

Professeur D Malvy
Responsable pédagogique
et Directeur du Centre
denis.malvy@u-bordeaux.fr

Professeur JL Koeck
Co-responsable
pédagogique
jlkoeck@gmail.com

Docteur BA Gaüzère
Coordinateur pédagogique
Pays de l'océan indien
bernard.gauzere@chr-reunion.fr

Madame M Estager
Administration et Gestion
des enseignements
murielle.estager@u-bordeaux.fr

Capacité de Médecine Tropicale

Bactériologie des infections respiratoires basses dans un pays à forte endémicité tuberculeuse :

Etude de quatre-vingt-douze examens cyto bactériologiques des expectorations recueillis sur un an
dans le service tuberculose d'un hôpital provincial au Cambodge

Présenté par
Dr Astrid HENON LIM
Né(e) le 08/06/1979

Directeur
Dr Pascale MARTY

Rapporteur
Pr Pierre AUBRY

JURY

Président	Pr D Malvy
Membres	Dr K Ezzedine Dr Th Pistone Dr B Portal Dr MC Receveur

REMERCIEMENTS

Au Docteur Pascale Marty pour être à l'origine de ce mémoire et avoir accepté de diriger ce travail. J'ai été heureuse de te rencontrer, de travailler avec toi et te remercie de ton soutien.

Aux membres du Jury :

- Monsieur le Professeur Denis Malvy, Président du jury
- Monsieur le Docteur Khaled Ezzedine, membre du Jury
- Monsieur le Docteur Thierry Pistone, membre du Jury,
- Monsieur le Docteur Bernard Portal, membre du Jury
- Madame le Docteur Marie-Catherine Receveur, membre du Jury

pour leur attention et leurs appréciations.

Au Professeur Pierre Aubry pour avoir accepté de lire ce mémoire et d'en être le rapporteur.

Au Professeur Jean-Louis Koeck qui m'a accueillie avec bienveillance dans son service de Biologie Clinique de l'Hôpital d'Instruction des Armées Robert Picqué. Au Docteur Philippe Dubrous et au Docteur Bruno Soullié pour le temps et le savoir partagés.

Au Docteur Jean-Claude Coué pour son accueil et son accompagnement au Centre de Vaccination de l'Hôpital d'Instruction des Armées Robert Picqué.

Au Professeur Pascal Millet qui m'a orienté et soutenu à chaque étape de l'organisation de mon stage au Cambodge.

Aux Professeurs Lon Chan Rasmey, Directeur Adjoint du Département de Santé Provincial de Kampong Cham au Cambodge, Mea Chea, Directeur l'Hôpital de Kampong Cham, et Yin Sinath, son Directeur Adjoint, qui m'ont ouvert les portes de leur hôpital.

A toute l'équipe de Médecins Sans Frontières, qui m'a accueillie chaleureusement à ses côtés, et avec laquelle il était si agréable de travailler.

A Madame Murielle Estager pour ses conseils avisés et son efficacité.

RESUME

Les infections respiratoires font partie des quatre principales causes de décès au Cambodge, avec les diarrhées, le paludisme et la tuberculose.

Cette étude rétrospective a pour but de décrire les principales bactéries retrouvées lors d'infections respiratoires basses, ainsi que leurs résistances, dans un pays à faible niveau de revenu où la tuberculose est endémique. Nous avons étudié les quatre-vingt-douze examens cyto-bactériologiques des expectorations positifs de patients adultes cambodgiens, vus en consultation ou hospitalisés dans le service Tuberculose de l'Hôpital Provincial de Kampong Cham, entre le 1er juin 2013 et le 31 mai 2014.

Les bacilles gram négatif sont les principales bactéries retrouvées, avec au premier plan : *Pseudomonas* et *Klebsiella*, représentant chacun respectivement 36,9% et 32,6% des examens cyto-bactériologiques des expectorations. Nos résultats diffèrent des bactéries principalement responsables d'infections respiratoires basses de l'adulte, selon la Société Respiratoire Européenne et la Société Européenne de Microbiologie Clinique et de Pathologies Infectieuses, dans l'actualisation de leurs recommandations d'antibiothérapie en 2011. Dans notre étude, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* représentent respectivement 1,1% et 4,3% des examens cyto-bactériologiques des expectorations, probablement sous-estimés par manque de moyens techniques. Des résistances élevées sont observées notamment pour *Klebsiella* et *Escherichia coli*.

Ces données suggèrent la nécessité d'une adaptation locale des recommandations thérapeutiques occidentales habituellement utilisées. Elles demanderaient à être affinées par des études de plus grande envergure sur le territoire. La prédominance du *Pseudomonas* dans notre population et la présence parmi les bacilles gram négatif de *Stenotrophomonas*, bactérie exclusivement associée à la tuberculose, évoquent un lien entre l'écologie bactérienne respiratoire et la tuberculose, mais cette voie demanderait à être davantage explorée par des études spécifiques.

LISTE DES ABREVIATIONS

BGN	Bacille gram négatif
BLSE	Beta-lactamase à spectre étendu
BPCO	Broncho-pneumopathie chronique obstructive
CNRP	Cambodia National Rescue Party
CRP	Protéine C réactive
ECBC	Examen cyto bactériologique des crachats
ERS	European Respiratory Society
ESCMID	European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases
FUNK	Front d'Union National du Kampuchéa
IDH	Indice de développement humain
PCK	Parti Communiste du Kampuchéa
PNUD	Programme des Nations Unies pour le développement
PPC	Parti du Peuple Cambodgien
UFC	Unité formant colonie
VEMS	Volume expiratoire maximal par seconde

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS.....	2
RESUME.....	3
LISTE DES ABREVIATIONS	4
INTRODUCTION.....	7
RAPPELS.....	8
I. Le Cambodge.....	8
1) Situation géographique et contexte historique.....	8
2) Contexte économique.....	10
3) Situation sociale et sanitaire.....	10
II. Les infections respiratoires basses.....	12
1) Les bactéries.....	12
2) Les antibiotiques recommandés en ambulatoire.....	13
3) Les antibiotiques recommandés en hospitalisation.....	13
L'ETUDE.....	16
I. Objectifs.....	16
II. Matériels et méthodes.....	17
1) Choix de la population.....	17
a) Critères d'inclusion et effectif.....	17
b) Période de l'étude.....	17
c) Lieu de l'étude.....	17
2) Recueil des données.....	17
a) Mode de recueil.....	17
b) Type de données.....	18
c) Définition des variables.....	18

III. Résultats.....	19
1) Population étudiée et bactéries identifiées à l'ECBC.....	19
2) Profil des bactéries.....	20
a) Pseudomonas.....	20
b) Klebsiella.....	21
c) Autres bactéries.....	23
3) Antibiothérapie de première intention.....	28
IV. Discussion.....	29
1) Intérêts et limites de l'étude.....	29
2) Discussion des résultats.....	32
CONCLUSION.....	37
BIBLIOGRAPHIE.....	38

INTRODUCTION

La tuberculose est une infection bactérienne pulmonaire ou extra-pulmonaire due à *Mycobacterium tuberculosis*, et transmise d'homme à homme par voie aérienne. Pourtant évitable et curable, il s'agit de la deuxième cause de mortalité par un agent infectieux dans le monde après le virus de l'immunodéficience humaine, avec 1,3 millions de décès en 2012. Maladie de la pauvreté, plus de 95% des cas surviennent dans un pays à ressources limitées ou dans une communauté pauvre.

En 2012, 60% des nouveaux cas de tuberculose sont survenus en Asie du Sud-Est. Le Cambodge, qui compte parmi les vingt-deux pays les plus touchés, a un programme national de dépistage et prise en charge de la tuberculose depuis 1994. Dans le service Tuberculose de l'Hôpital Provincial de Kampong Cham, l'objectif est le diagnostic et le traitement de la tuberculose mais les maladies rencontrées balayent le champ des pathologies respiratoires : bronchites ou pneumopathies aiguës, bronchopathies chroniques obstructives ou dilatations des bronches éventuellement surinfectées, ou bien encore un cancer pulmonaire. Nous nous sommes interrogés sur les germes retrouvés à l'examen cytbactériologique des expectorations dans un pays à haute prévalence de la tuberculose où les deux tiers de la population ont déjà été infectés par *Mycobacterium tuberculosis*. Les principales bactéries responsables d'infections respiratoires basses sont-elles les mêmes que dans les pays où la tuberculose n'est pas endémique et d'où sont émises les principales recommandations de traitement ? La haute prévalence de la tuberculose pourrait-elle influencer sur la population bactérienne retrouvée ?

