

Profil microbiologique de l'infection du liquide d'ascite au Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI Oujda : Etude prospective et descriptive

Microbiological profile of ascitic fluid infection at Mohammed VI University Hospital in Oujda: A prospective and descriptive study

Kaoutar Ghomari^{1,2}, Abderrazak Saddari^{1,2,3}, Oumayma Abdessalami^{1,2}, Chaymae Benmoussa^{1,2}, Sabrina Belmahi^{1,2}, Hajar Zrouri^{1,2}, Said Ezrari¹, Elmostapha Benaissa^{4,5}, Yassine Ben Lahlou^{4,5}, Mostafa Elouennass^{4,5}, Adil Maleb^{1,2,3}

1. Laboratoire de microbiologie. Faculté de Médecine et de Pharmacie (Université Mohammed Premier), Oujda, Maroc
2. Laboratoire de microbiologie, Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI, Oujda, Maroc
3. Laboratoire des Bio-ressources, Biotechnologie, Ethnopharmacologie et Santé, Faculté des Sciences, Université Mohammed 1er, 60000 Oujda, Maroc
4. Département de bactériologie, Hôpital militaire universitaire Mohammed V, Rabat, Maroc
5. Équipe de recherche en épidémiologie et résistance bactérienne/Centre BIO-INOVA, Faculté de Médecine et de pharmacie (Université Mohammed V), Rabat, Maroc

RÉSUMÉ

Introduction-Objectif : L'infection spontanée du liquide d'ascite est une complication fréquente chez les cirrhotiques. Elle est associée à un taux élevé de mortalité. L'objectif de cette étude est de déterminer le profil épidémiologique et bactériologique de l'infection spontanée du liquide d'ascite, ainsi que la résistance aux antibiotiques chez les patients hospitalisés au CHU Mohammed VI, afin de guider les choix d'antibiotiques empiriques pour une meilleure prise en charge.

Méthodes : il s'agit d'une étude prospective s'étalant sur une période de 12 mois, du Janvier au Décembre 2023, portant sur l'ensemble des demandes d'examen bactériologique sur prélèvement de liquide d'ascite. Tous les échantillons reçus au laboratoire de microbiologie sont traités selon le Référentiel en microbiologie médicale (Remic).

Résultats : 137 échantillons du liquide d'ascite ont été inclus. Les principales étiologies incriminées dans l'ascite étaient : la cirrhose 50,36 % des cas, suivie par la pathologie néoplasique 24,1% des cas. La prévalence de l'infection du liquide d'ascite était de 13,87%, dont 63,16% correspond à une ascite neutrocytaire à culture négative. Le taux du bactériascite était de 74,07%. Les Cocci à Gram positif constituaient la majorité des pathogènes 56,67%, et 43,33% correspond aux bacilles à Gram négative. 28,57% des Staphylocoques à coagulase négative étaient résistants à la méthicilline. La résistance aux quinolones était observée 23,53% des CGP et 69,23% des entérobactéries isolées étaient multirésistantes.

Conclusion : La prévalence de la PBS due à des bactéries Gram-positives et multirésistantes a augmenté au cours des dernières années. L'antibiothérapie empirique actuellement recommandée, basée sur les céphalosporines de troisième génération, présente un risque élevé d'échec et pourrait devoir être réévaluée.

Mots clés : péritonite, infection, agent pathogène, résistance aux antibiotiques

ABSTRACT

Introduction-Aim : Spontaneous bacterial peritonitis (SBP) is a common complication in cirrhotic patients and is associated with a high mortality rate. The aim of this study is to determine the epidemiological and bacteriological profile of spontaneous bacterial peritonitis, as well as antibiotic resistance among hospitalized patients at CHU Mohammed VI, in order to guide empirical antibiotic choices for better management.

Methods : This is a prospective study conducted over a period of 12 months, from January to December 2023, focusing on all requests for bacteriological examination of ascitic fluid samples. All samples received at the microbiology laboratory were processed according to the Medical Microbiology Reference Standard (Remic).

Results : A total of 137 ascitic fluid samples were included. The main etiologies implicated in ascites were cirrhosis (50.36% of cases), followed by neoplastic pathology (24.1% of cases). The prevalence of spontaneous bacterial peritonitis was 13.87%, of which 63.16% corresponded to neutrocytic ascites with negative culture. The rate of bacterascite was 74.07%. Gram-positive cocci constituted the majority of pathogens (56.67%), with 43.33% corresponding to Gram-negative bacilli. 28.57% of coagulase-negative Staphylococci were methicillin-resistant. Quinolone resistance was observed in 23.53% of Gram-positive cocci, and 69.23% of isolated Enterobacteriaceae were multidrug-resistant.

