Peigue-Lafeuille H., Pangon B.,. Paris: Société française de Microbiologie; 125-137 p.

35. Laupland KB, Church DL. Population-based epidemiology and microbiology of community-onset bloodstream infections. Clin Microbiol Rev. oct 2014;27(4):647-64.

36. Ministère de la Santé, de la Jeunesse et des Sports. Comité technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins. Définition des infections associées aux soins. Mai 2017. [Internet]. [cité 29 sep 2024] Disponible sur : https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_vcourte.pdf.

37. Robineau O, Robert J, Rabaud C, Bedos JP, Varon E, Péan Y, et al. SPA BACT Management and outcome of bloodstream infections: a prospective survey in 121 French hospitals (SPA-BACT survey). Infect Drug Resist. août 2018;Volume 11:1359-68.

38. Minasyan H. Sepsis: mechanisms of bacterial injury to the patient. Scand J Trauma Resusc Emerg Med. 14 févr 2019;27:19.

39. Minasyan H. Sepsis and septic shock: Pathogenesis and treatment perspectives. J Crit Care. août 2017;40:229-42.

40. Naber CK. *Staphylococcus aureus* Bacteremia: Epidemiology, Pathophysiology, and Management Strategies. Clin Infect Dis. 15 mai 2009;48(Supplement_4):S231-7.

41. Holmes CL, Anderson MT, Mobley HLT, Bachman MA. Pathogenesis of Gram-Negative Bacteremia. Clin Microbiol Rev. 10 mars 2021;34(2):10.1128/cmr.00234-20.

42. Kwiecinski JM, Horswill AR. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms. Curr Opin Microbiol. févr 2020;53:51-60.

43. Lee AS, de Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nat Rev Dis Primer. 31 mai 2018;4(1):1-23.

44. Hong J, Li Y, Hua X, Bai Y, Wang C, Zhu C, et al. Inhibition of phagocytosis and pyroptosis of macrophages promotes *Bartonella* invasion into the bloodstream through lymphatic circulation. J Infect Dis. 31 oct 2016;jiw526.

45. Holland TL, Baddour LM, Bayer AS, Hoen B, Miro JM, Fowler VG. Infective endocarditis. Nat Rev Dis Primer. 1 sept 2016;2(1):1-22.

46. Cahill TJ, Prendergast BD. Infective endocarditis. The Lancet. févr 2016;387(10021):882-93.

47. 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. Chest. juin 1992;101(6):1644-55.

48. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med. avr 2003;31(4):1250-6.

49. Churpek MM, Zadravecz FJ, Winslow C, Howell MD, Edelson DP. Incidence and Prognostic Value of the Systemic Inflammatory Response Syndrome and Organ Dysfunctions in Ward Patients. Am J Respir Crit Care Med. 15 oct 2015;192(8):958-64.

50. Kaukonen KM, Bailey M, Pilcher D, Cooper DJ, Bellomo R. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. N Engl J Med. 23 avr 2015;372(17):1629-38.

51. 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. 23 févr 2016;315(8):801-10.

52. Freund Y, Lemachatti N, Krastinova E, Van Laer M, Claessens YE, Avondo A, et al. Prognostic Accuracy of Sepsis-3 Criteria for In-Hospital Mortality Among Patients With Suspected Infection Presenting to the Emergency Department. JAMA. 17 janv 2017;317(3):301-8.

53. Skogberg K, Lyytikäinen O, Ruutu P, Ollgren J, Nuorti JP. Increase in bloodstream infections in Finland, 1995–2002. Epidemiol Infect. janv 2008;136(1):108-14.

54. Søgaard M, Nørgaard M, Dethlefsen C, Schønheyder HC. Temporal changes in the incidence and 30-day mortality associated with bacteremia in hospitalized patients from 1992 through 2006: a population-based cohort study. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1 janv 2011;52(1):61-9.

55. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. juin 2013;19(6):501-9.

56. Uslan DZ, Crane SJ, Steckelberg JM, Cockerill FR, St Sauver JL, Wilson WR, et al. Age- and sex-associated trends in bloodstream infection: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. Arch Intern Med. 23 avr 2007;167(8):834-9.

57. Rodríguez-Baño J, López-Prieto MD, Portillo MM, Retamar P, Natera C, Nuño E, et al. Epidemiology and clinical features of community-acquired, healthcare-associated and nosocomial bloodstream infections in tertiary-care and community hospitals. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. sept 2010;16(9):1408-13.

58. Laupland KB, Pasquill K, Parfitt EC, Naidu P, Steele L. Burden of community-onset bloodstream infections, Western Interior, British Columbia, Canada. Epidemiol Infect. août 2016;144(11):2440-6.

59. Pérez-Crespo PMM, Lanz-García JF, Bravo-Ferrer J, Cantón-Bulnes ML, Sousa Domínguez A, Goikoetxea Aguirre J, et al. Revisiting the epidemiology of bloodstream infections and healthcare-associated episodes: results from a multicentre prospective cohort in Spain (PRO-BAC Study). Int J Antimicrob Agents. 1 juill 2021;58(1):106352.

60. Comité technique national des infections nosocomiales. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, 1996. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : https://www.cpias-ile-de-france.fr/surveillance/enp/1996/Rapport1996.pdf.

61. Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales 2001 - Protocole national. Institut de veille sanitaire ; 2001. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : www.santepubliquefrance.fr.

62. Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales 2006. Institut de veille sanitaire, Département des maladies infectieuses [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : www.santepubliquefrance.fr.

63. Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012. Résultats. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire ; 2013. 181 p. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : www.santepubliquefrance.fr.

64. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2017. Saint-Maurice : Santé Publique France ; 2018. 12 p. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : www.santepubliquefrance.fr.

65. Principaux résultats de l'enquête nationale de prévalence 2022 des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé. Saint-Maurice : Santé publique France, 2023. 25 p. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : www.santepubliquefrance.fr.

66. Scheer CS, Fuchs C, Gründling M, Vollmer M, Bast J, Bohnert JA, et al. Impact of antibiotic administration on blood culture positivity at the beginning of sepsis: a prospective clinical cohort study. Clin Microbiol Infect. 1 mars 2019;25(3):326-31.

67. Nannan Panday RS, Lammers EMJ, Alam N, Nanayakkara PWB. An overview of positive cultures and clinical outcomes in septic patients: a sub-analysis of the Prehospital Antibiotics Against Sepsis (PHANTASi) trial. Crit Care. 21 mai 2019;23(1):182.

68. Li Y, Guo J, Yang H, Li H, Shen Y, Zhang D. Comparison of culture-negative and culture-positive sepsis or septic shock: a systematic review and meta-analysis. Crit Care. 8 mai 2021;25(1):167.

69. Pandolfi F, Guillemot D, Watier L, Brun-Buisson C. Trends in bacterial sepsis incidence and mortality in France between 2015 and 2019 based on National Health Data System (Système National des données de Santé (SNDS)): a retrospective observational study. BMJ Open. 24 mai 2022;12(5):e058205.

70. Shappell CN, Klompas M, Chan C, Chen T, Kanjilal S, McKenna C, et al. Use of Electronic Clinical Data to Track Incidence and Mortality for SARS-CoV-2–Associated Sepsis. JAMA Netw Open. 29 sept 2023;6(9):e2335728.

71. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med. 17 avr 2003;348(16):1546-54.

72. Hall MJ, DeFrances CJ. Inpatient Care for Septicemia or Sepsis: A Challenge for Patients and Hospitals. 2011;(62).

73. Dupuis C, Bouadma L, Ruckly S, Perozziello A, Van-Gysel D, Mageau A, et al. Sepsis and septic shock in France: incidences, outcomes and costs of care. Ann Intensive Care. 20 oct 2020;10(1):145.

74. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. Am J Respir Crit Care Med. 1 févr 2016;193(3):259-72.

75. Fleischmann-Struzek C, Mellhammar L, Rose N, Cassini A, Rudd KE, Schlattmann P, et al. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. Intensive Care Med. août 2020;46(8):1552-62.

76. Improving the prevention, diagnosis and clinical management of sepsis, Seventieth World Health Assembly (WHA70.7), Agenda item 12.2, 29 May 2017. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA70/A70_R7-en.pdf.

77. Laupland KB, Kibsey PC, Gregson DB, Galbraith JC. Population-based laboratory assessment of the burden of community-onset bloodstream infection in Victoria, Canada. Epidemiol Infect. janv 2013;141(1):174-80.

78. Tabah A, Buetti N, Staiquly Q, Ruckly S, Akova M, Aslan AT, et al. Epidemiology and outcomes of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care unit patients: the EUROBACT-2 international cohort study. Intensive Care Med. 2023;49(2):178-90.

79. Munro C, Zilberberg MD, Shorr AF. Bloodstream Infection in the Intensive Care Unit: Evolving Epidemiology and Microbiology. Antibiot Basel Switz. 26 janv 2024;13(2):123.

80. Laupland KB, Gregson DB, Flemons WW, Hawkins D, Ross T, Church DL. Burden of community-onset bloodstream infection: a population-based assessment. Epidemiol Infect. août 2007;135(6):1037-42.

81. Haug JB, Harthug S, Kalager T, Digranes A, Solberg CO. Bloodstream Infections at a Norwegian University Hospital, 1974-1979 and 1988-1989: Changing Etiology, Clinical Features, and Outcome. Clin Infect Dis. 1 août 1994;19(2):246-56.