Pour chercher des réponses à ces interrogations, nous avons réalisé une étude sur les examens cytbactériologiques des expectorations positifs du service Tuberculose de l'Hôpital Provincial de Kampong Cham au Cambodge durant un an. Tout d'abord nous ferons le point sur le Cambodge, sa situation géographique et son contexte historique, avant de dresser les situations économique puis sanitaire et sociale actuelles. Dans un deuxième temps, nous reviendrons sur les principales bactéries responsables d'infections respiratoires basses et leur traitement à travers l'actualisation en 2011 des recommandations de la Société Respiratoire Européenne, en collaboration avec la Société Européenne de Microbiologie Clinique et de Pathologies Infectieuses. Enfin, nous présenterons et discuterons les résultats de notre étude, afin de voir si les recommandations d'antibiothérapie de la Société Respiratoire Européenne sont applicables à notre population, tout en cherchant des liens éventuels entre la tuberculose et les bactéries retrouvées.

En 1970, Lon Nol et le Prince Sirik Matak, cousin du Prince Sihanouk, destituent ce dernier de ses fonctions de chef d'Etat. Alors que les Etats-Unis considèrent comme légal ce coup d'Etat, le prince Sihanouk, exilé à Pékin, s'allie au Parti Communiste du Kampuchéa (PCK) et fonde le Front d'Union National du Kampuchéa (FUNK). Il appelle le peuple à la révolte, et des milliers de personnes prennent le maquis pour rejoindre le bras armé du FUNK.

Les différentes offensives de ce dernier conduisent à la prise de Phnom Penh le 17 avril 1975. Le Cambodge devient le Kampuchéa Démocratique avec Norodom Sihanouk comme chef d'Etat. Les cadres du PCK se regroupent et établissent alors les axes de leur politique. Le "peuple ancien" rural, habitant des régions hors de l'influence du régime de Lon Nol est opposé aux "nouveaux" soupçonnés de cautionner l'impérialisme américain. L'argent est aboli et les intellectuels sont déportés. Le peuple est regroupé en coopératives condamné aux travaux forcés, privé de nourriture, tandis que les frontières sont fermées.

Un an plus tard, Norodom Sihanouk démissionne de ses fonctions et est placé en résidence surveillée. Khieu Samphan le remplace et Saloth Sar, alias Pol Pot forme un gouvernement.

Le régime de terreur des Khmers Rouges fait de massacres et de privations va perdurer quatre ans jusque la libération de Phnom Penh par les Vietnamiens en janvier 1979. Un à deux millions de personnes succomberont, soit le quart de la population de l'époque [1].

Les années suivantes ne seront qu'un lent chemin vers un état démocratique. Le pays sort dévasté du régime des Khmers Rouges.

En 1982 une coalition gouvernementale en exil, formée par Sihanouk et les royalistes, Son Sann et les Démocrates, ainsi que les Khmers rouges, est formée et reconnue comme autorité légitime du Cambodge par les Nations Unies.

L'armée vietnamienne se retire définitivement du territoire en 1989.

En 1991, les Accords de Paris pour la paix sont signés entre les quatre fractions Cambodgiennes : celle de Sihanouk, celle de Son Sann, les Khmers Rouges et l'Etat du Cambodge. Les premières élections législatives se dérouleront en 1993 [2].

En 2003, le gouvernement signe un accord avec les Nations Unies pour mettre en place des chambres extraordinaires au sein des tribunaux cambodgiens. Cela met fin à plus de 25 ans d'impunité pour les dirigeants responsables de crimes sous le régime Khmer Rouge [3].

Les dernières élections en 2013 ont été remportées par le Parti du Peuple Cambodgien (PPC). Cela permet à son Vice-président Hun Sen, de rester Premier Ministre. En place depuis 1985, Hun Sen est un ancien Khmer Rouge repent, qui a fui le régime en 1977 pour échapper

aux purges. Dans l'opposition, le Parti du Sauvetage National du Cambodge (CNRP) de Sam Rainsy rejette ces résultats et dénonce des fraudes.

2) Contexte économique

Le Cambodge est un des pays les plus pauvres de l'Asie du Sud-Est. Sa monnaie est le riel et le dollar (1 dollar équivaut à 4000 riels). Selon les données de la Banque Mondiale, le revenu national brut mensuel par habitant est de 73 dollars en 2012. Pour comparaison, celui en Asie de l'Est et Pacifique est de 407 dollars et 848 dollars dans le monde [4]. En 2011, 20,5% de la population vit en dessous du seuil de pauvreté [5].

Soixante-quinze pour cent des pauvres vivent en zone rurale. Ils dépendent de l'agriculture et de l'extraction des ressources naturelles bien que le secteur industriel connaisse depuis le début des années quatre-vingt-dix une expansion rapide.

Ces dernières années, la croissance économique a été favorable, reposant sur les secteurs du tourisme, de l'habillement et de la construction. Mais l'instabilité politique, les problèmes de corruption et la convergence des intérêts politiques et commerciaux entravent les réformes et le développement du pays [6].

3) Situation sociale et sanitaire

A la fin du régime des Khmers rouges en 1979, quatre-vingt-dix pour cent des cambodgiens titulaires d'un certificat ou d'un diplôme supérieur à celui du niveau du primaire sont morts ou en exil. Seuls 48 médecins sur 450 ont survécu.

En 2014, le Cambodge occupe la 136e place sur 175 pays dans l'Indice de développement humain (IDH) du Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD). Cet indice est une mesure de synthèse du niveau moyen atteint dans les dimensions clés du développement humain : une vie longue et saine, l'acquisition de connaissances et un niveau de vie décent [7].

Si aujourd'hui le taux d'alphabétisation des adultes s'approche des 75%, on observe des taux d'inscriptions dans l'enseignement secondaire et supérieur très inférieurs à ceux observés dans les écoles primaires. On note aussi une inégalité entre les hommes et les femmes qui ont un taux d'alphabétisation plus faible. Le secteur de l'éducation manque de budget pour former les enseignants et assurer un salaire à ceux en place [6].

Sur le plan sanitaire la situation est aussi alarmante. Le Cambodge compte 15 millions d'habitants en 2013 dont près du tiers a moins de 15 ans avec un âge médian de 24 ans.

L'espérance de vie à la naissance est de 70 ans pour les hommes et 75 ans pour les femmes en 2012 [8]. Le secteur de la santé est sous-financé par le gouvernement. Le taux de mortalité par maladies évitables est élevé, les principales causes étant les infections respiratoires, les diarrhées, le paludisme et la tuberculose. L'absence d'accès à l'eau potable et à des sanitaires aggrave la situation notamment dans les régions rurales. L'accès au soin est limité et très inégal [6]. On compte 2,3 médecins pour 10000 habitants [8]. Concernant la couverture sociale, le Cambodge est en retard sur ses voisins. Les soins médicaux sont une des principales causes d'endettement et d'appauvrissement des ménages [6]. Depuis 2009, il existe une couverture pour les accidents de travail grâce à un fond alimenté par les entreprises elles-mêmes : the National Social Security Fund of Cambodia [9]. Mais il n'existe pas d'assurance maladie ni d'assurance chômage.

II. Les infections respiratoires basses

En 2011, La Société Respiratoire Européenne (ERS), en collaboration avec la Société Européenne de Microbiologie Clinique et de Pathologies Infectieuses (ESCMID) actualisent leur recommandations de prise en charge des infections respiratoires basses de l'adulte, datant de 2005 [10,11].

Une infection respiratoire basse est une infection aigüe c'est-à-dire datant de moins de trois semaines, avec habituellement la toux comme principal symptôme, et au moins un autre symptôme de l'appareil respiratoire bas tel que : expectoration, dyspnée, sibilants, inconfort ou douleur thoracique, sans autre étiologie retrouvée (par exemple sinusite, asthme) [10]. Cela englobe les bronchites aiguës, les pneumopathies et les exacerbations de maladies pulmonaires chroniques. Nous nous intéresserons seulement aux étiologies bactériennes.

1) Les bactéries [10] :

En ambulatoire et dans les services d'hospitalisation, dans le cadre d'une pneumopathie, les premières bactéries responsables sont extracellulaires avec en premier lieu le *Streptococcus pneumoniae*. Suivent *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* et *Moraxella catarrhalis*. Parmi les germes intracellulaires, on retrouve d'abord *Mycoplasma pneumoniae* puis *Legionella* et *Chlamydia*.

En soins intensifs, les bactéries les plus fréquemment responsables des pneumopathies sont le *Staphylococcus aureus*, les bacilles gram négatif et *Legionella*.

L'âge et les comorbidités jouent aussi un rôle avec, chez les plus âgés, davantage d'infections à *Streptococcus pneumoniae* et *Chlamydia*. Les entérobactéries sont plus impliquées pour les personnes âgées de plus de 65 ans.

Dans le cadre d'exacerbations d'une broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), les bactéries retrouvées dépendent du niveau de base de la fonction respiratoire. On retrouve davantage le *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients préalablement traités par antibiotiques et ceux non vaccinés contre la grippe, et une colonisation autant à court terme qu'à long terme. Si l'exacerbation se traduit en pneumopathie, la bactérie la plus souvent retrouvée est le *Streptococcus pneumoniae*.