Conclusion : The prevalence of SBP due to Gram-positive and multidrug-resistant bacteria has increased in recent years. The currently recommended empirical antibiotic therapy, based on third-generation cephalosporins, carries a high risk of failure and may need to be reassessed.

Key words : peritonitis, infection, pathogen, antibiotic resistance

Correspondance

Kaoutar Ghomari

Laboratoire de microbiologie. Faculté de Médecine et de Pharmacie (Université Mohammed Premier), Oujda, Maroc

Email: ghomarikaoutar97@gmail.com

INTRODUCTION

L'infection spontanée du liquide d'ascite est définie par un nombre absolu de polynucléaires neutrophile supérieur à 250 cellules par mm³ et l'absence d'une source intra-abdominale d'infection ou de malignité. Sa prévalence est de 10 à 30% en cas de cirrhose (1). Elle est souvent associée à un taux élevé de mortalité (2). Le mécanisme pathogène le plus incriminé à l'origine PBS est la translocation bactérienne, un processus par lequel les bactéries entériques traversent la barrière intestinale et infectent les ganglions lymphatiques mésentériques, entrant ainsi dans la circulation sanguine et le liquide ascitique (3). Le diagnostic de PBS est basé sur numération des polynucléaire neutrophiles ≥ 250 éléments/mm³ dans le liquide d'ascite, La culture n'est positive que dans 40 à 60 % des cas (4). Les agents pathogènes causals sont essentiellement des bacilles à Gram négatifs (*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*...) Suivi par des organismes à Gram-positifs comme les *Streptocoques* et les *Staphylocoques* (5).

L'objectif de cette étude est de déterminé le profil épidémiologique et bactériologique de l'infection spontanée du liquide d'ascite (ISLA), ainsi que la résistance aux antibiotiques chez les patients hospitalisés au CHU Mohammed VI, afin de guider les choix d'antibiotiques empiriques pour une meilleure prise en charge.

MÉTHODES

Il s'agit d'une étude prospective et descriptive, s'étalant sur une période 12 mois, du Janvier au Décembre 2023, portant sur l'ensemble des demandes d'examen bactériologique sur prélèvement du liquide d'ascite, reçus au laboratoire de microbiologie au Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI d'Oujda. Tous les dossiers de demande d'examen cyto-bactériologique du liquide d'ascite ; toutes étiologies confondues ; étaient exploités. Les échantillons de paracentèse de contrôle, ainsi que les demandes dont la phase pré-analytique n'était pas respectée ont été exclus.

Les prélèvements étaient envoyés le plus rapidement possible vers le laboratoire de microbiologie, et traités dans l'heure qui suit leur arrivée selon le référentiel en microbiologie (Remic)(6). Au laboratoire, la première étape était d'inoculer le liquide d'ascite dans des flacons d'hémoculture et l'encensement sur gélose au sang (aérobie et anaérobie), en suite une numération des éléments sur cellule de Malassez et une coloration de Gram et MGG rapide (kit RAL) sont réalisées. Les cultures sont incubées à 37°C pendant 5 jours. Les flacons d'hémoculture sont incubés au BD BACTEC™ pendant 15 jours.

Toutes les souches bactériennes isolées sont systématiquement exploitées, l'identification bactérienne a été réalisée sur des galeries biochimiques automatisées (BD Phoenix). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée en confrontant deux méthodes ; l'étude automatisée de concentration minimale inhibitrice (CMI) et la diffusion sur gélose de

Mueller Hinton. L'antibiogramme a été interprété selon les recommandations de l'EUCAST 2023.

Le traitement statistique des données a été réalisé en utilisant le logiciels Excel 2019.

RÉSULTATS

Pendant la période d'étude, nous avons traité 137 échantillons du liquide d'ascite provenant de patients hospitalisés aux différents services du Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI. L'âge moyen des patients était de 52 ans avec des extrêmes allant de l'âge néonatal à un âge avancé de 96ans, Le sexe féminin était prédominant avec un sexe ratio H/F de 0,87.