82. Anderson DJ, Moehring RW, Sloane R, Schmader KE, Weber DJ, Fowler VG, et al. Bloodstream infections in community hospitals in the 21st century: a multicenter cohort study. PloS One. 2014;9(3):e91713.

83. 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. 3 oct 2017;318(13):1241-9.

84. Tang A, Shi Y, Dong Q, Wang S, Ge Y, Wang C, et al. Prognostic differences in sepsis caused by gram-negative bacteria and gram-positive bacteria: a systematic review and meta-analysis. Crit Care. 30 nov 2023;27(1):467.

85. Collège des Universitaires des Maladies Infectieuses et Tropicales (CMIT). PILLY ETUDIANT 2023. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : http://www.infectiologie.com/.

86. Bauer M, Gerlach H, Vogelmann T, Preissing F, Stiefel J, Adam D. Mortality in sepsis and septic shock in Europe, North America and Australia between 2009 and 2019- results from a systematic review and meta-analysis. Crit Care Lond Engl. 19 mai 2020;24(1):239.

87. Prescott HC, Langa KM, Iwashyna TJ. Readmission diagnoses after hospitalization for severe sepsis and other acute medical conditions. JAMA. 10 mars 2015;313(10):1055-7.

88. Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis. JAMA. 27 oct 2010;304(16):1787-94.

89. Wintermann GB, Brunkhorst FM, Petrowski K, Strauss B, Oehmichen F, Pohl M, et al. Stress disorders following prolonged critical illness in survivors of severe sepsis. Crit Care Med. juin 2015;43(6):1213-22.

90. Prescott HC, Langa KM, Liu V, Escobar GJ, Iwashyna TJ. Increased 1-year healthcare use in survivors of severe sepsis. Am J Respir Crit Care Med. 1 juill 2014;190(1):62-9.

91. Prescott HC, Osterholzer JJ, Langa KM, Angus DC, Iwashyna TJ. Late mortality after sepsis: propensity matched cohort study. BMJ. 17 mai 2016;353:i2375.

92. WHO, World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2021. 2021. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : https://www.who.int/publications/digital/global-tuberculosis-report-2021.

93. WHO, World Health Organization. Global health estimates: Leading causes of death. 2000-2021. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death.

94. World Health Organization 2023 data.who.int, WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard > Cases [Dashboard]. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : https://data.who.int/dashboards/covid19/cases.

95. Stevenson EK, Rubenstein AR, Radin GT, Wiener RS, Walkey AJ. Two decades of mortality trends among patients with severe sepsis: a comparative meta-analysis*. Crit Care Med. mars 2014;42(3):625-31.

96. Liang L, Moore B, Soni A. National Inpatient Hospital Costs: The Most Expensive Conditions by Payer, 2017. In: Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs [Internet]. 2017 [cité 29 mars 2024]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK561141/

97. Paoli CJ, Reynolds MA, Sinha M, Gitlin M, Crouser E. Epidemiology and Costs of Sepsis in the United States-An Analysis Based on Timing of Diagnosis and Severity Level. Crit Care Med. déc 2018;46(12):1889-97.

98. Diekema DJ, Hsueh PR, Mendes RE, Pfaller MA, Rolston KV, Sader HS, et al. The Microbiology of Bloodstream Infection: 20-Year Trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Antimicrob Agents Chemother. 24 juin 2019;63(7):10.1128/aac.00355-19.

99. Timsit JF, Ruppé E, Barbier F, Tabah A, Bassetti M. Bloodstream infections in critically ill patients: an expert statement. Intensive Care Med. 2020;46(2):266-84.

100. Rosen JB, Thomas AR, Lexau CA, Reingold A, Hadler JL, Harrison LH, et al. Geographic Variation in Invasive Pneumococcal Disease Following Pneumococcal Conjugate Vaccine Introduction in the United States. Clin Infect Dis. 15 juill 2011;53(2):137-43.

101. Jousset AB, Emeraud C, Bonnin RA, Naas T, Dortet L. Caractéristiques et évolution des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) isolées en France, 2012-2020. Bulletin épidémiologique hebdomadaire, 2021, n°. 18-19, p. 351-358. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : https://www.santepubliquefrance.fr/.

102. Roca I, Akova M, Baquero F, Carlet J, Cavaleri M, Coenen S, et al. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. New Microbes New Infect. 1 juill 2015;6:22-9.

103. Waterlow NR, Cooper BS, Robotham JV, Knight GM. Antimicrobial resistance prevalence in bloodstream infection in 29 European countries by age and sex: An observational study. PLoS Med. mars 2024;21(3):e1004301.

104. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, 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 Off Publ Infect Dis Soc Am. avr 1997;24(4):584-602.

105. Fukushima S, Hagiya H, Fujita K, Kamiyama S, Yamada H, Kishida M, et al. Clinical and microbiological characteristics of polymicrobial bacteremia: a retrospective, multicenter study. Infection. oct 2022;50(5):1233-42.

106. Leibovici L, Shraga I, Drucker M, Konigsberger H, Samra Z, Pitlik SD. The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. J Intern Med. nov 1998;244(5):379-86.

107. 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. mai 2003;123(5):1615-24.

108. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Peterson LE, et al. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia. J Infect. sept 2014;69(3):216-25.

109. Gauzit R, Castan B, Bonnet E, Bru JP, Cohen R, Diamantis S, et al. Anti-infectious treatment duration: The SPILF and GPIP French guidelines and recommendations. Infect Dis Now. mars 2021;51(2):114-39.

110. Tansarli GS, Andreatos N, Pliakos EE, Mylonakis E. A Systematic Review and Meta-analysis of Antibiotic Treatment Duration for Bacteremia Due to Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother. 25 avr 2019;63(5):10.1128/aac.02495-18.

111. Omrani AS, Abujarir SH, Ben Abid F, Shaar SH, Yilmaz M, Shaukat A, et al. Switch to oral antibiotics in Gram-negative bacteraemia: a randomized, open-label, clinical trial. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. avr 2024;30(4):492-8.

112. Tamma PD, Conley AT, Cosgrove SE, Harris AD, Lautenbach E, Amoah J, et al. Association of 30-Day Mortality With Oral Step-Down vs Continued Intravenous Therapy in Patients Hospitalized With Enterobacteriaceae Bacteremia. JAMA Intern Med. 1 mars 2019;179(3):316-23.

113. Lee IR, Tong SYC, Davis JS, Paterson DL, Syed-Omar SF, Peck KR, et al. Early oral stepdown antibiotic therapy versus continuing intravenous therapy for uncomplicated Gram-negative bacteraemia (the INVEST trial): study protocol for a multicentre, randomised controlled, open-label, phase III, non-inferiority trial. Trials. 19 juill 2022;23(1):572.

114. Fabre V, Amoah J, Cosgrove SE, Tamma PD. Antibiotic Therapy for *Pseudomonas aeruginosa* Bloodstream Infections: How Long Is Long Enough? Clin Infect Dis. 13 nov 2019;69(11):2011-4.

115. Li X, Liu C, Mao Z, Li Q, Qi S, Zhou F. Short-course versus long-course antibiotic treatment in patients with uncomplicated gram-negative bacteremia: A systematic review and meta-analysis. J Clin Pharm Ther. févr 2021;46(1):173-80.

116. Thorlacius-Ussing L, Andersen CØ, Frimodt-Møller N, Knudsen IJD, Lundgren J, Benfield TL. Efficacy of seven and fourteen days of antibiotic treatment in uncomplicated *Staphylococcus aureus* bacteremia (SAB7): study protocol for a randomized controlled trial. Trials. 2 mai 2019;20(1):250.

117. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1 juill 2009;49(1):1-45.

118. Chaves F, Garnacho-Montero J, Del Pozo JL, Bouza E, Capdevila JA, De Cueto M, et al. Diagnosis and treatment of catheter-related bloodstream infection: Clinical guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology and (SEIMC) and the Spanish Society of Spanish Society of Intensive and Critical Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC). Med Intensiva. janv 2018;42(1):5-36.

119. Timsit JF, Baleine J. Gestion des abords vasculaires en réanimation. Recommandations Formalisées d'Experts SRLF, GFRUP et l'ADARPEF. [Internet]. [Cité 29 sep 2024]. Disponible sur : https://www.srlf.org/media/rfe-gestion-abords-vasculaires-reanimation. 2019.

120. Kim JH, Kim TS, Jung HG, Kang CK, Jun KI, Han S, et al. Prospective evaluation of a rapid antimicrobial susceptibility test (QMAC-dRAST) for selecting optimal targeted antibiotics in positive blood culture. J Antimicrob Chemother. 1 août 2019;74(8):2255-60.

121. Delgado V, Ajmone Marsan N, de Waha S, Bonaros N, Brida M, Burri H, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis. Eur Heart J. 14 oct 2023;44(39):3948-4042.

122. Iversen K, Ihlemann N, Gill SU, Madsen T, Elming H, Jensen KT, et al. Partial Oral versus Intravenous Antibiotic Treatment of Endocarditis. N Engl J Med. 31 janv 2019;380(5):415-24.

123. Pries-Heje MM, Wiingaard C, Ihlemann N, Gill SU, Bruun NE, Elming H, et al. Five-Year Outcomes of the Partial Oral Treatment of Endocarditis (POET) Trial. N Engl J Med. 10 févr 2022;386(6):601-2.