Il existe peu d'études sur la colonisation des bronchectasies et aucune sur la cause de leurs exacerbations. On retrouve là aussi une haute fréquence de colonisation par le

Pseudomonas, et ce d'autant plus que le poumon est défaillant. Le risque de colonisation par des bactéries pathogènes est important, principalement par *Haemophilus influenzae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

2) **Les antibiotiques recommandés en ambulatoire** [10] :

Un traitement antibiotique doit être envisagé dans les infections respiratoires basses :

- en cas de comorbidités importantes : une défaillance cardiaque, un diabète insulino-dépendant, une pathologie neurologique grave

- en cas d'exacerbation d'une BPCO avec l'ensemble de trois symptômes : augmentation d'une dyspnée, du volume et de la purulence des expectorations.

- en cas de pneumopathie suspectée ou avérée.

Une pneumopathie est suspectée quand au moins un des signes suivants est présent: nouveaux signes focaux à l'auscultation pulmonaire, dyspnée, tachypnée, tachycardie supérieure à 100 ou fièvre de plus de quatre jours. Une protéine C réactive (CRP) inférieure à 20 mg/L avec des symptômes de plus de vingt-quatre heures rend improbable la pneumopathie. Une CRP supérieure à 100 mg/L la rend probable. En cas de doute, une fois la CRP effectuée, une radiographie pulmonaire doit être envisagée pour confirmer ou infirmer le diagnostic. Les examens micro bactériologiques ne sont pas recommandés en soins primaires.

Les antibiotiques recommandés en première ligne en cas d'infection des voies respiratoires basses sont l'amoxicilline ou la tétracycline.

En cas d'allergie aux pénicillines, une tétracycline ou un macrolide comme azithromycine, clarithromycine, érythromycine ou roxithromycine sont une bonne alternative dans les pays dont les macrolides ont un bas niveau de résistance aux pneumocoques.

En cas de résistances aux antibiotiques de première ligne, un traitement par lévofloxacine ou moxifloxacine est à considérer.

3) **Les antibiotiques recommandés en hospitalisation** [10] :

Le traitement antibiotique doit être empirique selon le risque individuel de mortalité, et instauré le plus tôt possible. L'évaluation de la gravité (légère, modérée, sévère) détermine le lieu d'hospitalisation (soins intensifs ou non).

En cas de pneumopathie aigue ne nécessitant pas de soins intensifs, le choix se fait parmi les antibiotiques suivant :

- Aminopénicilline +/- macrolide
- Aminopénicilline + inhibiteur de beta-lactamase +/- macrolide
- Céphalosporines non anti *Pseudomonas*
- Céfotaxime ou ceftriaxone +/- macrolide
- Lévofloxacine
- Moxifloxacine
- Pénicilline G +/- macrolide

Pour les pneumopathies sévères hospitalisées en soins intensifs, il faut évaluer le risque d'un *Pseudomonas aeruginosa*. Il y a un facteur de risque si deux critères parmi les suivant sont présents : une hospitalisation récente, un traitement antibiotique récent (moins de trois mois) ou fréquent (plus de quatre par an), une atteinte sévère avec un volume expiratoire maximal seconde (VEMS) inférieur à 30%, une corticothérapie orale (plus de dix milligrammes de prednisolone par jour dans les deux semaines précédentes).

En l'absence de facteurs de risque de *Pseudomonas* on a deux choix de traitement :

- Céphalosporine de troisième génération non anti *Pseudomonas* + macrolide
- Moxifloxacine ou lévofloxacine +/- céphalosporine de troisième génération non anti *Pseudomonas*

La présence de facteurs de risque d'un *Pseudomonas* conduira à traiter par :

- une céphalosporine anti *Pseudomonas* ou une acyl-ureidopénicilline + inhibiteur de beta-lactamase ou carbapénème (de préférence imipénème, les doses pouvant être augmentées à 6g)
- associé à la ciprofloxacine seule ou à l'association macrolide + aminoglycoside (gentamycine, tobramycine, amikacine)

La durée du traitement ne doit excéder huit jours chez un patient répondeur.

Un patient hospitalisé avec exacerbation d'une BPCO devrait recevoir une antibiothérapie si :

- il a l'ensemble des trois symptômes : dyspnée majorée, augmentation de volume et de purulence des expectorations
- il a seulement deux de ces trois symptômes dont la majoration de la purulence des expectorations
- il a une exacerbation sévère qui requiert une ventilation mécanique

Le traitement initial recommandé dépend du risque d'avoir un *Pseudomonas aeruginosa*. En l'absence de facteur de risque, plusieurs traitements antibiotiques sont possibles. Le choix dépend de la sévérité de l'exacerbation, des résistances existantes localement, de la tolérance, du coût et de la compliance. L'association amoxicilline-acide clavulanique est recommandée. Lévofloxacine et moxifloxacine sont des alternatives.

En présence de facteurs de risque de *Pseudomonas*, la ciprofloxacine (ou lévofloxacine) est l'antibiotique de choix par voie orale. Si la voie parentérale est nécessaire, la ciprofloxacine ou une beta-lactamine avec une activité anti *Pseudomonas* est possible. On peut rajouter un aminoglycoside.

Le choix de la voie per os ou intra veineuse se fait en fonction de la condition clinique du patient et de la sévérité de l'exacerbation. Un relai intra veineux au per os peut se faire au 3^e jour si le patient est stable.

Dans le cadre des bronchectasies, on se contente de surveiller périodiquement les colonisations bactériennes. Un traitement antibiotique n'est recommandé qu'en cas d'exacerbation.

Le choix de l'antibiotique dépend là aussi du risque d'avoir une infection à *Pseudomonas*.

Sans risque de *Pseudomonas*, le traitement recommandé est l'association amoxicilline-acide clavulanique ou moxifloxacine ou lévofloxacine en per os.

En cas de risque de *Pseudomonas*, le choix se porte sur la ciprofloxacine en per os ou si la voie intra veineuse est choisie, entre ceftazidime ou une carbapénème ou pipéracilline-tazobactam.

En hospitalisation ces traitements empiriques doivent être adaptés aux résultats des examens cyto bactériologiques des expectorations pratiqués avant l'introduction des antibiotiques.

L'ETUDE

Il s'agit de l'étude rétrospective des examens cyto bactériologiques des expectorations positifs du service Tuberculose de l'Hôpital Provincial de Kampong Cham au Cambodge recueillis du 1er juin 2013 au 31 mai 2014.

I. Objectifs

L'objectif principal est de déterminer, chez les patients présentant un tableau d'infection respiratoire basse dans ce pays à bas niveau de revenu avec une forte endémicité de tuberculose, les principales bactéries retrouvées hors *Mycobacterium tuberculosis*, ainsi que leur profil de résistance.

L'objectif secondaire est de s'interroger sur l'existence d'un lien entre la prédominance de ces bactéries et la tuberculose.

II. Matériel et méthodes

Il s'agit de l'analyse descriptive de résultats d'examens cytbactériologiques des expectorations positifs.

1) Choix de la population

a) Critères d'inclusion et effectif :

Sont inclus les patients âgés de dix-huit ans et plus, vus en consultation ou hospitalisés dans le service Tuberculose de l'Hôpital Provincial de Kampong Cham au Cambodge entre le 1er juin 2013 et le 31 mai 2014 et dont les examens cytbactériologiques des expectorations recueillis sont positifs.

Quatre-vingt-douze patients répondent aux critères d'inclusion.

b) Période de l'étude :

L'étude se déroule du 1er juin 2013 au 31 mai 2014. La durée d'un an est retenue pour éviter les biais liés à la saisonnalité (période de mousson, saison sèche, périodes de semis ou de récoltes) ou au calendrier (fêtes nationales et jours fériés) qui ont une répercussion sur le recours aux soins et la fréquentation des structures médicales.

c) Lieu de l'étude :

Kampong Cham est une province située au Sud-Est du Cambodge classée comme région rurale. Sa population en 2004 est estimée à 1,8 millions de personnes dont cinquante-deux pour cent de femmes. Trente-deux pour cent vivent en dessous du seuil de pauvreté, ce qui correspond au chiffre national. Quatre-vingt-six pour cent des foyers n'ont pas de sanitaires (contre quatre-vingt-un pour cent au niveau national) et seize pour cent n'ont pas d'eau potable dans un rayon de cent-cinquante mètres autour du foyer (contre trente-quatre pour cent au niveau national). [12]

2) **Recueil des données :**

a) **Mode de recueil :**

Les examens bactériologiques positifs sur la période donnée ont été triés par informatique. Ont ensuite été sélectionnés les examens cytbactériologiques des expectorations. Les dossiers papiers des patients correspondants ont été consultés aux archives afin de recueillir les données de l'étude.

b) **Types de données :**

Trois types de données ont été recueillis :

- des données administratives : âge et sexe du patient
- des données bactériologiques : espèce bactérienne à l'examen cytbactériologique des expectorations et son antibiogramme
- des données médicales : traitement reçu et efficacité

c) **Définition des variables :**

L'examen cytbactériologique des expectorations

Il s'agit d'un examen des expectorations dont le recueil doit respecter un protocole rigoureux : le matin au réveil, après rinçage bucco dentaire à l'eau distillée stérile et lors de toux aidée. L'examen bactériologique doit être fait sans délai. Il s'agit d'abord de l'examen microscopique qui permet, selon le degré de contamination par la salive, de déterminer si le recueil est acceptable pour l'examen bactériologique. Puis après fluidification du prélèvement, une dilution appropriée est ensemencée sur une gélose afin de dénombrer les bactéries au-delà de 10^5 Unités Formant Colonie par millilitre (UFC/ml). L'identification et l'antibiogramme se limitent habituellement à une ou deux espèces bactériennes en quantité supérieure ou égale à 10^7 UFC/ml [13].