La cirrhose hépatique était en tête des étiologies avec un taux de 50,36 % (n=69), suivie par la pathologie néoplasique avec 24,1% (n=33) des cas. Autre étiologie comme l'insuffisance cardiaque (4,38%, n=6), le syndrome néphrotique (2,2%, n=3), insuffisance hépatocellulaire (1,46%, n=2) étaient minoritaire, cependant 7,1% (n=10) des patients n'avaient pas d'étiologie évidente.

La prévalence de l'infection du liquide d'ascite était de (13,87% ; n=19), avec une prédominance de l'ascite neutrocytaire (PNN ≥ 250 éléments/mm³) à culture négative (63,16% ; n=12).

La culture était positive dans (19,7% ; n=27) des cas dont (74,07% ; n=20) correspond à une Bactériascite définie par un nombre de PNN< 250 éléments/mm³ associé à une culture positive, tandis que (80,3% ; n=110) des cultures étaient négatives.

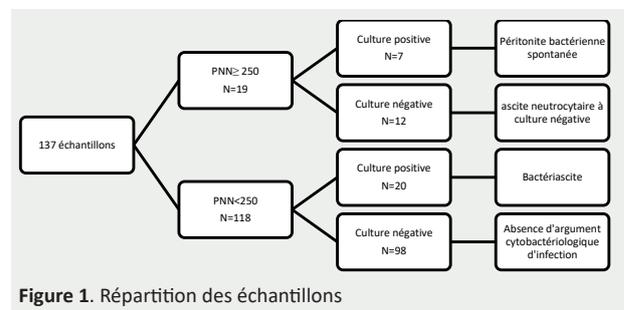


Figure 1. Répartition des échantillons

Pendant la période d'étude nous avons isolé 30 agents pathogènes à partir de 27 échantillons de culture d'ascite. Les CGP constituaient la majorité des pathogènes (56,67% ; n=17), et (43,33% ; n=13) correspond aux BGN, aucun champignon n'était détecté. En revanche une culture polymicrobienne était retrouvée chez (11,11% ; n=3).

Les principaux agents pathogènes identifiés étaient ; le *Staphylococcus spp* (30 % ; n=9) en chef de fil, suivi par *Streptococcus spp* (26,67 % ; n=8), et en fin *Escherichia coli* (n=7) et *Klebsiella pneumoniae* (n=6) avec des pourcentages de 23,33 % et 20% respectivement. Aucune souche des bactéries non fermentant n'a été trouvée. (Tableau 1)

(28,57% ; n=2) des *Staphylocoques* à coagulase négative étaient résistants à la méthicilline. L'activité antimicrobienne de la vancomycine, la nitrofurantoïne, sulfaméthoxazole-thiméthoprim et de la rifampicine contre *Staphylococcus spp* était forte avec un taux de sensibilité à 100%. La résistance aux quinolones

était observée chez 4 isolats (23,53%) (une souche de Staphylococcus Spp, une S. mitis et deux Streptococcus spp), concernant la résistance aux macrolides ; 70,6% (n=12) des CGP étaient résistants à l'érythromycine. Neuf souches des entérobactéries isolées (69,23 %) étaient multirésistantes.

Tableau 1. Répartition des agents pathogènes isolés dans le liquide d'ascite

	Genre	Espèce	Nombre	Pourcentage
Cocci Gram positif	Staphylococcus spp	S.aureus	2	6,67%
		S.épidermidis	2	6,67%
	N=9	S.capitis	1	3,33%
		S.hominis	1	3,33%
		Spp	3	10%
		Streptococcus	Sanguinis	1
N=8	Mitis	2	6,67%	
	Spp	5	16,67%	
	Bacille Gram négatif	Escherichia	E. coli	7
Klebsiella		K. pneumonia	6	20%
Total			30	100%

Les souches multirésistantes les plus fréquemment isolées étaient K. pneumonia productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE) (66,6 % ; n=4), suivies par E. coli productrices de BLSE (28,6% ; n= 2) ainsi que K.pneumonia productrices de carbapénèmase (KPC) (33,33% ; n=2). (84,61% ; n=11) des entérobactéries étaient résistantes à l'amoxicilline-acide clavulanique, (69,23% ; n=9) étaient résistants aux C3G et (38,46% ; n=5) étaient résistants à la pipéracilline-tazobactam. La résistance aux quinolones était observée chez 69,23% (n=9).