124. Lemaignen A, Bernard L, Tattevin P, Bru JP, Duval X, Hoen B, et al. Oral switch versus standard intravenous antibiotic therapy in left-sided endocarditis due to susceptible staphylococci, streptococci or enterococci (RODEO): a protocol for two open-label randomised controlled trials. BMJ Open. 14 juill 2020;10(7):e033540.

125. Accoceberry I., Cornet M., Lamy B. Hémoculture. Remic 2022 : Référentiel en Microbiologie Médicale, 5ème édition. Bourlet T., Courcol R., Laudat P., Hermann JL., Lachaud L., Lamy B., Peigue-Lafeuille H., Pangon B.,. Paris: Société française de Microbiologie; 179-194 p.

126. Li G, Sun J, Pan S, Li W, Zhang S, Wang Y, et al. Comparison of the Performance of Three Blood Culture Systems in a Chinese Tertiary-Care Hospital. Front Cell Infect Microbiol. 7 août 2019;9:285.

127. Garcia RA, Spitzer ED, Beaudry J, Beck C, Diblasi R, Gilleeny-Blabac M, et al. Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line–associated bloodstream infections. Am J Infect Control. nov 2015;43(11):1222-37.

128. Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen E, Quentin R. Bactériologie Médicale, Techniques usuelles, 2ème édition. Elsevier Masson; 2016.

129. Dargère S, Parienti JJ, Roupie E, Gancel PE, Wiel E, Smaiti N, et al. Unique blood culture for diagnosis of bloodstream infections in emergency departments: a prospective multicentre study. Clin Microbiol Infect. 1 nov 2014;20(11):O920-7.

130. Yu D, Larsson A, Parke Å, Unge C, Henning C, Sundén-Cullberg J, et al. Single-Sampling Strategy vs. Multi-Sampling Strategy for Blood Cultures in Sepsis: A Prospective Non-inferiority Study. Front Microbiol. 23 juill 2020;11:1639.

131. Riedel S, Bourbeau P, Swartz B, Brecher S, Carroll KC, Stamper PD, et al. Timing of Specimen Collection for Blood Cultures from Febrile Patients with Bacteremia. J Clin Microbiol. avr 2008;46(4):1381-5.

132. Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA. Bloodstream infections – Standard and progress in pathogen diagnostics. Clin Microbiol Infect. févr 2020;26(2):142-50.

133. Rönnberg C, Mildh M, Ullberg M, Özenci V. Transport time for blood culture bottles: underlying factors and its consequences. Diagn Microbiol Infect Dis. 1 juill 2013;76(3):286-90.

134. Ling CL, Roberts T, Soeng S, Cusack TP, Dance DAB, Lee SJ, et al. Impact of delays to incubation and storage temperature on blood culture results: a multi-centre study. BMC Infect Dis. 12 févr 2021;21:173.

135. Klaerner HG, Eschenbach U, Kamereck K, Lehn N, Wagner H, Miethke T. Failure of an Automated Blood Culture System To Detect Nonfermentative Gram-Negative Bacteria. J Clin Microbiol. mars 2000;38(3):1036-41.

136. Seegmüller I, Eschenbach U, Kamereck K, Miethke T. Sensitivity of the BacT/ALERT FA-medium for detection of *Pseudomonas aeruginosa* in pre-incubated blood cultures and its temperature-dependence. J Med Microbiol. sept 2004;53(Pt 9):869-74.

137. Sautter RL, Bills AR, Lang DL, Ruschell G, Heiter BJ, Bourbeau PP. Effects of Delayed-Entry Conditions on the Recovery and Detection of Microorganisms from BacT/ALERT and BACTEC Blood Culture Bottles. J Clin Microbiol. avr 2006;44(4):1245-9.

138. Van Belkum A, Bachmann TT, Lüdke G, Lisby JG, Kahlmeter G, Mohess A, et al. Developmental roadmap for antimicrobial susceptibility testing systems. Nat Rev Microbiol. janv 2019;17(1):51-62.

139. Van Belkum A, Burnham CAD, Rossen JWA, Mallard F, Rochas O, Dunne WM. Innovative and rapid antimicrobial susceptibility testing systems. Nat Rev Microbiol. mai 2020;18(5):299-311.

140. Chandrasekaran S, Abbott A, Campeau S, Zimmer BL, Weinstein M, Thrupp L, et al. Direct-from-Blood-Culture Disk Diffusion To Determine Antimicrobial Susceptibility of Gram-Negative Bacteria: Preliminary Report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. J Clin Microbiol. 22 févr 2018;56(3):e01678-17.

141. Marlowe E, Gibson L, Hogan J, Kaplan S, Bruckner D. Conventional and Molecular Methods for Verification of Results Obtained with BacT/Alert Nonvent Blood Culture Bottles. J Clin Microbiol. 1 mars 2003;41:1266-9.

142. Funke G, Funke-Kissling P. Use of the BD PHOENIX Automated Microbiology System for direct identification and susceptibility testing of gram-negative rods from positive blood cultures in a three-phase trial. J Clin Microbiol. avr 2004;42(4):1466-70.

143. Noussair L, Nicolas-Chanoine MH. Mesure de la sensibilité aux antibiotiques selon les conditions standard directement à partir de liquides biologiques infectés et d'hémocultures positives. Pathol Biol. avr 2007;55(3-4):143-8.

144. Jacobs MR, Good CE, Abdelhamed AM, Bonomo RA. Accuracy of Direct Antimicrobial Susceptibility Testing of Gram-Negative Bacteria from Positive Blood Cultures Using MicroScan System and Value of Using Expert Rules for β-Lactam Agents. Antimicrob Agents Chemother. 15 mars 2022;66(3):e0214821.

145. Doern GV, Scott DR, Rashad AL, Kim KS. Evaluation of a direct blood culture disk diffusion antimicrobial susceptibility test. Antimicrob Agents Chemother. nov 1981;20(5):696-8.

146. Wegner DL, Mathis CR, Neblett TR. Direct method to determine the antibiotic susceptibility of rapidly growing blood pathogens. Antimicrob Agents Chemother. mai 1976;9(5):861-2.

147. Fay D, Oldfather JE. Standardization of direct susceptibility test for blood cultures. J Clin Microbiol. mars 1979;9(3):347-50.

148. Coyle MB, McGonagle LA, Plorde JJ, Clausen CR, Schoenknecht FD. Rapid antimicrobial susceptibility testing of isolates from blood cultures by direct inoculation and early reading of disk diffusion tests. J Clin Microbiol. sept 1984;20(3):473-7.

149. Wootton M. BSAC methods for antimicrobial susceptibility testing; 2013.

150. CASFM/EUCAST: Recommandations 2018. V.2.0 Septembre. [Internet]. [cité 29 sep 2024]. Disponible sur : https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2018/12/CASFMV2_SEPTEMBRE2018.pdf.

151. de Cueto M, Ceballos E, Martinez-Martinez L, Perea EJ, Pascual A. Use of positive blood cultures for direct identification and susceptibility testing with the vitek 2 system. J Clin Microbiol. août 2004;42(8):3734-8.

152. Wimmer JL, Long SW, Cernoch P, Land GA, Davis JR, Musser JM, et al. Strategy for Rapid Identification and Antibiotic Susceptibility Testing of Gram-Negative Bacteria Directly Recovered from Positive Blood Cultures Using the Bruker MALDI Biotyper and the BD Phoenix System. J Clin Microbiol. juill 2012;50(7):2452-4.

153. Dipersio JR, Ficorilli SM, Varga FJ. Direct identification and susceptibility testing of gram-negative bacilli from BACTEC bottles by use of the MS-2 system with updated bacterial identification software. J Clin Microbiol. déc 1984;20(6):1202-4.

154. Lupetti A, Barnini S, Castagna B, Capria AL, Nibbering PH. Rapid identification and antimicrobial susceptibility profiling of Gram-positive cocci in blood cultures with the Vitek 2 system. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. janv 2010;29(1):89-95.

155. Yonetani S, Okazaki M, Araki K, Makino H, Fukugawa Y, Okuyama T, et al. Direct inoculation method using BacT/ALERT 3D and BD Phoenix System allows rapid and accurate identification and susceptibility testing for both Gram-positive cocci and Gram-negative rods in aerobic blood cultures. Diagn Microbiol Infect Dis. juin 2012;73(2):129-34.

156. Barnini S, Brucculeri V, Morici P, Ghelardi E, Florio W, Lupetti A. A new rapid method for direct antimicrobial susceptibility testing of bacteria from positive blood cultures. BMC Microbiol. 12 août 2016;16(1):185.

157. Brandt M, McCullor K, Harris D, Ratzlaff Z, Thompson E, Pfeifer CM. Direct inoculation method for identification and antimicrobial susceptibility testing using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and both the Vitek 2 and MicroScan Walkaway 96 Plus systems. Proc Bayl Univ Med Cent. 2023;36(3):354-9.

158. Hazelton B, Thomas LC, Olma T, Kok J, O'Sullivan M, Chen SCA, et al. Rapid and accurate direct antibiotic susceptibility testing of blood culture broths using MALDI Sepsityper combined with the BD Phoenix automated system. J Med Microbiol. 1 déc 2014;63(12):1590-4.