Les données médicales

Pour chaque patient le traitement antibiotique reçu est noté, avec la durée du traitement.

L'amélioration clinique ou non du patient est également une donnée recueillie pour juger de l'efficacité de l'antibiothérapie.

III. Résultats

1) Population étudiée et bactéries identifiées à l'ECBC :

Entre le 1^{er} juin 2013 et le 31 mai 2014, 92 examens cyto bactériologiques des crachats (ECBC) effectués dans le service Tuberculose de l'Hôpital Provincial de Kampong Cham sont positifs. Les patients concernés sont 49 hommes et 43 femmes, ce qui fait un sex-ratio homme-femme de 1,1. La moyenne d'âge des patients est de 54,2 ans avec un écart-type de 14,8 ans. La médiane est de 54,5 ans avec des âges extrêmes de 20 et 83 ans.

14 bactéries différentes ont été identifiées et 2 sont classées bacilles gram négatif (BGN) sans précision. Les deux bactéries prédominantes sont des *Pseudomonas* et des *Klebsiella* qui représentent rétrospectivement 37% (n=34) et 33% (n=30) des ECBC. Les autres bactéries retrouvées représentent chacune moins de 10% des ECBC (*tableau 1*).

Tableau 1 : nombre et proportion des ECBC positifs à une bactérie donnée

Bactéries	ECBC	Proportion (%)
<i>Pseudomonas</i>	34	36,9
<i>Klebsiella</i>	30	32,6
<i>Escherichia coli</i>	7	7,6
<i>Enterobacter</i>	5	5,4
<i>Haemophilus influenzae</i>	4	4,3
<i>Acinetobacter</i>	2	2,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1,1
<i>Serratia</i>	1	1,1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	1,1
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1	1,1
<i>Citrobacter koseri</i>	1	1,1
<i>Vibrio alginolyticus</i>	1	1,1
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	1	1,1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1,1
BGN sans précision	2	2,2
TOTAL	92	100

2) Profil des bactéries :

a) *Pseudomonas*

Profil des patients :

34 patients ont un prélèvement positif à *Pseudomonas* ce qui représente 37% des ECBC. 19 patients sont de sexe masculin et 15 patients sont de sexe féminin, soit un sex-ratio homme/femme de 1,27.

La moyenne d'âge des patients est de 55,3 ans avec un écart type de 14,8 ans. La médiane est à 56,5 ans, et les âges extrêmes sont de 20 et 83 ans.

Profil des germes :

Parmi les 34 souches de *Pseudomonas* retrouvées : 13 sont identifiées comme *Pseudomonas aeruginosa* et 21 sont notées *Pseudomonas sp.*

A l'antibiogramme, 31 souches sont des *Pseudomonas* multi-sensibles. 2 sont résistantes à la ciprofloxacine. 1 souche de *Pseudomonas* est résistante à la gentamycine, et intermédiaire à la ciprofloxacine.

Traitements effectués:

56% des patients ont été traités (n=19) contre 38 % des patients qui n'ont reçu aucun traitement (n=13). Pour 2 patients, soit 6% des patients ayant un ECBC positif à *Pseudomonas*, nous n'avons pas de données concernant le traitement.

Le traitement initié dans près d'un cas sur deux est l'association ceftazidime et gentamycine (*tableau 2*). La durée moyenne des traitements est de 10,8 jours.

Tableau 2 : Antibiotiques reçus en 1ère intention et durées de traitements chez les patients à ECBC positifs à *Pseudomonas*

Antibiotiques	Durée moyenne de traitement en jours (écart-type)	Effectif (total n=19)
Ceftazidime + gentamycine	14 (0) / 7.4 (3.9)	9
Amoxicilline-acide clavulanique	7 (0)	4
Ceftriaxone	7 (0)	3
Ciprofloxacine+ceftriaxone+métronidazole	10	1
Ciprofloxacine	14	1
Erythromycine	7	1

Evolution des patients traités :

63% des patients traités se sont améliorés (n=12). 10,5% ne sont pas améliorés (n=2). Pour 5 patients soit 26% des patients traités, l'évolution n'est pas connue.

b) *Klebsiella*Profil des patients :

30 patients ont un prélèvement positif à *Klebsiella* soit 32,6% des patients. 15 patients sont de sexe masculin, et 15 patients sont de sexe féminin, ce qui fait un sex-ratio de 1.

La moyenne d'âge des patients est de 52,8 ans avec un écart type de 12,6. La médiane d'âge est de 54 ans. Le plus jeune a 20 ans et le plus âgé 76 ans.

Profil des germes :

Parmi les 30 souches de *Klebsiella* retrouvées dans les ECBC, 29 sont des *Klebsiella pneumoniae* et 1 souche est une *Klebsiella oxytoca*.

A l'antibiogramme, 96 % des *Klebsiella* ont une résistance à au moins un antibiotique (n= 29). Une souche *Klebsiella* est multi-sensible. 15 souches sont résistantes uniquement à l'ampicilline, 1 est résistante uniquement à l'amoxicilline-acide clavulanique et 4 le sont aux deux. 3 souches sont résistantes à tout sauf à l'imipénème. Les 6 autres souches ont une résistance allant de deux à huit antibiotiques.

Les résistances prédominantes sont celles contre les beta-lactamines : 86% des souches sont résistantes à l'ampicilline, 43,3% à l'association amoxicilline-acide clavulanique, 17 à 40% aux céphalosporines selon les générations (16,6% pour la ceftriaxone). Mais elles gardent toutes une sensibilité à l'imipénème. La résistance au sulfaméthoxazole-triméthoprime s'observe dans 25% des cas, celle à la gentamycine dans 23% des cas et dans 17,7% des cas *Klebsiella* est résistante à la ciprofloxacine (tableau 3).

Tableau 3 : Sensibilité des *Klebsiella* et proportion des résistances selon les antibiotiques

Famille d'antibiotiques	Classe d'antibiotiques	Molécules	Antibiogramme (nombre de souches)			Souches testées	Proportion des résistances (%)
			S	I	R		
Aminosides		Gentamycine	20	0	6	26	23,1
B-lactamines	Uréidopénicillines	Pipéracilline	7	1	2	10	20
	Pénicilline A	Ampicilline	3	1	25	29	86,2
	Pénicilline A + Inhibiteur de β -lactamase	Amoxicilline - Acide clavulanique	17	0	13	30	43,3
	Céphalosporine de 1ère génération	Céfalotine	12	0	8	20	40
	Céphalosporine de 3e génération	Ceftriaxone	22	2	5	29	17,2
	Céphalosporine de 3e génération	Ceftazidime	22	0	6	28	21,4
	Céphalosporine de 3e génération	Céfotaxime	9	0	4	13	30,8
	Carbapénèmes	Imipénème	29	0	0	29	0
Cyclines		Tétracycline	1	1	0	2	0
Phénicolés		Chloramphénicol	24	0	5	29	17,2
Quinolones	Quinolones de 2e génération	Ofloxacine	10	1	0	11	0
	Quinolones de 2e génération	Ciprofloxacine	21	4	3	28	17,7
	Quinolones de 2e génération	Norfloxacine	1	0	0	1	0
Sulfamides		Sulfaméthoxazole -Triméthoprime	21	0	7	28	25

Traitements effectués :

60% des patients ont reçu un traitement antibiotique (n=18) et 26,7% des patients n'ont pas été traités (n=8). Nous n'avons pas d'information sur un éventuel traitement pour 13,3% des patients (n=4).

Le traitement initié est dans plus d'un cas sur deux de l'amoxicilline-acide clavulanique (*tableau 4*). La durée des traitements est en moyenne de 10,2 jours.