Le profil de résistance des principaux germes isolés figure dans les figures 2, 3 et 4 :

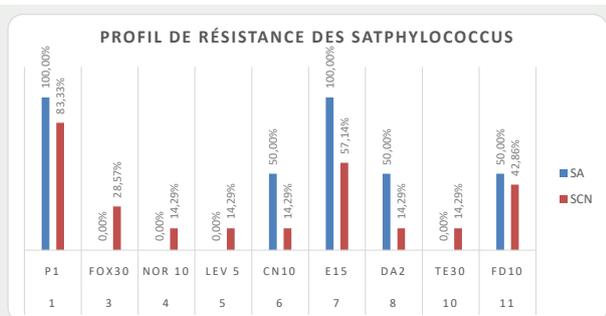


Figure 2. le profil de résistance des Staphylocoques isolés dans le liquide d'ascite.

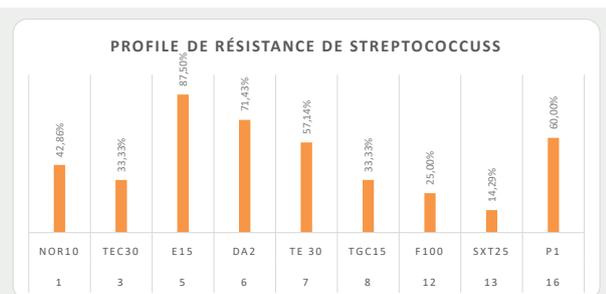


Figure 3. le profil de résistance des Streptocoques isolés dans le liquide d'ascite.

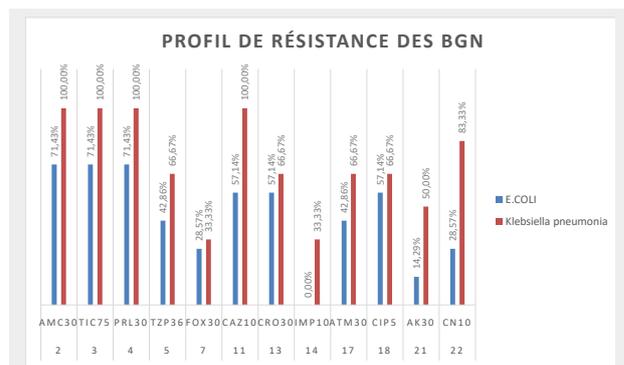


Figure 4. le profil de résistance des entérobactéries isolés dans le liquide d'ascite.

DISCUSSION

La cirrhose représente 81% d'étiologie de l'ascite dans la littérature, suivie par l'ascite maligne 10% (7). Cependant dans notre étude la cirrhose ne représentait que la moitié 50,36%, et l'ascite d'origine néoplasique le quart (24,1%). Peu d'études publiées dans la littérature s'intéressaient à l'ISLA hors cirrhose. Dans la présente étude la prévalence de l'ISLA était de 13,87%, avec un taux d'infection chez les cirrhotiques de 10% (n=7/69), et un taux d'infection de l'ascite maligne de 15% (n=5/33). En revanche une étude Chinoise portant sur 6086 patients cirrhotiques, seuls 288 ont développé une ISLA soit 4,73% (8). Une étude multicentrique a évalué la prévalence de l'infection du liquide d'ascite dans les cancers digestifs, a montré une prévalence sur 1 an de l'infection du liquide d'ascite était de 13,9% (9), ce qui est similaire à notre résultat. Dans notre étude l'ascite neutrocytaire à culture négative représentait (63,16%; n=12/19), ce qui comparable à l'étude L.Kamani et al. qui avaient un taux de 76.4% (10). Par contre, l'étude de AA Oladimeji et al. avait un taux de 33,3% (11). Ce taux élevé peut être expliqué par le retard d'ensemencement du liquide d'ascite. En effet, dans notre étude, la totalité des échantillons ont été adressés puis ensemencés au niveau du laboratoire. L'étude de Runon et al. a démontré que la sensibilité de l'examen est considérablement réduite lorsque le liquide d'ascite n'est pas ensemencé au lit du malade. Du fait que la PBS soit une infection monomicrobienne à faible nombre de colonies, elle peut être comparée à une bactériémie (4). Les dernières décennies ont connu des changements dans l'épidémiologie des infections bactériennes chez les patients atteints de cirrhose. La prévalence des infections causées par des BGN caractéristiques de la cirrhose a diminué au profit d'une augmentation des infections par des CGP (12).