159. Croxatto A, Prod'hom G, Durussel C, Greub G. Preparation of a Blood Culture Pellet for Rapid Bacterial Identification and Antibiotic Susceptibility Testing. J Vis Exp JoVE. 15 oct 2014;(92):51985.

160. Watanabe N, Koyama S, Taji Y, Mitsutake K, Ebihara Y. Direct microorganism species identification and antimicrobial susceptibility tests from positive blood culture bottles using rapid Sepsityper Kit. J Infect Chemother. avr 2022;28(4):563-8.

161. Cordovana M, Zignoli A, Ambretti S. Rapid Sepsityper in clinical routine: 2 years' successful experience. J Med Microbiol. 1 déc 2020;69(12):1398-404.

162. Hogan C, Watz N, Budvytiene I, Banaei N. Rapid antimicrobial susceptibility testing by VITEK®2 directly from blood cultures in patients with Gram-negative rod bacteremia. Diagn Microbiol Infect Dis. juin 2019;94(2):116-21.

163. Gherardi G, Angeletti S, Panitti M, Pompilio A, Di Bonaventura G, Crea F, et al. Comparative evaluation of the Vitek-2 Compact and Phoenix systems for rapid identification and antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures of Gram-negative and Gram-positive isolates. Diagn Microbiol Infect Dis. janv 2012;72(1):20-31.

164. Quesada MD, Giménez M, Molinos S, Fernández G, Sánchez MD, Rivelo R, et al. Performance of VITEK-2 Compact and overnight MicroScan panels for direct identification and susceptibility testing of Gram-negative bacilli from positive FAN BacT/ALERT blood culture bottles. Clin Microbiol Infect. févr 2010;16(2):137-40.

165. Romero-Gómez MP, Gómez-Gil R, Paño-Pardo JR, Mingorance J. Identification and susceptibility testing of microorganism by direct inoculation from positive blood culture bottles by combining MALDI-TOF and Vitek-2 Compact is rapid and effective. J Infect. déc 2012;65(6):513-20.

166. Kavipriya D, Prakash SS, Dhandapani S, Rajshekar D, Sastry AS. Evaluation of the Performance of Direct Susceptibility Test by VITEK-2 from Positively Flagged Blood Culture Broth for Gram-Negative Bacilli. J Lab Physicians. déc 2021;13(4):374-9.

167. Pan HW, Li W, Li RG, Li Y, Zhang Y, Sun EH. Simple Sample Preparation Method for Direct Microbial Identification and Susceptibility Testing From Positive Blood Cultures. Front Microbiol. 2018;9:481.

168. Sy I, Bühler N, Becker SL, Jung P. Evaluation of the Qvella FAST System and the FAST-PBC cartridge for rapid species identification and antimicrobial resistance testing directly from positive blood cultures. J Clin Microbiol. 24 oct 2023;61(10):e0056923.

169. Grinberg S, Schubert S, Hochauf-Stange K, Dalpke AH, Narvaez Encalada M. Saving Time in Blood Culture Diagnostics: a Prospective Evaluation of the Qvella FAST-PBC Prep Application on the Fast System. J Clin Microbiol. 18 mai 2022;60(5):e0253321.

170. Maddalena C, Giuseppe M, Perez M, Guido S, Stefania S. Evaluation of the liquid colony for identification and antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood cultures. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 11 août 2023;22(1):72.

171. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Guidance for Industry and FDA Class II Special Controls Guidance Document: Antimicrobial Susceptibility Test (AST) Systems Document issued on: August 28, 2009.

172. Jorgensen JH. Selection criteria for an antimicrobial susceptibility testing system. J Clin Microbiol. nov 1993;31(11):2841-4.

173. Bevan ER, Jones AM, Hawkey PM. Global epidemiology of CTX-M β-lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. J Antimicrob Chemother. 1 août 2017;72(8):2145-55.

174. Bernabeu S, Ratnam KC, Boutal H, Gonzalez C, Vogel A, Devilliers K, et al. A Lateral Flow Immunoassay for the Rapid Identification of CTX-M-Producing *Enterobacterales* from Culture Plates and Positive Blood Cultures. Diagnostics. 28 sept 2020;10(10):764.

175. Bianco G, Boattini M, Iannaccone M, Cavallo R, Costa C. Evaluation of the NG-Test CTX-M MULTI immunochromatographic assay for the rapid detection of CTX-M extended-spectrum-β-lactamase producers from positive blood cultures. J Hosp Infect. juin 2020;105(2):341-3.

176. Keshta AS, Elamin N, Hasan MR, Pérez-López A, Roscoe D, Tang P, et al. Evaluation of Rapid Immunochromatographic Tests for the Direct Detection of Extended Spectrum Beta-Lactamases and Carbapenemases in *Enterobacterales* Isolated from Positive Blood Cultures. Microbiol Spectr. 2021;9(3):e00785-21.

177. Boattini M, Bianco G, Comini S, Iannaccone M, Casale R, Cavallo R, et al. Direct detection of extended-spectrum-β-lactamase-producers in *Enterobacterales* from blood cultures: a comparative analysis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2022;41(3):407-13.

178. Gonzalez C, Moguet C, Chalin A, Oueslati S, Dortet L, Simon S, et al. Comparison of Three Expanded-Spectrum Cephalosporin Hydrolysis Assays and the NG-Test CTX-M Multi Assay That Detects All CTX-M-Like Enzymes. Diagnostics. 14 janv 2022;12(1):197.

179. Bianco G, Boattini M, Van Asten SAV, Iannaccone M, Zanotto E, Zaccaria T, et al. RESIST-5 O.O.K.N.V. and NG-Test Carba 5 assays for the rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacterales* from positive blood cultures: a comparative study. J Hosp Infect. juin 2020;105(2):162-6.

180. Hong J, Kang D, Kim D. Performance Evaluation of the Newly Developed In Vitro Rapid Diagnostic Test for Detecting OXA-48-Like, KPC-, NDM-, VIM- and IMP-Type Carbapenemases: The RESIST-5 O.K.N.V.I. Multiplex Lateral Flow Assay. Antibiot Basel Switz. 19 avr 2021;10(4):460.

181. Han R, Guo Y, Peng M, Shi Q, Wu S, Yang Y, et al. Evaluation of the Immunochromatographic NG-Test Carba 5, RESIST-5 O.O.K.N.V., and IMP K-SeT for Rapid Detection of KPC-, NDM-, IMP-, VIM-type, and OXA-48-like Carbapenemase Among *Enterobacterales*. Front Microbiol. 15 janv 2021;11:609856.

182. El Kettani A, Maaloum F, Nzoyikorera N, Khalis M, Katfy K, Belabbes H, et al. Evaluation of the Performances of the Rapid Test RESIST-5 O.O.K.N.V Used for the Detection of Carbapenemases-Producing *Enterobacterales*. Antibiot Basel Switz. 6 août 2021;10(8):953.

183. Giordano L, Fiori B, D'Inzeo T, Parisi G, Liotti FM, Menchinelli G, et al. Simplified Testing Method for Direct Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Positive Blood Cultures Using the NG-Test Carba 5 Assay. Antimicrob Agents Chemother. juill 2019;63(7):e00550-19.

184. Jenkins S, Ledeboer NA, Westblade LF, Burnham CA, Faron ML, Bergman Y, et al. Evaluation of NG-Test Carba 5 for Rapid Phenotypic Detection and Differentiation of Five Common Carbapenemase Families: Results of a Multicenter Clinical Evaluation. J Clin Microbiol. 24 juin 2020;58(7):e00344-20.

185. Ben-Haim O, Azrad M, Saleh N, Tkhawkho L, Peretz A. Evaluation of the NG-Test CARBA 5 Kit for Rapid Detection of Carbapenemase Resistant Enterobacteriaceae. Lab Med. 1 juill 2021;52(4):375-80.

186. Saito K, Mizuno S, Nakano R, Tanouchi A, Mizuno T, Nakano A, et al. Evaluation of NG-Test CARBA 5 for the detection of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. J Med Microbiol. juin 2022;71(6).

187. Laurent T, Huang TD, Bogaerts P, Glupczynski Y. Evaluation of the βLACTA test, a novel commercial chromogenic test for rapid detection of ceftazidime-nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* isolates. J Clin Microbiol. juin 2013;51(6):1951-4.

188. Morosini MI, García-Castillo M, Tato M, Gijón D, Valverde A, Ruiz-Garbajosa P, et al. Rapid Detection of β-Lactamase-Hydrolyzing Extended-Spectrum Cephalosporins in Enterobacteriaceae by Use of the New Chromogenic βLacta Test. J Clin Microbiol. mai 2014;52(5):1741-4.

189. Renvoisé A, Decré D, Amarsy-Guerle R, Huang TD, Jost C, Podglajen I, et al. Evaluation of the βLacta Test, a Rapid Test Detecting Resistance to Third-Generation Cephalosporins in Clinical Strains of Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. déc 2013;51(12):4012-7.

190. Bernabeu S, Dortet L, Naas T. Evaluation of the β-CARBA^{TM} test, a colorimetric test for the rapid detection of carbapenemase activity in Gram-negative bacilli. J Antimicrob Chemother. juin 2017;72(6):1646-58.