Tableau 4 : Antibiotiques reçus en 1ère intention et durées de traitement chez les patients à ECBC positifs à *Klebsiella*

Antibiotiques	Durée moyenne de traitement en jours (écart-type)	Effectif (total n=18)
Amoxicilline-acide clavulanique	9,4 (4,7)	10
Sulfaméthoxazole-triméthoprim	8 (1,7)	3
Ciprofloxacine	10	1
Amoxicilline-acide clavulanique+ ciprofloxacine	21	1
Ceftazidime+gentamycine	14	1
Ceftriaxone+sulfaméthoxazole-triméthoprim	?	1
Ceftriaxone+métronidazole	?	1

Evolution des patients traités :

Parmi les patients traités : 77,8% se sont améliorés (n=14), 11,1% ne se sont pas améliorés (n=2). Il n'y a pas de données sur le devenir de 11,1% des patients traités (n=2).

c) Autres bactéries :

Hormis les deux principales bactéries retrouvées dans les ECBC qui sont *Pseudomonas* et *Klebsiella*, 12 autres espèces bactériennes ont été identifiées et 2 souches sont classées comme bacilles gram négatif sans précision apportée. Elles représentent ensemble 30,4% des ECBC (n=28).

Profil des patients :

Le tableau ci-dessous reprend les caractéristiques des patients selon les bactéries retrouvées (*tableau 5*).

Tableau 5 : Profil des patients dont les ECBC sont positifs à une bactérie autre que *Pseudomonas* et *Klebsiella*

BACTERIES	PROFIL PATIENTS (n=28)					
	Espèces bactériennes	Hommes (n=15)	Femmes (n=13)	Sex-ratio H/F	Age moyen en années (écart type)	Age médian
<i>Escherichia coli</i>	2	5	0,4	45,7 (17,9)	43	29-81
<i>Enterobacter</i>	3	2	1,5	54,6 (7,9)	54	43-65
<i>Haemophilus influenzae</i>	2	2	1	56,7 (29,4)	66	14-81
<i>Acinetobacter</i>	1	1	1	63 (12,7)	63	54-72
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0		38		
<i>Serratia</i>	1	0		75		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		1		55		
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1	0		54		
<i>Citrobacter koseri</i>		1		64		
<i>Vibrio alginolyticus</i>	1	0		79		
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	1	0		34		
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0		52		
BGN sans précision	1	1	1	58 (7,1)	58	53-63

Profil des germes :

Les tableaux ci-dessous détaillent pour chaque espèce bactérienne le nombre de souches sensibles, résistantes ou intermédiaires selon les familles antibiotiques : β -lactamines (tableau 6) et autres antibiotiques (tableau 7).

Parmi les 28 espèces bactériennes, 4 sont multi sensibles (2 souches d'*Escherichia coli*, 1 souche d'*Acinetobacter* et 1 souche de BGN non identifiés). 2 souches sont résistantes à tous les antibiotiques excepté l'imipénème (1 souche d'*Escherichia coli* et 1 souche de BGN non identifiés). Nous n'avons pas les antibiogrammes des *Haemophilus influenzae* et de *Moraxella catarrhalis*.

Tableau 6 : Sensibilité des bactéries autres que *Pseudomonas* et *Klebsiella* aux β -lactamines

Espèces bactériennes (ECBC positifs)	Beta-lactamines									
	Oxacilline	Cloxacilline	Pipéracilline	Ampicilline	Amoxicilline - acide clavulanique	Céfalotine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfotaxime	Imipénème
<i>E. coli</i> (7)				2 5	2 5	2 4	2 5	2 5	2 3	5
<i>Enterobacter</i> (5)			3 2	5	4	1	3 2	3 2		5
<i>Haemophilus Influenzae</i> (4)										
<i>Acinetobacter</i> (2)							1 1	2		2
<i>Staphylococcus aureus</i> (1)	1	1		1		1				
<i>Serratia</i> (1)				1	1	1	1	1	1	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (1)	1									
<i>Moraxella catarrhalis</i> (1)										
<i>Citrobacter koseri</i> (1)				1	1		1	1	1	1
<i>Vibrio alginolyticus</i> (1)				1			1			
<i>Burkholderia pseudomallei</i> (1)					1			1		1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (1)										1
Autres BGN (2)			1	1 1	1 1	1	1 1	1 1		2
Légende :	-Vert : sensible		- Orange : intermédiaire			- Rouge : résistant				

Tableau 7 : Sensibilité des bactéries autres que *Pseudomonas* et *Klebsiella* aux antibiotiques autres que les β -lactamines

Espèces bactériennes (nombre d'ECBC)	Gentamycine	Tobramycine	Chloramphénicol	Ofloxacine	Ciprofloxacine	Norfloxacine	Levofloxacine	Sulfaméthoxazole -Triméthoprime	Tétracycline	Erythromycine	Vancomycine	Clindamycine	Nitrofuantoïne	Acide nalidixique
<i>E. coli</i> (7)	1 5		6 1		2 5			1 5						
<i>Enterobacter</i> (5)	3 2		3 1 1 3		3 2			3 2	1					
<i>Haemophilus Influenzae</i> (4)														
<i>Acinetobacter</i> (2)	2				2			1 1						
<i>Staphylococcus aureus</i> (1)				1				1	1	1 1		1		
<i>Serratia</i> (1)			1					1						
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (1)							1	1	1	1 1				
<i>Moraxella catarrhalis</i> (1)														
<i>Citrobacter koseri</i> (1)	1		1		1			1						
<i>Vibrio alginolyticus</i> (1)			1		1			1	1					1
<i>Burkholderia pseudomallei</i> (1)	1													
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (1)							1	1						
Autres BGN (2)	1 1		1 1	1	1 1			1 1						
Légende :	-Vert : sensible		- Orange : intermédiaire				- Rouge : résistant							

Traitements effectués :

64,3% des patients ayant une espèce bactérienne autre que *Pseudomonas* et *Klebsiella* à l'ECBC ont été traités (n=18) et 7,1% n'ont pas été traités (n=2). L'information concernant le traitement n'a pas été retrouvée dans le dossier de 28.6% des patients (n=8).

L'amoxicilline-acide clavulanique est le principal antibiotique utilisé en première intention chez 32,1% des patients (n=9) pour une durée moyenne de 10,9 jours (tableau 8).

Evolution des patients traités :

55,6% des patients traités se sont améliorés (n=10) contre 16,7% qui ne se sont pas améliorés sous traitement (n=3). Nous ne connaissons pas l'évolution sous traitement de 27,8% des patients (n=5) (tableau 8).

Tableau 8 : Traitements et évolution des patients en fonction de l'espèce bactérienne retrouvée à l'ECBC

Espèces bactériennes (nombre d'ECBC)	Instauration d'un traitement			Détails du traitement			Amélioration sous traitement		
	Oui	Non	Pas d'information	Traitements reçus	Nombre de patients	Durée moyenne de traitement en jours (écart-type)	Oui	Non	Pas d'information
<i>E. coli</i> (7)	6		1	Amoxicilline-acide clavulanique	3	9,3 (4)	1	1	1
				Amoxicilline-acide clavulanique +métronidazole	1	21	1		
				Ceftriaxone	1	7		1	
				Ceftriaxone+métronidazole	1	21	1		
<i>Enterobacter</i> (5)	3	1	1	Sulfaméthoxazole-Triméthoprim	2	15,5 (7,8)	1		1
				Ceftazidime	1	15	1		
<i>Haemophilus Influenzae</i> (4)	2		2	Amoxicilline-acide clavulanique	2	10,5 (4,9)	2		
<i>Acinetobacter</i> (2)	2			Amoxicilline-acide clavulanique +Ciprofloxacine	1	14	2		
				Ceftriaxone	1	7			
<i>Staphylococcus aureus</i> (1)	1			Ceftriaxone+métronidazole	1	10		1	
<i>Serratia</i> (1)	1			Amoxicilline-acide clavulanique	1	7			1
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (1)	1			Lévofloxacine	1	14	1		
<i>Moraxella catarrhalis</i> (1)	1			Ciprofloxacine	1	?			1
<i>Citrobacter koseri</i> (1)			1						
<i>Vibrio alginolyticus</i> (1)			1						
<i>Burkholderia pseudomallei</i> (1)			1						
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (1)	1			Amoxicilline-acide clavulanique	1	7j			1
Autres BGN (2)		1	1						
TOTAL	18	2	8		18		10	3	5

3) Antibiothérapie de première intention

Parmi les 92 patients étudiés, 55 patients ont reçu un traitement antibiotique (59,8%) et 23 patients n'ont pas été traité pour la bactérie retrouvée à l'ECBC (25%). Aucune information sur un éventuel traitement n'a été retrouvé dans les dossiers des 14 patients restant (15,2%).

Le traitement de première intention le plus fréquent est l'amoxicilline-acide clavulanique dans 38 % des cas, puis l'association ceftazidime et gentamycine dans 18% des cas. Les autres traitements prescrits en première intention sont détaillés ci-dessous (*tableau 9*). La durée moyenne de traitement est de 11 jours (écart-type : 4,5 jours).