Dans notre étude les CGP représentaient la majorité des pathogènes (56,67%), dont le plus fréquent était le Streptococcus spp 26,67%, suivi par le Staphylococcus à coagulase négatif 23,33%, le Staphylococcus aureus (n=2, 6,67%) et aucune souche d'Enterococcus n'était isolée, cela concorde en partie avec l'étude de A.Alexopoulou et al, qui avaient une prédominance des CGP 55%, dont le chef de file est le Streptococcus spp suivi par l'Enterococcus spp. Cette prédominance des CGP pourrait être attribuable au nombreux gestes invasifs ainsi que

l'antibioprophylaxie chez les patients cirrhotique (13)(14)(15). Cependant que des entérobactéries qui étaient isolés dans notre étude, les BGN non fermentant tels que le *Pseudomonas* spp et *Acinetobacter* spp, et les Candidoses n'étaient pas responsable d'infection, ces résultats sont contradictoires a ceux publiés dans la littérature (16).

Les bactéries multi-résistantes sont définies comme étant résistant à au moins un agent dans au moins 3 catégories antimicrobiennes. Les bactéries extrêmement résistantes aux médicaments (XDR) ont sont définies comme étant résistant à au moins un agent dans toutes les classes d'antibiotiques mais moins de 2 (c'est-à-dire que les isolats bactériens restent sensibles à seulement 1 ou 2 classes)(17).

Les céphalosporines de troisième génération ont montré des taux élevés de résistance de 69,23% (BGN), cependant l'étude de A.Alexopoulou avait un taux de 49%, et l'étude de Dharma B. et al 10%(18). Dans l'ensemble, la résistance aux quinolones représentait 40% de nos cas. Des taux élevés similaires de résistance aux quinolones dans les bactéries isolées ont été rapportés par Umgelter et al qui était de 45,2 % (19), et Alexopoulou et al 47%(20), donc Il est primordial de réévaluer régulièrement les stratégies de traitement empirique à l'échelle locale.

Les limites de cette étude sont principalement d'ordre statistique, en particulier en ce qui concerne la taille de l'échantillon et les biais de sélection des cas. La petite taille de l'échantillon rend difficile d'affirmer que les résultats sont représentatifs d'une population plus large, ce qui limite la portée des conclusions. Par ailleurs, l'étude étant menée dans un seul centre hospitalier, cela introduit un biais de sélection. Les profils bactériens et les résistances aux antibiotiques peuvent varier d'un établissement à l'autre ou selon les régions, ce qui restreint la généralisation des résultats à d'autres contextes géographiques ou hospitaliers.

Les nouvelles pistes de recherche sur l'infection du liquide d'ascite visent à mieux comprendre les mécanismes de résistance bactérienne, développer des traitements alternatifs, et concevoir des tests de diagnostic rapide pour une prise en charge plus efficace. De plus, des études multicentriques et sur les facteurs de risque, comme les comorbidités, pourraient permettre d'affiner les stratégies de prévention et de traitement adaptées à diverses populations.

CONCLUSION

La prévalence de la PBS due à des bactéries Gram-positives et multirésistantes a augmenté au cours des dernières années. L'antibiothérapie empirique actuellement recommandée, basée sur les céphalosporines de troisième génération, présente un risque élevé d'échec et pourrait devoir être réévaluée.