191. Noël A, Huang TD, Berhin C, Hoebeke M, Bouchahrouf W, Yunus S, et al. Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria. J Clin Microbiol. févr 2017;55(2):510-8.

192. Meier M, Hamprecht A. Rapid detection of carbapenemases directly from positive blood cultures by the β-CARBA test. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. févr 2019;38(2):259-64.

193. Meier M, Hamprecht A. Systematic Comparison of Four Methods for Detection of Carbapenemase-Producing *Enterobacterales* Directly from Blood Cultures. J Clin Microbiol. 23 oct 2019;57(11):e00709-19.

194. Kour I, Vasesi D, Singhal L, Gupta V. Comparative Evaluation of Three Phenotypic Tests—Carba NP, Modified Carba NP and Rapidec Carba NP Test for Rapid Detection of Carbapenem Resistance in Blood Culture Isolates of *Escherichia coli* in an ICU Setting. Malays J Med Sci MJMS. déc 2022;29(6):60-6.

195. Cunningham SA, Limbago B, Traczewski M, Anderson K, Hackel M, Hindler J, et al. Multicenter Performance Assessment of Carba NP Test. J Clin Microbiol. juin 2017;55(6):1954-60.

196. Dortet L, Agathine A, Naas T, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Evaluation of the RAPIDEC ® CARBA NP, the Rapid CARB Screen ® and the Carba NP test for biochemical detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother. nov 2015;70(11):3014-22.

197. Kabir MH, Meunier D, Hopkins KL, Giske CG, Woodford N. A two-centre evaluation of RAPIDEC ® CARBA NP for carbapenemase detection in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. J Antimicrob Chemother. mai 2016;71(5):1213-6.

198. Yusuf E, Van Der Meeren S, Schallier A, Piérard D. Comparison of the Carba NP test with the Rapid CARB Screen Kit for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. déc 2014;33(12):2237-40.

199. Scanvic A, Ergani A, Turdu FL. Utilisation du test chromogénique β-LACTA TM pour la détection rapide des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération directement sur les hémocultures. RICAI. 2013;

200. Prod'hom G, Durussel C, Blanc D, Croxatto A, Greub G. Early detection of extended-spectrum β-lactamase from blood culture positive for an *Enterobacteriaceae* using βLACTA test. New Microbes New Infect. 1 nov 2015;8:1-3.

201. Walewski V, Podglajen I, Lefeuvre P, Dutasta F, Neuschwander A, Tilouche L, et al. Early detection with the β-LACTA™ test of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in blood cultures. Diagn Microbiol Infect Dis. nov 2015;83(3):216-8.

202. Corpo OD, Senécal J, Hsu JM, Lawandi A, Lee TC. Rapid phenotypic testing for detection of carbapenemase- or extended-spectrum ß-lactamase-producing *Enterobacterales* directly from blood cultures: a systematic review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 1 déc 2023;29(12):1516-27.

203. Takissian J, Bonnin RA, Naas T, Dortet L. NG-Test Carba 5 for Rapid Detection of Carbapenemase-Producing *Enterobacterales* from Positive Blood Cultures. Antimicrob Agents Chemother. mai 2019;63(5):e00011-19.

204. Dortet L, Jousset A, Gauthier L, Bonnin RA, Naas T. Note technique : Détection des souches d'entérobactéries productrices d'une carbapénèmase. CNR associé de la résistance aux antibiotiques. Juillet 2018. [Internet]. [Cité 29 sep 2024]. Disponible sur : https://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/expertise-des-souches-1.html.

205. Mizrahi A, Amzalag J, Couzigou C, Péan De Ponfilly G, Pilmis B, Le Monnier A. Clinical impact of rapid bacterial identification by MALDI-TOF MS combined with the bêta-LACTA™ test on early antibiotic adaptation by an antimicrobial stewardship team in bloodstream infections. Infect Dis. 2 sept 2018;50(9):668-77.

206. Dépret F, Aubry A, Fournier A, Charles-Nelson A, Katsahian S, Compain F, et al. β LACTA testing may not improve treatment decisions made with MALDI-TOF MS-informed antimicrobial stewardship advice for patients with Gram-negative bacteraemia: a prospective comparative study. J Med Microbiol. 2018;67(2):183-9.

207. Mizrahi A, Jaureguy F, Petit H, Péan de Ponfilly G, Carbonnelle E, Le Monnier A, et al. Early Empirical Antibiotic Therapy Modification in Sepsis Using Beta-Lacta Test Directly on Blood Cultures. Int J Transl Med. sept 2022;2(3):448-55.

208. Garnier M, Gallah S, Vimont S, Benzerara Y, Labbe V, Constant AL, et al. Multicentre randomised controlled trial to investigate usefulness of the rapid diagnostic βLACTA test performed directly on bacterial cell pellets from respiratory, urinary or blood samples for the early de-escalation of carbapenems in septic intensive care unit patients: the BLUE-CarbA protocol. BMJ Open. 3 févr 2019;9(2):e024561.

209. Sękowska A, Bogiel T. The Evaluation of Eazyplex® SuperBug CRE Assay Usefulness for the Detection of ESBLs and Carbapenemases Genes Directly from Urine Samples and Positive Blood Cultures. Antibiotics. 21 janv 2022;11(2):138.

210. Comini S, Bianco G, Boattini M, Banche G, Ricciardelli G, Allizond V, et al. Evaluation of a diagnostic algorithm for rapid identification of Gram-negative species and detection of extended-spectrum β-lactamase and carbapenemase directly from blood cultures. J Antimicrob Chemother. 3 oct 2022;77(10):2632-41.

211. Leikeim RSM, Kesselmeier M, Löffler B, Rödel J, Höring S. Diagnostic accuracy and clinical impact of loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of *Staphylococcus aureus* bacteremia: a retrospective observational study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. avr 2020;39(4):679-88.

212. Buchan BW, Allen S, Burnham CAD, McElvania TeKippe E, Davis T, Levi M, et al. Comparison of the next-generation Xpert MRSA/SA BC assay and the GeneOhm StaphSR assay to routine culture for identification of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in positive-blood-culture broths. J Clin Microbiol. mars 2015;53(3):804-9.

213. Nayak G, Behera B, Mahapatra A, Tripathy S, Biswal J. Molecular Detection of Carbapenemase Enzymes Directly from Positive Blood Cultures Using Xpert Carba-R. J Lab Physicians. sept 2022;14(03):365-8.

214. Both A, Berneking L, Berinson B, Lütgehetmann M, Christner M, Aepfelbacher M, et al. Rapid identification of the vanA/vanB resistance determinant in Enterococcus sp. from blood cultures using the Cepheid Xpert vanA/vanB cartridge system. Diagn Microbiol Infect Dis. avr 2020;96(4):114977.

215. Buchan BW, Reymann GC, Granato PA, Alkins BR, Jim P, Young S. Preliminary Evaluation of the Research-Use-Only (RUO) iCubate iC-GPC Assay for Identification of Select Gram-Positive Bacteria and Their Resistance Determinants in Blood Culture Broths. Bourbeau P, éditeur. J Clin Microbiol. déc 2015;53(12):3931-4.

216. Granato PA, Unz MM, Widen RH, Silbert S, Young S, Heflin KL, et al. Clinical Evaluation of the iCubate iC-GPC Assay for Detection of Gram-Positive Bacteria and Resistance Markers from Positive Blood Cultures. Richter SS, éditeur. J Clin Microbiol. sept 2018;56(9):e00485-18.

217. Bryant S, Almahmoud I, Pierre I, Bardet J, Touati S, Maubon D, et al. Evaluation of Microbiological Performance and the Potential Clinical Impact of the ePlex® Blood Culture Identification Panels for the Rapid Diagnosis of Bacteremia and Fungemia. Front Cell Infect Microbiol. 2020;10:594951.

218. Dunbar SA, Gardner C, Das S. Diagnosis and Management of Bloodstream Infections With Rapid, Multiplexed Molecular Assays. Front Cell Infect Microbiol. 16 mars 2022;12:859935.

219. Lodise TP, McKinnon PS, Levine DP, Rybak MJ. Impact of empirical-therapy selection on outcomes of intravenous drug users with infective endocarditis caused by methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. oct 2007;51(10):3731-3.

220. Sze DTT, Lau CCY, Chan TM, Ma ESK, Tang BSF. Comparison of novel rapid diagnostic of blood culture identification and antimicrobial susceptibility testing by Accelerate Pheno system and BioFire FilmArray Blood Culture Identification and BioFire FilmArray Blood Culture Identification 2 panels. BMC Microbiol. 18 déc 2021;21:350.

221. Chen K, Malik AA, Sheng YJ, Ahmed S, Sun C, Deng CL, et al. Clinical Utility of Molecular Tests for Guiding Therapeutic Decisions in Bloodstream Staphylococcal Infections: A Meta-Analysis. Front Pediatr. 5 août 2021;9:713447.

222. Emonet S, Charles PG, Harbarth S, Stewardson AJ, Renzi G, Uckay I, et al. Rapid molecular determination of methicillin resistance in staphylococcal bacteraemia improves early targeted antibiotic prescribing: a randomized clinical trial. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. nov 2016;22(11):946.e9-946.e15.

223. Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, MacDougall C, Schuetz AN, Septimus EJ, et al. Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 15 mai 2016;62(10):e51-77.