Tableau 9 : nombre et proportion des patients traités par antibiotique

Antibiotique	Effectif	Proportion (%)
Amoxicilline-acide clavulanique	21	38,2
Ceftazidime/gentamycine	10	18,2
Ceftriaxone	5	9,1
Sulfaméthoxazole-Triméthoprim	5	9,1
Ciprofloxacine	3	5,5
Métronidazole/ceftriaxone	3	5,5
Ciprofloxacine/amoxicilline-acide clavulanique	2	3,6
Erythromycine	1	1,8
Ceftazidime	1	1,8
Lévofloxacine	1	1,8
Ceftriaxone/sulfaméthoxazole-triméthoprim	1	1,8
Amoxicilline-acide clavulanique/sulfaméthoxazole-triméthoprim	1	1,8
Ciprofloxacine/ceftriaxone/métronidazole	1	1,8
TOTAL	55	100

IV. DISCUSSION

Les résultats de notre étude ont permis de définir les principales bactéries retrouvées à l'ECBC d'adultes pris en charge dans le service Tuberculose de l'Hôpital Provincial de Kampong Cham au Cambodge, sur une période d'un an. Elles diffèrent en partie de celles principalement responsables d'infections respiratoires basses de l'adulte selon la Société Respiratoire Européenne (ERS) et la Société Européenne de Microbiologie Clinique et de Pathologies Infectieuses (ESCMID) [10,11]. Quelle analyse pouvons-nous faire de nos résultats en sachant que la tuberculose est endémique au Cambodge ?

1) Intérêts et limites de l'étude

L'étude a lieu dans une province rurale du Cambodge, bon reflet de la population cambodgienne à quatre-vingt pour cent rurale. Concernant les conditions sanitaires et le niveau de vie de cette province, ils sont également similaires au niveau national [12].

Elle s'étend sur une année entière évitant ainsi les biais de saisonnalité : moindre recours aux soins selon les saisons et les besoins de main d'œuvre pour les cultures agricoles dans une région rurale, mais aussi fêtes nationales, jours fériés et événements politiques, qui ont une répercussion directe sur la fréquentation des hôpitaux.

Notre étude porte sur des sujets adultes qui ont eu un ECBC prescrit lors de leur prise en charge dans le service Tuberculose et dont le résultat est positif. Les patients ont été vus en consultation externe ou ont été hospitalisés. L'ECBC n'est pas un examen effectué systématiquement mais demandé, soit sur point d'appel clinique évocateur d'une surinfection : crachats colorés (jaunes, verts), malodorants, soit après une antibiothérapie en l'absence d'amélioration, afin d'identifier le germe et chercher des résistances aux antibiotiques. Sont donc principalement représentées les bactéries responsables d'infection respiratoire basse sur un tableau aigu ou subaigu : nous n'avons donc pas le répertoire exhaustif des germes pathogènes et notamment ceux colonisant des patients avec un tableau de bronchopathie chronique ou présentant au premier plan une clinique évocatrice de tuberculose. Par ailleurs, les ECBC positifs ont été triés par voie informatique : nous ne connaissons ni le nombre total d'ECBC effectué, ni le nombre de patients total pris en charge par le service sur la même période.

Concernant le recueil des données, une difficulté rencontrée est due à la méthodologie elle-même de l'étude rétrospective sur dossiers. Techniquement, alors que l'informatisation

facilite le traitement des données, le nécessaire recours au dossier papier n'est parfois pas possible sur place.

Certaines données sont manquantes. Pour deux espèces bactériennes, *Haemophilus influenzae* et *Moraxella catarrhalis*, il n'a pas été retrouvé d'antibiogramme. Concernant le traitement donné, nous avons retenu le traitement antibiotique donné en première intention. L'information est absente dans quinze pour cent dossiers, ce qui fait quatorze patients dont nous ne connaissons pas la prise en charge thérapeutique. Il s'agit parfois de la durée de traitement qui fait défaut, comme c'est le cas pour deux patients avec un ECBC positif à *Klebsiella* et un patient dont l'ECBC est positif à *Moraxella catarrhalis*.

L'évolution clinique du patient sous traitement quant à elle, si elle est connue, est soumise à un biais d'interprétation pour trancher sur une amélioration ou non, à travers les informations du dossier (pendant l'hospitalisation ou lors d'une consultation de suivi). Par ailleurs, l'évolution clinique du patient qui n'a pas reçu de traitement est une donnée non recueillie dans notre étude, mais pourrait être intéressante dans sa comparaison avec les patients traités, notamment sur terrain de bronchite chronique ou de dilatation des bronches avec possible colonisation bactérienne.

Enfin, l'étude porte sur des ECBC. Si cela a comme avantage d'être un critère objectif : un examen est positif ou négatif, la technique en elle-même a ses limites. Elle nécessite une rigueur et des conditions de réalisation qui ne sont pas toujours optimales. Pourtant la qualité du recueil est primordiale pour ne pas avoir un prélèvement salivaire, ce qui dilue la flore pathogène et la contamine par des bactéries commensales. Elle dépend en premier lieu de la formation du personnel soignant pour l'effectuer après explication de la technique d'expectoration au patient, mais aussi de la capacité de ce dernier à la réaliser. Ceci n'est pas toujours le cas selon l'état général du patient. Le moment du prélèvement, optimal au réveil, n'est le plus souvent pas respecté pour des patients vus en consultation, qui ont un ECBC lors de leur passage. Par la suite, les conditions environnementales et notamment liées au climat peuvent être un frein à l'identification de germes fragiles. Une atmosphère chaude et humide favorise la pullulation des bactéries commensales aux dépens de germes fragiles : l'acheminement rapide du prélèvement vers le laboratoire est donc aussi un critère majeur pour l'obtention d'un résultat. Enfin, la technique en elle-même nécessite des moyens matériels et humains : disponibilité des microscopes optiques, personnel formé à la lecture et à l'interprétation, géloses adaptées pour les cultures, le dénombrement et l'identification des bactéries. Il faut également noter l'impact d'une antibiothérapie préalable à l'ECBC, qui est une donnée qui n'a pas été recueillie rétrospectivement sur dossier devant la fréquence du

manque de l'information et de l'absence de précision sur le type de médicament pris antérieurement.

2) Discussion des résultats

Une moindre représentation de Streptococcus pneumoniae et Haemophilus influenzae ; une absence de germes atypiques

Streptococcus pneumoniae et *Haemophilus influenzae* représentent chacun moins de cinq pour cent des ECBC positifs dans notre étude.

Les symptômes conduisant à la prescription de l'ECBC dans le service Tuberculose pouvaient faire penser que nous allions plutôt retrouver les bactéries habituellement responsables d'un tableau aigu de pneumopathie ou d'une surinfection de tableau chronique selon l'ERS : soit une prédominance de *Streptococcus pneumoniae* mais aussi *Haemophilus influenzae* pour les germes extra-cellulaires, soit *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila* ou *Chlamydia pneumoniae* pour les intra cellulaires [10].

Le pneumocoque et *Haemophilus* étant des germes fragiles, une mise en culture rapide est nécessaire pour les retrouver. Une première explication à leur faible présence (respectivement un et quatre pour cent des ECBC) pourrait être qu'ils ne soient plus retrouvés à cause de mauvaises conditions de prélèvement ou d'un retard d'acheminement vers le laboratoire. Une deuxième hypothèse serait une antibiothérapie préalable, prescrite avant le recours à l'hôpital ou par automédication, qui empêcherait de retrouver le germe à l'ECBC. Enfin les moyens techniques insuffisants et notamment l'absence de test de détection d'antigène urinaire pneumocoque contribuent probablement à sous-estimer sa part relative dans les infections. Il faut aussi noter que ces germes sont davantage retrouvés dans une population supérieure à soixante-cinq ans, et que la moyenne d'âge de notre population est de cinquante-quatre ans.

Des études vont dans le même sens que nos résultats, notamment une sur les bactéries responsables de pneumopathies infectieuses dans un hôpital de Phnom Penh, la capitale du Cambodge en 2009 [14], qui ne retrouve aucun pneumocoque comme étiologie des infections étudiées pour les mêmes raisons supposées et notamment d'ordre technique. En effet, une revue systématique entre 1995 et 2012 des bactéries responsables de pneumopathies communautaires au Cambodge [15] montre finalement que les principaux pathogènes responsables ne diffèrent pas de ses pays voisins ni des pays occidentaux : *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus* restent les deux principales étiologies, y compris au Cambodge. Par contre, concernant l' *Haemophilus*, une étude en Chine sur la complexité de la composition microbienne des expectorations de patients avec une tuberculose pulmonaire [16], trouve malgré tout qu'il est moins présent chez les patients avec une tuberculose pulmonaire que chez les sujets sains.

Quant aux bactéries atypiques : *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila* ou *Chlamydia pneumoniae*, leur diagnostic direct nécessite des moyens coûteux non disponibles en routine pour leur mise en évidence. Cela explique sans doute leur absence dans nos ECBC car une étude de 2008 en Asie retrouve par des méthodes diagnostiques de laboratoire indirectes, *Chlamydia pneumoniae* et *Mycoplasma pneumoniae* comme germes atypiques les plus fréquents [17] .