RÉFÉRENCES

- Hurwich DB, Lindor KD, Hay JE, Gross JB, Kaese D, Rakela J. Prevalence of Peritonitis and the Ascitic Fluid Protein Concentration among Chronic Liver Disease Patients. *The American Journal of Gastroenterology* [Internet]. 1993 [cited 2024 Jan 27];88(8):1254–7.
- Navasa M, Rodés J. Bacterial infections in cirrhosis [Internet]. Vol. 24, *Liver International*. Liver Int; 2004 [cited 2023 Nov 8]. p. 277–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15287849/>
- Maslennikov R, Pavlov C, Ivashkin V. Small intestinal bacterial overgrowth in cirrhosis: systematic review and meta-analysis. *Hepatology International*. 2018 Nov 1;12(6):567–76.
- Runyon BA, Canawati HN, Akriviadis EA. Optimization of ascitic fluid culture technique. *Gastroenterology*. 1988 Nov 1;95(5):1351–5.
- Fiore M, Maraolo AE, Gentile I, Borgia G, Leone S, Sansone P, et al. Current concepts and future strategies in the antimicrobial therapy of emerging Gram-positive spontaneous bacterial peritonitis. Vol. 9, *World Journal of Hepatology*. Baishideng Publishing Group Co; 2017. p. 1166–75.
- Suppurations closes liquides de séreuses infectées. I: R: SF de ME 2022: p. 36-368. *Référentiel en microbiologie médicale*. 2022.
- Carrier P, Jacques J, Debette-Gratien M, Legros R, Sarabi M, Vidal E, et al. L'ascite non liée à la cirrhose: Physiopathologie, diagnostic et étiologies. Vol. 35, *Revue de Medecine Interne*. Elsevier Masson; 2014. p. 365–71.
- Li YT, Yu CB, Huang JR, Qin ZJ, Li LJ. Pathogen profile and drug resistance analysis of spontaneous peritonitis in cirrhotic patients. *World Journal of Gastroenterology* [Internet]. 2015 Sep 28 [cited 2024 Jan 15];21(36):10409–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26420967/>
- Hébuterne X, Stratton R, Elia M. JFHOD | SNFGE.org - Société savante médicale française d'hépatogastroentérologie et d'oncologie digestive [Internet]. 2011 [cited 2024 Jan 29]. Available from: <https://www.snfge.org/content/infection-du-liquide-dascite-dans-les-0>
- Kamani L, Mumtaz K, Ahmed US, Ali AW, Jafri W. Outcomes in culture positive and culture negative ascitic fluid infection in patients with viral cirrhosis: Cohort study. *BMC Gastroenterology*. 2008 Dec 18;8.
- Oladimeji AA, Temi AP, Adekunle AE, Taiwo RH, Ayokunle DS. Prevalence of spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis with ascites. *The Pan African medical journal* [Internet]. 2013 [cited 2024 Jan 31];15:128. Available from: <https://www.ajol.info/index.php/pamj/article/view/100141>
- Wiest R, Krag A, Gerbes A. Spontaneous bacterial peritonitis: Recent guidelines and beyond [Internet]. Vol. 61, *Gut*. Gut; 2012 [cited 2024 Jan 26]. p. 297–310. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22147550/>
- Fiore M, Maraolo AE, Gentile I, Borgia G, Leone S, Sansone P, et al. Nosocomial spontaneous bacterial peritonitis antibiotic treatment in the era of multi-drug resistance pathogens: A systematic review [Internet]. Vol. 23, *World Journal of Gastroenterology*. World J Gastroenterol; 2017 [cited 2023 Dec 20]. p. 4654–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28740354/>
- Fernández J, Navasa M, Gómez J, Colmenero J, Vila J, Arroyo V, et al. Bacterial infections in cirrhosis: Epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis. *Hepatology* [Internet]. 2002 [cited 2024 Feb 12];35(1):140–8. Available from: <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1053/jhep.2002.30082>
- Campillo B, Dupeyron C, Richardet JP, Mangeney N, Leluan G. Epidemiology of severe hospital-acquired infections in patients with liver cirrhosis: Effect of long-term administration of norfloxacin. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 1998 [cited 2024 Feb 12];26(5):1066–70. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/26/5/1066/320863>
- Mane M, Mane P, Prajapati P, Afzalpurkar S, Aundhakar A, John D. Study of Frequency of Spontaneous Bacterial Peritonitis in Patients with Alcoholic Liver Cirrhosis with Ascites. *International Journal of Contemporary Medical Research ISSN (Online)* [Internet]. 2016 [cited 2024 Mar 28];43(7):2393–915. Available from: https://www.academia.edu/download/88659092/ijcmr_742_jul_11.pdf
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical*

- Microbiology and Infection [Internet]. 2012 [cited 2024 Jan 17];18(3):268–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21793988/>
18. Sunjaya DB, Lennon RJ, Shah VH, Kamath PS, Simonetto DA. Prevalence and Predictors of Third-Generation Cephalosporin Resistance in the Empirical Treatment of Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Mayo Clinic Proceedings*. 2019 Aug 1;94(8):1499–508.
 19. Umgelter A, Reindl W, Miedaner M, Schmid RM, Huber W. Failure of current antibiotic first-line regimens and mortality in hospitalized patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Infection* [Internet]. 2009 Feb [cited 2024 Feb 10];37(1):2–8. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s15010-008-8060-9>
 20. Alexopoulou A, Papadopoulos N, Eliopoulos DG, Alexaki A, Tsiriga A, Toutouza M, et al. Increasing frequency of gram-positive cocci and gram-negative multidrug-resistant bacteria in spontaneous bacterial peritonitis. *Liver International* [Internet]. 2013 Aug [cited 2024 Jan 28];33(7):975–81. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/liv.12152>