224. Rivard KR, Athans V, Lam SW, Gordon SM, Procop GW, Richter SS, et al. Impact of antimicrobial stewardship and rapid microarray testing on patients with Gram-negative bacteremia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1 oct 2017;36(10):1879-87.

225. Beuving J, Wolffs PFG, Hansen WLJ, Stobberingh EE, Bruggeman CA, Kessels A, et al. Impact of same-day antibiotic susceptibility testing on time to appropriate antibiotic treatment of patients with bacteraemia: a randomised controlled trial. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. avr 2015;34(4):831-8.

226. Mponponsuo K, Leal J, Spackman E, Somayaji R, Gregson D, Rennert-May E. Mathematical model of the cost-effectiveness of the BioFire FilmArray Blood Culture Identification (BCID) Panel molecular rapid diagnostic test compared with conventional methods for identification of *Escherichia coli* bloodstream infections. J Antimicrob Chemother. 1 févr 2022;77(2):507-16.

227. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. avr 1966;45(4):493-6.

228. Jonasson E, Matuschek E, Kahlmeter G. The EUCAST rapid disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood culture bottles. J Antimicrob Chemother. 1 avr 2020;75(4):968-78.

229. Bianco G, Lombardo D, Ricciardelli G, Boattini M, Comini S, Cavallo R, et al. Multicentre Evaluation of the EUCAST Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing (RAST) Extending Analysis to 16-20 Hours Reading Time. Antibiot Basel Switz. 13 oct 2022;11(10):1404.

230. Jonasson E, Matuschek E, Kahlmeter G. Evaluation of prolonged incubation time of 16-20 h with the EUCAST rapid antimicrobial susceptibility disc diffusion testing method. J Antimicrob Chemother. 1 déc 2023;78(12):2926-32.

231. Jasuja JK, Zimmermann S, Burckhardt I. Evaluation of EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) for positive blood cultures in clinical practice using a total lab automation. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. juill 2020;39(7):1305-13.

232. Åkerlund A, Jonasson E, Matuschek E, Serrander L, Sundqvist M, Kahlmeter G, et al. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) in blood cultures: validation in 55 European laboratories. J Antimicrob Chemother. 1 nov 2020;75(11):3230-8.

233. Pariona JGM, Oliveira FA, Scoton PH, Barrón-Pastor HJ, Pariona EMM, Zaccariotto TR, et al. Rapid diagnostic of multidrug-resistant sepsis pathogens directly from blood culture bottles using MALDI-TOF and the EUCAST RAST. Diagn Microbiol Infect Dis. juin 2024;109(2):116247.

234. Bianco G, Boattini M, Comini S, Iannaccone M, Cavallo R, Costa C. Rapid determination of ceftazidime/avibactam susceptibility of carbapenemase-producing *Enterobacterales* directly from blood cultures: a comparative evaluation of EUCAST disc diffusion RAST and direct Etest® RAST. J Antimicrob Chemother. 29 mai 2022;77(6):1670-5.

235. Fernández-Caso B, Lumbreras-Iglesias P, Rodicio MR, Fernández J, Rodríguez-Lucas C. Usefulness of inclusion of ertapenem and temocillin screening breakpoints in the EUCAST rapid

antimicrobial susceptibility testing (RAST) for rapid detection of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* directly from positive blood cultures. J Antimicrob Chemother. 1 févr 2024;79(2):462-6.

236. Thomson GK, Jamros K, Snyder JW, Thomson KS. Digital imaging for reading of direct rapid antibiotic susceptibility tests from positive blood cultures. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. oct 2021;40(10):2105-12.

237. Cherkaoui A, Schorderet D, Azam N, Crudeli L, Fernandez J, Renzi G, et al. Fully Automated EUCAST Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing (RAST) from Positive Blood Cultures: Diagnostic Accuracy and Implementation. J Clin Microbiol. 2022;60(10):e00898-22.

238. Herroelen PH, Heestermans R, Emmerechts K, Vandoorslaer K, Wybo I, Piérard D, et al. Validation of Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing directly from blood cultures using WASPLab®, including Colibrí™ and Radian® in-Line Carousel. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. mai 2022;41(5):733-9.

239. Cardot Martin E, Colombier MA, Limousin L, Daude O, Izarn O, Cahen P, et al. Impact of EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) on management of Gram-negative bloodstream infection. Infect Dis Now. nov 2022;52(8):421-5.

240. Valentin T, Koenig E, Prattes J, Wunsch S, Loizenbaur T, Krause R, et al. Implementation of rapid antimicrobial susceptibility testing combined with routine infectious disease bedside consultation in clinical practice (RAST-ID): a prospective single-centre study. J Antimicrob Chemother. 1 janv 2021;76(1):233-8.

241. Tayşi MR, Öcal D, Çiçek Şentürk G, Çalişkan E, Çelik B, Şencan İ. Implementation of the EUCAST rapid antimicrobial susceptibility test (RAST) for carbapenemase/ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates, and its effect on mortality. J Antimicrob Chemother. 1 juill 2024;79(7):1540-6.

242. Payen M, Gaudart A, Legueult K, Kasprzak J, Emery A, Mutambayi G, et al. Evaluation of an Antibiotic Susceptibility Testing Method on *Enterobacterales*-Positive Blood Cultures in Less Than 8 h Using the Rapid Mueller-Hinton Diffusion Method in Conjunction with the SIRscan 2000 Automatic Reading Device. Microorganisms. 8 juill 2022;10(7):1377.

243. Pilmis B, Thy M, Diep J, Krob S, Périllaud C, Couzigou C, et al. Clinical impact of rapid susceptibility testing on MHR-SIR directly from blood cultures. J Antimicrob Chemother. 1 oct 2019;74(10):3063-8.

244. Van Honacker E, Vandendriessche S, Coorevits L, Verhasselt B, Boelens J. Impact of the introduction of EUCAST's concept of « area of technical uncertainty ». Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. févr 2022;41(2):203-7.

245. Hansen DS, Jensen AG, Nørskov-Lauritsen N, Skov R, Bruun B. Direct identification and susceptibility testing of enteric bacilli from positive blood cultures using VITEK (GNI+/GNS-GA). Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. janv 2002;8(1):38-44.

246. Ling TKW, Liu ZK, Cheng AFB. Evaluation of the VITEK 2 system for rapid direct identification and susceptibility testing of gram-negative bacilli from positive blood cultures. J Clin Microbiol. oct 2003;41(10):4705-7.

247. Machen A, Drake T, Wang YFW. Same day identification and full panel antimicrobial susceptibility testing of bacteria from positive blood culture bottles made possible by a combined lysis-filtration method with MALDI-TOF VITEK mass spectrometry and the VITEK2 system. PloS One. 2014;9(2):e87870.

248. Lupetti A, Barnini S, Castagna B, Nibbering PH, Campa M. Rapid identification and antimicrobial susceptibility testing of Gram-positive cocci in blood cultures by direct inoculation into the BD Phoenix system. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. juill 2010;16(7):986-91.

249. Florio W, Barnini S, Morici P, Lupetti A. Direct inoculation of positive blood cultures using the Phoenix system for antimicrobial susceptibility testing of both Gram-positive and Gram-negative bacteria. J Med Microbiol. mai 2015;64(Pt 5):582-5.

250. Maelegheer K, Nulens E. Same-day identification and antibiotic susceptibility testing on positive blood cultures: a simple and inexpensive procedure. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. avr 2017;36(4):681-7.

251. Gallois E, Fihman V, Danjean M, Gomart C, Kimseng H, Le Guen R, et al. QMAC-dRAST for the direct testing of antibiotic susceptibility for *Enterobacterale*s in positive blood-culture broth: a comparison of the performances with the MicroScan system and direct disc diffusion testing methods. J Antimicrob Chemother. 2 mars 2023;78(3):684-91.

252. Quirino A, Marascio N, Peronace C, Gallo L, Barreca GS, Giancotti A, et al. Direct antimicrobial susceptibility testing (AST) from positive blood cultures using Microscan system for early detection of bacterial resistance phenotypes. Diagn Microbiol Infect Dis. oct 2021;101(2):115485.

253. Christensen AB, Footer B, Pusch T, Heath K, Iqbal M, Wang L, et al. Impact of a Laboratory-Developed Phenotypic Rapid Susceptibility Test Directly From Positive Blood Cultures on Time to Narrowest Effective Therapy in Patients With Gram-Negative Bacteremia: A Prospective Randomized Trial. Open Forum Infect Dis. 1 juill 2022;9(7):ofac347.

254. Hogan CA, Ebunji B, Watz N, Kapphahn K, Rigdon J, Mui E, et al. Impact of Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing in Gram-Negative Rod Bacteremia: a Quasi-experimental Study. J Clin Microbiol. 24 août 2020;58(9):e00360-20.

255. Lahanas S, Stathopoulos G, Chan RC, van Hal SJ. Evaluation of the Alfred 60/AST device as a screening test for urinary tract infections. J Clin Microbiol. oct 2013;51(10):3406-8.

256. Giordano C, Piccoli E, Brucculeri V, Barnini S. A Prospective Evaluation of Two Rapid Phenotypical Antimicrobial Susceptibility Technologies for the Diagnostic Stewardship of Sepsis. BioMed Res Int. 2018;2018:6976923.