Une prédominance de bacilles gram négatif

Les principaux germes retrouvés dans notre étude sont des bacilles à gram négatif (BGN) et en premier lieu : le *Pseudomonas* et *Klebsiella pneumoniae*, qui représentent respectivement 36,9% et 32,6% des ECBC.

Nos résultats concordent avec d'autres études au Cambodge. Une première effectuée à Phnom Penh en 2009 retrouve également comme principales bactéries des BGN, responsables de 70,4% des pneumopathies dont le diagnostic microbiologique a été porté [14]. Une seconde étude sur les infections respiratoires aiguës dans deux hôpitaux provinciaux au Cambodge [18], bien qu'incluant également des enfants, retrouve les BGN dans 39,6% des cultures positives, avant *Haemophilus influenzae* et *Streptococcus pneumoniae* dans respectivement 38% et 17,7% des ECBC. Une revue systématique des bactéries responsables de pneumopathies communautaires en Asie en juin 2014 [19], cette fois-ci chez des adultes, montre que même si les germes habituels : *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella sp* ou encore *Haemophilus influenzae* sont comme en Occident significatifs, les BGN sont davantage responsables de pneumopathies et le Pneumocoque a une importance relative moindre.

Au premier plan : le Pseudomonas

Plus du tiers de nos ECBC sont positifs à *Pseudomonas*. Le réservoir naturel du *Pseudomonas* est l'environnement tel que les sols, les végétaux, les eaux et les débris organiques, préférentiellement s'il est chaud et humide : ces conditions sont réunies dans un centre hospitalier, et notamment avec les conditions climatiques au Cambodge. Pathogène opportuniste humain, le *Pseudomonas* est responsable d'infections dont le développement dépend du terrain. Il se développe sur des lésions préexistantes, sur un terrain immunodéprimé. Selon l'ERS, le *Pseudomonas* est davantage retrouvé sur terrain de bronchopathie chronique obstructive qu'il colonise, d'autant plus qu'il y a eu une antibiothérapie préalable et en l'absence de vaccination antigrippale. Il est également retrouvé dans les dilatations des bronches d'autant plus que le poumon est altéré. Entre la dénutrition et

la large proportion de patients avec des lésions séquellaires pulmonaires liées à la tuberculose ou à des pneumopathies mal traitées [18], le *Pseudomonas* trouve un terrain propice à son développement au Cambodge. Deux facteurs de risque de *Pseudomonas* sont par ailleurs fréquemment rencontrés au Cambodge. Tout d'abord, la prise d'antibiotique préalable qui peut concerner jusqu'à un patient sur trois en Asie du Sud-Est [14] mais aussi la prise orale de corticoïdes, par automédication ou prescription, pratique répandue au Cambodge afin de traiter la douleur.

Nous retrouvons également un lien entre *Pseudomonas* et tuberculose dans la littérature. Selon une étude publiée en 2013 sur l'association entre microorganismes des expectorations et tuberculose [20], le *Pseudomonas* est plus abondant et plus fréquemment présent dans les expectorations de sujets atteints de tuberculose que dans celles des sujets sains, mais également davantage chez les patients en échec de traitement que ceux guéris. Cela pourrait expliquer pourquoi dans notre population incluse à la suite d'une consultation ou une hospitalisation dans le service tuberculose, le *Pseudomonas* se retrouve en première ligne. Mais il faut noter que dans cette étude le même phénomène est observé avec le pneumocoque, ce que nous ne retrouvons pas dans la notre, sans doute pour les raisons de difficultés d'isolement du pneumocoque.

Pour aller plus loin dans l'analyse de cette prédominance du *Pseudomonas* dans notre population, il serait intéressant de connaître le profil des patients vis à vis de la tuberculose : sujet sain, première tuberculose, récurrence de tuberculose, échec de traitement, séquelles de tuberculose. En effet, selon une étude publiée en 2013 sur les infections respiratoires basses aiguës sur séquelles pulmonaires au Cambodge [21], le *Pseudomonas* est associé significativement avec les infections respiratoires basses aiguës sur séquelles pulmonaires post infectieuses. Le rapport *Pseudomonas/Mycobacterium* est également plus élevé dans le cas d'une récurrence de tuberculose ou d'un échec de traitement que lors d'une première tuberculose [20].

Dans notre étude, les *Pseudomonas* retrouvés sont pour la plupart multi sensibles. Ils ont été traité dans près d'un cas sur deux par un traitement adapté associant une céphalosporine de troisième génération (ceftazidime) avec un aminoside (gentamycine). L'évolution est majoritairement favorable mais n'est cependant pas connue pour un quart des patients.

De fortes résistances pour Klebsiella et Escherichia coli

Comme dans beaucoup de pays d'Asie [18], nous retrouvons *Klebsiella* comme un important pathogène responsable d'infections respiratoires basses. Il représente dans notre étude près du tiers des ECBC, en proportion égale chez l'homme et la femme, alors qu'une étude effectuée entre 2007 et 2009 chez des patients hospitalisés au Cambodge [22], retrouve deux facteurs de risque indépendants d'avoir une infection à *Klebsiella*, à savoir le diabète et le sexe féminin.

Une seconde étude de 2007 montre que les infections à *Klebsiella* sont à mauvais pronostic avec des taux importants de mortalité, responsables de séjours hospitaliers longs et associées plus fréquemment à un âge avancé et des comorbidités. Le traitement de première ligne lors de cette étude était majoritairement une pénicilline A, et donc inadapté. En Occident, les infections pulmonaires à *Klebsiella* sont rarement communautaires et ne font pas consensus pour proposer un traitement antibiotique probabiliste ciblant cette bactérie. En Asie, les pneumopathies communautaires attribuées à *Klebsiella* ont une plus forte prévalence à la fois liée au patient (précarité, diabète) mais aussi à une hétérogénéité de virulence de la bactérie. En l'absence de souches productrices de beta-lactamases à spectre étendu (BLSE), le traitement associant une céphalosporine avec un aminoside est synergique et efficace. Par contre, la présence de souches BLSE positives nécessite un recours aux carbapénèmes [23]. Les taux de résistance des *Klebsiella* par production de BLSE peuvent, selon le pays d'Asie, atteindre un tiers des souches [21]. Dans notre étude plus d'un patient sur deux dont l'ECBC retrouvait un *Klebsiella* été traité en première intention par amoxicilline-acide clavulanique dont l'activité est inconstante sur les *Klebsiella*. Une amélioration est observée pour près de 80% de nos patients. Pourtant, les résistances retrouvées dans notre étude sont importantes : une seule souche est multi sensible. Si *Klebsiella* est naturellement résistante aux pénicillines et explique nos 86% des souches résistantes à l'ampicilline, nous retrouvons également une grande proportion de résistances acquises : près de la moitié des souches sont résistantes à l'association amoxicilline-acide clavulanique, 25% au sulfaméthoxazole-triméthoprim, 17,7% à la ciprofloxacine et 17,2% à la ceftriaxone. Elles ont cependant toutes gardées une sensibilité à l'imipénème. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés dans une revue systématique entre 1992 et 2012 des profils de résistances des bactéries responsables de pneumopathies communautaires au Cambodge [15]. Elle ne retrouve pas de souche bactérienne productrice de carbapénémases mais des souches résistantes à l'amoxicilline-clavulanique et aux céphalosporines de troisième génération.

Devant la fréquence des pneumopathies communautaires à *Klebsiella* au Cambodge, il est important d'inclure *Klebsiella pneumoniae* dans le spectre d'action des antibiotiques, en

cas d'échec d'un traitement de première ligne. Mais la microbiologie reste indispensable pour pouvoir adapter les traitements aux résistances.

Nous observons par ailleurs qu' *Escherichia coli* a développé des résistances multiples : deux souches seulement sont multi sensibles, alors que quatre souches sont résistantes à tout sauf imipénème et au chloramphénicol et une souche est résistante à tout sauf à l' imipénème.

Les obstacles à traiter les patients avec une antibiothérapie adaptée sont nombreux : le manque d'accès à un diagnostic microbiologique, un résultat obtenu après sortie des patients, des traitements trop chers et bien sûr la montée des résistances dans un contexte de consommation non contrôlée des antibiotiques.

Deux autres bactéries remarquables

La composition microbienne de l'appareil respiratoire d'un patient atteint de tuberculose est plus complexe que celle d'un sujet sain [16]. Parmi les bactéries retrouvés dans le tiers restant des ECBC, deux attirent notre attention dans le cadre de notre étude dans un pays d'Asie du Sud-Est avec une haute endémicité tuberculeuse.

Tout d'abord, nous retrouvons *Stenotrophomonas maltophilia*, une bactérie à gram négatif naturellement multi résistante aux antibiotiques dont le traitement requiert une association d'antibiotique comme sulfaméthoxazole-triméthoprime. Elle est à la fois uniquement retrouvée et très répandue parmi les patients avec une tuberculose pulmonaire [16] . Elle a été retrouvée chez un patient présentant des séquelles de tuberculose, vu en consultation et mis sous amoxicilline-acide clavulanique. A l'antibiogramme ce germe est multi résistant. Nous ne connaissons pas le devenir de ce patient qui ne reviendra pas en consultation de suivi.

Ensuite, un ECBC retrouve *Burkholderia pseudomallei*, pathogène responsable de la mélioïdose. Il s'agit d'une infection émergente d'Asie du Sud-Est due à une bactérie intracellulaire facultative, saprophyte du sol dont la clinique très variée peut mimer une tuberculose avec une létalité très élevée. Le manque d'accès au diagnostic microbiologique au Cambodge contribue à sous-estimer son incidence au Cambodge, alors qu'elle est très fréquente et pose un problème majeur au Nord-Est de la Thaïlande [18]. Notre patient a un germe multi sensible mais nous ne connaissons ni le traitement instauré ni le devenir du patient.

CONCLUSION

Notre étude monocentrique sur un petit effectif a bien sûr ses limites. Elle est rétrospective et englobe à la fois des patients ambulatoires et hospitalisés dans le service Tuberculose, et ne concerne ni les infections virales, fongiques ou parasitaires. Les infections respiratoires à *Pneumococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* sont sous-estimées dans nos résultats : cela reflète indirectement les difficultés de mener une étude dans un pays pauvre.

Il ressort malgré tout de notre étude une forte prévalence des infections à bacilles gram négatif, notamment à *Pseudomonas* et *Klebsiella*, qui doit être connue pour instaurer le traitement antibiotique présomptif des infections respiratoires basses. Les facteurs de risque à une infection par *Pseudomonas* sont à rechercher. En cas d'échec de traitement de première ligne, le plus souvent une pénicilline A au Cambodge, le spectre d'antibiotique utilisé devrait inclure *Klebsiella*. La montée des résistances complique le choix du traitement empirique et nécessite une surveillance, de façon à modifier les politiques de traitement. Elle nécessite l'appui de tests de diagnostics rapides en plus de l'accès à la microbiologie pour traiter de manière adéquat l'infection le plus rapidement possible. Par contre, tout cela à un coût. L'utilisation d'un antibiotique à large spectre serait tentant au vu de ces résultats, mais la population étudiée à partir d'un service d'hospitalisation est probablement plus grave et ne reflète pas l'ensemble des pneumopathies communautaires qui restent majoritairement à *Streptococcus pneumoniae*. De plus, cela conduirait à augmenter les résistances. En particulier, il est important de préserver les fluoroquinolones pour le traitement des infections sévères et des tuberculoses multi résistantes, dans un pays de forte prévalence tuberculeuse comme le Cambodge. Sans compter que leur utilisation peut retarder le diagnostic d'une tuberculose car engendrant une réponse clinique partielle.

A la question d'un impact de la forte prévalence de la tuberculose sur les autres infections respiratoires basses bactériennes, ce travail n'apporte que des ébauches de pistes. Nos résultats concordent avec d'autres études qui montrent que les patients présentant une infection à *Mycobacterium tuberculosis* sont davantage infectés par le *Pseudomonas* et moindrement par *Haemophilus influenzae*. Nous retrouvons aussi du *Stenotrophomonas*, bactérie à la fois fréquente et uniquement retrouvée chez les patients présentant une tuberculose. Mais à l'inverse, nous pouvons nous poser la question du rôle de la flore pulmonaire dans la pathogénèse de la tuberculose et son évolution sous traitement. Notre étude demanderait à être élargie, notamment en corrélant les tableaux cliniques aux résultats bactériologiques pour situer les germes retrouvés selon le statut du patient vis-à-vis de la tuberculose (sujet sain, tuberculose active, récurrence, échec de traitement, séquelles).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Delbrouck B., Vokar B. Chronologie sélective du Cambodge. [En ligne]. In : L'après génocide au Cambodge. Disponible sur : <http://www.apres-genocide-cambodge.com> (consulté le 26/08/2014)
- [2] Procheasas. Cambodge : Population et société d'aujourd'hui. Paris : L'Harmattan, 2006, 312p.
- [3] Chambres extraordinaires au sein des tribunaux cambodgiens. [En ligne]. Disponible sur : <http://eccc.gov.kh/fr> (consulté le 27/08/2014)
- [4] La banque mondiale. Gross national income per capita 2012, Atlas method and PPP. [En ligne]. In : La Banque Mondiale. Disponible sur : <http://databank.worldbank.org/data/download/GNIPC.pdf> (consulté le 03/05/2014)
- [5] La Banque mondiale. Data : Cambodia. [En ligne]. In : La Banque Mondiale. Disponible sur http://data.worldbank.org/country/cambodia#cp_wdi (consulté le 03/05/2014)
- [6] Union Européenne Action extérieure. Cambodge-Communauté Européenne : Document de stratégie pour la période 2007-2013. [En ligne]. Disponible sur : http://eeas.europa.eu/cambodia/index_fr.htm (consulté le 27/08/2014)
- [7] Programme des Nations Unies pour le Développement. Rapport sur le développement humain 2014. [En ligne]. Disponible sur : <http://www.undp.org/content/undp/fr/home/librarypage/hdr/2014-human-development-report/> (consulté le 27/08/2014)
- [8] World Health Organization Global Health Observatory. World Health Statistics 2014. [En ligne]. Disponible sur : http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2014/en/ (consulté le 27/04/2014)
- [9] National Social Security Fund of Cambodia. [En ligne]. Disponible sur : <http://www.nssf.gov.kh/> (consulté le 03/05/2014)
- [10] Woodhead M., Blasi F., Ewig S., *et al.* ; Joint Taskforce of the European Respiratory Society and European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections-full version. Clin Microbiol Infect. 2011 Nov;17 Suppl 6:E1-59.
- [11] Woodhead M., Blasi F., Ewig S., *et al.* ; European Respiratory Society; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. Eur Respir J. 2005 Dec;26(6):1138-80
- [12] World Food Programme. Kampong Cham [En ligne]. Disponible sur : <http://www.foodsecurityatlas.org/khm/country/provincial-Profile/Kampong-Cham> (consulté le 31/08/2014)
- [13] Enseignants du service de Bactériologie du CHU Jean Minjot et de la Faculté de Médecine-Pharmacie de Besançon. Examens cyto-bactériologiques des sécrétions broncho-pulmonaires [En ligne]. In : Bactério-web. Disponible sur : <http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/bibliotheque/remic/08-Bronc.pdf> (consulté le 15/07/2014)
- [14] Avrillon V., Ny C., Chan S., Souquet P.J., Couraud S. Premières données épidémiologiques sur les pneumopathies de l'adulte au Cambodge. Rev Pneumol Clin. 2014 Jun;70(3):133-41.

- [15] Goyet S., Vlieghe E., Kumar V., *et al.* Etiologies and resistance profiles of bacterial community-acquired pneumonia in Cambodian and neighboring countries' health care settings : a systematic review (1995 to 2012). *PLoS One*. 2014 Mar 13;9(3):e89637.
- [16] Cui Z., Zhou Y., Li H., Zhang Y., Zhang S., Tang S., Guo X. Complex sputum microbial composition in patients with pulmonary tuberculosis. *BMC Microbiol*. 2012 Nov 23;12:276.
- [17] Song J.H., Oh W.S., Kang C.I., *et al.* ; Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens Study Group. Epidemiology and clinical outcomes of community-acquired pneumonia in adult patients in Asian countries : a prospective study by the Asian network for surveillance of resistant pathogens. *Int J Antimicrob Agents*. 2008 Feb;31(2):107-14.
- [18] Vong S., Guillard B., Borand L., *et al.* Acute lower respiratory infections in ≥ 5 year -old hospitalized patients in Cambodia, a low-income tropical country : clinical characteristics and pathogenic etiology. *BMC Infect Dis*. 2013 Feb 22;13:97.
- [19] Peto L., Nadjm B., Horby P., *et al.* The bacterial aetiology of adult community-acquired pneumonia in Asia : a systematic review. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2014 Jun;108(6):326-37.
- [20] Wu J., Liu W., He L., *et al.* Sputum microbiota associated with new, recurrent and treatment failure tuberculosis. *PLoS One*. 2013 Dec 13;8(12):e83445.
- [21] Rammaert B., Goyet S., Tarantola A., *et al.* Acute lower respiratory infections on lung sequelae in Cambodia, a neglected disease in highly tuberculosis-endemic country. *Respir Med*. 2013 Oct;107(10):1625-32.
- [22] Rammaert B., Goyet S., Beauté J., *et al.* Klebsiella pneumoniae related community-acquired acute lower respiratory infections in Cambodia : clinical characteristics and treatment. *BMC Infect Dis*. 2012 Jan 10;12:3.
- [23] Baudrand H., Mbatchou Ngahane B.H., Marcu M., Freymond N., Pacheco Y., Devouassoux G. [Lung abscess due to community acquired Klebsiella pneumonia]. [Article in French]. *Rev Mal Respir*. 2009 Sep;26(7):773-8.