257. Anton-Vazquez V, Adjepong S, Suarez C, Planche T. Evaluation of a new Rapid Antimicrobial Susceptibility system for Gram-negative and Gram-positive bloodstream infections: speed and accuracy of Alfred 60AST. BMC Microbiol. 29 nov 2019;19(1):268.

258. Boland L, Streel C, De Wolf H, Rodriguez H, Verroken A. Rapid antimicrobial susceptibility testing on positive blood cultures through an innovative light scattering technology: performances and turnaround time evaluation. BMC Infect Dis. 21 nov 2019;19(1):989.

259. Sánchez-Carrillo C, Pescador P, Ricote R, Fuentes J, Losada C, Candela A, et al. Evaluation of the Alfred AST® system for rapid antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood cultures. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. sept 2019;38(9):1665-70.

260. Van Den Poel B, Meersseman P, Debaveye Y, Klak A, Verhaegen J, Desmet S. Performance and potential clinical impact of Alfred60AST (Alifax®) for direct antimicrobial susceptibility testing on positive blood culture bottles. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. janv 2020;39(1):53-63.

261. Mantzana P, Netsika F, Arhonti M, Meletis G, Kandilioti E, Kiriakopoulou M, et al. Performance evaluation of Alfred60AST rapid susceptibility testing directly from positive blood cultures in the routine laboratory workflow. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. juill 2021;40(7):1487-94.

262. Cupaiolo R, Cherkaoui S, Serrano G, Dauby N, Georgala A, Blumental S, et al. Antimicrobial susceptibility testing determined by Alfred 60/AST (Alifax®) in a multi-sites lab: performance's evaluation and optimization of workflow. J Microbiol Methods. mars 2022;194:106433.

263. Potvin M, Larranaga Lapique E, Hites M, Martiny D. Implementing Alfred60AST in a clinical lab: Clinical impact on the management of septic patients and financial analysis. Ann Pharm Fr. mai 2023;81(3):466-74.

264. Anton-Vazquez V, Suarez C, Planche T. Impact of rapid susceptibility testing on antimicrobial therapy and clinical outcomes in Gram-negative bloodstream infections. J Antimicrob Chemother. 23 févr 2022;77(3):771-81.

265. Marschal M, Bachmaier J, Autenrieth I, Oberhettinger P, Willmann M, Peter S. Evaluation of the Accelerate Pheno System for Fast Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing from Positive Blood Cultures in Bloodstream Infections Caused by Gram-Negative Pathogens. J Clin Microbiol. juill 2017;55(7):2116-26.

266. Descours G, Desmurs L, Hoang TLT, Ibranosyan M, Baume M, Ranc AG, et al. Evaluation of the Accelerate Pheno™ system for rapid identification and antimicrobial susceptibility testing of Gram-negative bacteria in bloodstream infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. août 2018;37(8):1573-83.

267. Pancholi P, Carroll KC, Buchan BW, Chan RC, Dhiman N, Ford B, et al. Multicenter Evaluation of the Accelerate PhenoTest BC Kit for Rapid Identification and Phenotypic Antimicrobial Susceptibility Testing Using Morphokinetic Cellular Analysis. J Clin Microbiol. avr 2018;56(4):e01329-17.

268. Charnot-Katsikas A, Tesic V, Love N, Hill B, Bethel C, Boonlayangoor S, et al. Use of the Accelerate Pheno System for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Pathogens in Positive Blood Cultures and Impact on Time to Results and Workflow. J Clin Microbiol. janv 2018;56(1):e01166-17.

269. Pantel A, Monier J, Lavigne JP. Performance of the Accelerate PhenoTM system for identification and antimicrobial susceptibility testing of a panel of multidrug-resistant Gram-negative bacilli directly from positive blood cultures. J Antimicrob Chemother. 2018;

270. Lutgring JD, Bittencourt C, McElvania TeKippe E, Cavuoti D, Hollaway R, Burd EM. Evaluation of the Accelerate Pheno System: Results from Two Academic Medical Centers. J Clin Microbiol. avr 2018;56(4):e01672-17.

271. Burnham JP, Wallace MA, Fuller BM, Shupe A, Burnham CAD, Kollef MH. Clinical Effect of Expedited Pathogen Identification and Susceptibility Testing for Gram-Negative Bacteremia and Candidemia by Use of the Accelerate PhenoTM System. J Appl Lab Med. janv 2019;3(4):569-79.

272. Elliott G, Malczynski M, Barr VO, Aljefri D, Martin D, Sutton S, et al. Evaluation of the impact of the Accelerate Pheno™ system on time to result for differing antimicrobial stewardship intervention models in patients with gram-negative bloodstream infections. BMC Infect Dis. 7 nov 2019;19(1):942.

273. De Angelis G, Posteraro B, Menchinelli G, Liotti FM, Spanu T, Sanguinetti M. Antimicrobial susceptibility testing of pathogens isolated from blood culture: a performance comparison of Accelerate Pheno™ and VITEK® 2 systems with the broth microdilution method. J Antimicrob Chemother. 1 janv 2019;74(Suppl 1):i24-31.

274. Schneider JG, Wood JB, Schmitt BH, Emery CL, Davis TE, Smith NW, et al. Susceptibility Provision Enhances Effective De-escalation (SPEED): utilizing rapid phenotypic susceptibility testing in Gram-negative bloodstream infections and its potential clinical impact. J Antimicrob Chemother. 1 janv 2019;74(Suppl 1):i16-23.

275. De Socio GV, Belati A, Paggi R, D'Arpino A, Moretti A, Allegrucci F, et al. Accelerate Pheno™ system in sepsis by Gram-negative pathogens: four months of hospital experience. New Microbiol. janv 2020;43(1):6-12.

276. Banerjee R, Komarow L, Virk A, Rajapakse N, Schuetz AN, Dylla B, et al. Randomized Trial Evaluating Clinical Impact of RAPid IDentification and Susceptibility Testing for Gram-negative Bacteremia: RAPIDS-GN. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1 juill 2021;73(1):e39-46.

277. Patel YA, Kirn TJ, Weinstein MP, Uprety P. Systematic Evaluation of the Accelerate Pheno System for Susceptibility Testing of Gram-Negative Bacteria Isolated from Blood Cultures. Microbiol Spectr. 22 déc 2021;9(3):e0183621.

278. Truong TT, Mongkolrattanothai K, Flores II, Dien Bard J. Evaluation of the Performance and Clinical Impact of a Rapid Phenotypic Susceptibility Testing Method Directly from Positive Blood Culture at a Pediatric Hospital. J Clin Microbiol. 2022;60(8):e00122-22.

279. Babowicz F, LaPlante R, Mitchell C, O'Donnell JN, Tobin E, George M, et al. Impact of Accelerate Pheno and BacT/Alert Virtuo on Clinical Processes and Outcomes in Patients with Sepsis and Concurrent Gram-Negative Bacteremia. Antimicrob Agents Chemother. 18 mai 2021;65(6):e02364-20.

280. Robinson ED, Stilwell AM, Attai AE, Donohue LE, Shah MD, Hill BK, et al. Implementation of a Rapid Phenotypic Susceptibility Platform for Gram-Negative Bloodstream Infections With Paired Antimicrobial Stewardship Intervention: Is the Juice Worth the Squeeze? Clin Infect Dis. 1 sept 2021;73(5):783-92.

281. Roth F, Leedahl ND, Leedahl DD, Guerrero DM. Clinical and Financial Impact of Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing in Blood Cultures. Antibiot Basel Switz. 18 janv 2022;11(2):122.

282. Dare RK, Lusardi K, Pearson C, McCain KD, Daniels KB, Van S, et al. Clinical Impact of Accelerate Pheno Rapid Blood Culture Detection System in Bacteremic Patients. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 6 déc 2021;73(11):e4616-26.

283. Walsh TL, Bremmer DN, Moffa MA, Trienski TL, Buchanan C, Stefano K, et al. Impact of an Antimicrobial Stewardship Program-bundled initiative utilizing Accelerate Pheno™ system in the management of patients with aerobic Gram-negative bacilli bacteremia. Infection. juin 2021;49(3):511-9.

284. Bhalodi AA, MacVane SH, Ford B, Ince D, Kinn PM, Percival KM, et al. Real-World Impact of the Accelerate PhenoTest BC Kit on Patients With Bloodstream Infections in the Improving Outcomes and Antimicrobial Stewardship Study: A Quasiexperimental Multicenter Study. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 25 août 2022;75(2):269-77.

285. Brosh-Nissimov T, Tzur A, Grupel D, Cahan A, Ma'aravi N, Heled-Akiva M, et al. Clinical impact of the accelerate PhenoTest® BC system on patients with gram-negative bacteremia and high risk of antimicrobial resistance: a prospective before-after implementation study. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 29 juill 2023;22(1):62.

286. Huh HJ, Song DJ, Shim HJ, Kwon WK, Park MS, Ryu MR, et al. Performance evaluation of the QMAC-dRAST for staphylococci and enterococci isolated from blood culture: a comparative study of performance with the VITEK-2 system. J Antimicrob Chemother. 1 mai 2018;73(5):1267-71.

287. Kim JH, Kim TS, Song SH, Choi J, Han S, Kim DY, et al. Direct rapid antibiotic susceptibility test (dRAST) for blood culture and its potential usefulness in clinical practice. J Med Microbiol. 2018;67(3):325-31.

288. Grohs P, Rondinaud E, Fourar M, Rouis K, Mainardi JL, Podglajen I. Comparative evaluation of the QMAC-dRAST V2.0 system for rapid antibiotic susceptibility testing of Gram-negative blood culture isolates. J Microbiol Methods. mai 2020;172:105902.

289. Grohs P, Picard S, Mainardi JL, Podglajen I. Assessment of version 2.5 of QMAC-dRAST for rapid antimicrobial susceptibility testing with reduced sample-to-answer turnaround time and an integrated expert system. Infect Dis Now. août 2021;51(5):470-6.

290. Rosselin M, Prod'hom G, Greub G, Croxatto A. Performance Evaluation of the Quantamatrix QMAC-dRAST System for Rapid Antibiotic Susceptibility Testing Directly from Blood Cultures. Microorganisms. 14 juin 2022;10(6):1212.

291. Wong AYW, Johnsson ATA, Özenci V. Performance of dRAST on Prospective Clinical Blood Culture Samples in a Simulated Clinical Setting and on Multidrug-Resistant Bacteria. Microbiol Spectr. 27 avr 2022;10(2):e0210721.

292. Choi H, Kim D, Kwon M. Clinical Usefulness of the QMAC-dRAST System for AmpC β-lactamase-Producing *Enterobacterales*. Ann Clin Microbiol. 2022;25(4).

293. Henderson A, Humphries R. Building a Better Test for Piperacillin-Tazobactam Susceptibility Testing: Would that It Were So Simple (It's Complicated). J Clin Microbiol. 28 janv 2020;58(2):10.1128/jcm.01649-19.

294. Kim JH, Kim I, Kang CK, Jun KI, Yoo SH, Chun JY, et al. Enhanced antimicrobial stewardship based on rapid phenotypic antimicrobial susceptibility testing for bacteraemia in patients with haematological malignancies: a randomized controlled trial. Clin Microbiol Infect. janv 2021;27(1):69-75.

295. Udekwu KI, Parrish N, Ankomah P, Baquero F, Levin BR. Functional relationship between bacterial cell density and the efficacy of antibiotics. J Antimicrob Chemother. avr 2009;63(4):745-57.

296. Esse J, Träger J, Valenza G, Bogdan C, Held J. Rapid phenotypic antimicrobial susceptibility testing of Gram-negative rods directly from positive blood cultures using the novel Q-linea ASTar system. J Clin Microbiol. 21 nov 2023;61(11):e0054923.

297. Göransson J, Sundqvist M, Ghaderi E, Lisby JG, Molin Y, Eriksson E, et al. Performance of a System for Rapid Phenotypic Antimicrobial Susceptibility Testing of Gram-Negative Bacteria Directly from Positive Blood Culture Bottles. J Clin Microbiol. 23 mars 2023;61(3):e0152522.

298. Banchini I, Borgatti EC, Foschi C, Lazzarotto T, Ambretti S. Evaluation of an automated rapid phenotypic antimicrobial susceptibility testing (ASTar, Q-linea AB) applied directly on blood cultures bottles positive for Gram-negative pathogens. New Microbiol. 2024;

299. Malmberg C, Torpner J, Fernberg J, Öhrn H, Ångström J, Johansson C, et al. Evaluation of the Speed, Accuracy and Precision of the QuickMIC Rapid Antibiotic Susceptibility Testing Assay With Gram-Negative Bacteria in a Clinical Setting. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:758262.

300. Rottman M, Rhodes PA, Singh P, Herrmann JL, Jeannot K, Cattoir V, et al. Clinical evaluation of the SPECIFIC REVEAL™ Rapid AST System with Gram-negative bacteremia samples in 6 hospitals in France and England. Poster presented at: 32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (ECCMID); 2022 May; Lisbon, Portugal.

301. Girlich D, Jousset AB, Emeraud C, Rezzoug I, Burwell R, Singh P, et al. Evaluation of the Reveal® AST (SPECIFIC) for Antimicrobial Susceptibility Testing from Positive Blood Culture Spiked with Carbapenem-Resistant Isolates. Pathogens. sept 2024;13(9):722.

302. Faria-Ramos I, Espinar MJ, Rocha R, Santos-Antunes J, Rodrigues AG, Cantón R, et al. A novel flow cytometric assay for rapid detection of extended-spectrum beta-lactamases. Clin Microbiol Infect. janv 2013;19(1):E8-15.

303. Marutescu LG. Current and Future Flow Cytometry Applications Contributing to Antimicrobial Resistance Control. Microorganisms. 16 mai 2023;11(5):1300.

304. Fonseca E Silva D, Silva-Dias A, Gomes R, Martins-Oliveira I, Ramos MH, Rodrigues AG, et al. Evaluation of rapid colistin susceptibility directly from positive blood cultures using a flow cytometry assay. Int J Antimicrob Agents. déc 2019;54(6):820-3.

305. Silva DF e, Andrade FF, Gomes R, Silva-Dias A, Martins-Oliveira I, Pérez-Viso B, et al. Ultra-rapid flow cytometry assay for colistin MIC determination in *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Clin Microbiol Infect. 1 nov 2020;26(11):1559.e1-1559.e4.

306. Costa de Oliveira S, Teixeira-Santos R, Silva A, Pinho E, Mergulhão P, Silva-Dias A, et al. Potential Impact of Flow Cytometry Antimicrobial Susceptibility Testing on the Clinical Management of Gram-Negative Bacteremia Using the FASTinov Kit. Front Microbiol. 12 déc 2017;8.

307. Pina-Vaz C, Silva-Dias A, Martins-Oliveira I, Gomes R, Perez-Viso B, Cruz S, et al. A multisite validation of a two hours antibiotic susceptibility flow cytometry assay directly from positive blood cultures. BMC Microbiol. 28 mai 2024;24(1):187.

308. Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, Ihde SM, Steckelberg JM, Moriarty JP, et al. Randomized Trial of Rapid Multiplex Polymerase Chain Reaction–Based Blood Culture Identification and Susceptibility Testing. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1 oct 2015;61(7):1071-80.

309. Caspar Y, Deves A, Richarme C, Le Marechal M, Ponderand L, Mounayar AL, et al. Clinical impact and cost-consequence analysis of ePlex® blood culture identification panels for the rapid diagnosis of bloodstream infections: a single-center randomized controlled trial. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1 juin 2024;43(6):1193-203.

310. Anton-Vazquez V, Hine P, Krishna S, Chaplin M, Planche T. Rapid versus standard antimicrobial susceptibility testing to guide treatment of bloodstream infection. Cochrane Database Syst Rev. 2021;(5).

311. Buehler SS, Madison B, Snyder SR, Derzon JH, Cornish NE, Saubolle MA, et al. Effectiveness of Practices To Increase Timeliness of Providing Targeted Therapy for Inpatients with Bloodstream Infections: a Laboratory Medicine Best Practices Systematic Review and Meta-analysis. Clin Microbiol Rev. janv 2016;29(1):59-103.

312. Pliakos EE, Andreatos N, Shehadeh F, Ziakas PD, Mylonakis E. The Cost-Effectiveness of Rapid Diagnostic Testing for the Diagnosis of Bloodstream Infections with or without Antimicrobial Stewardship. Clin Microbiol Rev. 30 mai 2018;31(3):10.1128/cmr.00095-17.

FICHE SIGNALÉTIQUE

GUNTZ Nicolas N° d'ordre :

Né le 23/12/1997 à Sélestat

METHODES D'EVALUATION DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES REALISABLES DIRECTEMENT A PARTIR DE FLACONS D'HEMOCULTURES POSITIFS : REVUE DE LA LITTERATURE

Le 25/10/2024 à l'Institut de Bactériologie de Strasbourg

RESUME

Cette thèse synthétise les connaissances actuelles sur les bactériémies, qui constituent une urgence diagnostique et thérapeutique en raison de leur gravité et de leurs répercussions en termes de morbi-mortalité. Leur détection repose principalement sur les hémocultures. L'administration rapide d'une antibiothérapie efficace, ajustée selon les résultats de l'antibiogramme, est cruciale. Actuellement, l'antibiogramme est réalisé par ensemencement direct sur gélose Mueller-Hinton, nécessitant 16 à 24 heures d'incubation. Ce travail explore les avancées récentes dans les techniques d'antibiogrammes « rapides », permettant de réduire ces délais diagnostiques. Appliquées directement aux flacons d'hémocultures positifs, ces méthodes pourraient améliorer le pronostic des patients en accélérant l'adaptation de l'antibiothérapie, tout en freinant l'émergence des résistances.

This thesis synthesizes current knowledge on bacteremia, which represents a diagnostic and therapeutic emergency due to its severity and its impact on morbi-mortality. Detection primarily relies on blood cultures. The rapid administration of an effective antibiotic therapy, adjusted based on antibiotic susceptibility results, is crucial. Currently, susceptibility testing is performed through direct inoculation on Mueller-Hinton agar, requiring 16-24 hours of incubation. This work explores recent advances in "rapid" antibiotic susceptibility testing techniques aimed at reducing diagnostic delays. Applied directly to positive blood culture bottles, these methods could improve patient outcomes by accelerating antibiotic adaptation while helping to limit the emergence of resistance.

Mots clés :

Antibiogramme, Antibiothérapie, Bactériémies, Hémoculture, Rapide

Directeur de Thèse : Dr Frédéric SCHRAMM