

Bactériologie et Virologie pratique

Dans la collection Prépa Pharma

Nicolas Valeix, *Parasitologie – Mycologie*, 3^e éd.

Adrien Melaye, Victoire Sadowicz, *Immunologie*

Sarra El Anbassi, Vincent Bianchi, Claire Duployez,
Bactériologie – Virologie, 2^e édition

Maud Mehring, Estelle Menu, *Toxicologie*, 2^e édition

Hors collection

Nicolas Picard et Vrob, *Pharmacologie*

Bactériologie et Virologie pratique

4^e édition révisée

Camille Chagneau, Pauline Floch
et Christophe Pasquier

deboeck **B**
SUPÉRIEUR

Pour toute information sur notre fonds et les nouveautés dans votre domaine de spécialisation, consultez notre site web : www.deboecksuperieur.com

© De Boeck Supérieur s.a., 2022
Rue de Bosquet, 7
B-1348 Louvain-la-Neuve

Tous droits réservés pour tous pays.

Il est interdit, sauf accord préalable et écrit de l'éditeur, de reproduire (notamment par photocopie) partiellement ou totalement le présent ouvrage, de le stocker dans une banque de données ou de le communiquer au public, sous quelque forme et de quelque manière que ce soit.

Dépôt légal :

Bibliothèque nationale, Paris : mars 2022

Bibliothèque royale de Belgique, Bruxelles : 2022/13647/047

ISBN : 978-2-8073-3941-5

SOMMAIRE

Abréviations générales

9

Abréviations antibiotiques et antiviraux

12

Prélèvements

15

Sérum	15
Sang : bactériémies et virémies	18
Liquide cérebrospinal (LCS)	24
Liquide de ponction	28
Urines	31
Prélèvements de la sphère ORL	35
Prélèvements de la sphère respiratoire	39
Selles	45
Prélèvements de la sphère génitale	49
Prélèvements périnataux	55
Lésions cutanées et suppurations	58
Recherche d'agents du bioterrorisme	62

Techniques usuelles d'identification et d'étude de la sensibilité

65

Diagnostic direct par culture	65
Diagnostic direct moléculaire	73
Autres diagnostics directs	77
Diagnostic indirect	78
Techniques d'étude de la sensibilité aux antimicrobiens	79

Bactéries à Gram positif**83**

Coques à Gram +	83
<i>Staphylococcus aureus</i>	83
Staphylocoques à coagulase négative (SCN)	87
<i>Streptococcus pyogenes</i> (groupe A)	89
<i>Streptococcus agalactiae</i> (groupe B)	92
Streptocoques du groupe <i>milleri</i>	95
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	97
<i>Enterococcus spp.</i>	101
Bacilles à Gram +	105
<i>Listeria monocytogenes</i>	105
Corynébactéries et apparentées	108
<i>Bacillus cereus</i> et autres espèces non <i>B. anthracis</i>	112
<i>Nocardia spp.</i>	114

Bactéries à Gram négatif**117**

Cocci à Gram -	117
<i>Neisseria meningitidis</i>	117
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	120
Bacilles à Gram -	123
Entérobactéries	123
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	133
<i>Acinetobacter baumannii</i>	137
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	140
<i>Vibrio spp.</i>	142
<i>Haemophilus influenzae</i>	145
HACCEK	148
<i>Moraxella catarrhalis</i>	150
<i>Pasteurella multocida</i>	152
<i>Campylobacter spp.</i>	154
<i>Helicobacter pylori</i>	157
<i>Legionella pneumophila</i>	160
<i>Bordetella pertussis</i>	164

Bactéries anaérobies 167

Anaérobies généralités	167
Bactéries anaérobies	171
<i>Clostridium spp.</i>	171
<i>Cutibacterium spp.</i>	176

Autres bactéries 179

<i>Mycobacterium spp.</i>	179
<i>Chlamydia spp.</i>	186
<i>Mycoplasma spp.</i>	189
<i>Ureaplasma spp.</i>	189
<i>Bartonella henselae</i>	193
<i>Coxiella burnetii</i>	196
<i>Treponema pallidum</i>	199
<i>Borrelia burgdorferi</i>	203
<i>Leptospira spp.</i>	206
<i>Tropheryma whipplei</i>	209

Virus à ADN 211

Virus herpès simplex (HSV)	211
Virus de la varicelle et du zona (VZV)	215
Virus Epstein-Barr (EBV)	218
Cytomégalovirus (CMV)	221
HHV-6A / 6B / 7	225
HHV-8	227
Adénovirus	229
Virus B19 (B19V)	231
Papillomavirus (HPV)	233
Virus de l'hépatite B (HBV)	236

Virus à ARN**241**

Virus de l'hépatite A (HAV)	241
Entérovirus	244
Calicivirus	247
Virus de l'hépatite E (HEV)	249
Rotavirus	252
Virus de l'hépatite C (HCV)	254
Virus de la dengue (DENV)	258
Virus West-Nile (WNV)	261
Virus Zika (ZIKV)	263
Virus de l'hépatite D (HDV)	265
SARS-CoV-2 (Coronavirus)	267
Influenzavirus (virus grippaux)	270
Virus respiratoire syncytial (RSV)	273
Virus des oreillons	276
Virus de la rougeole	278
Virus de la rubéole	281
Virus du Chikungunya	284
Virus de l'immuno-déficience humaine (HIV)	286

ABRÉVIATIONS GÉNÉRALES

-	négatif	CMI	concentration minimale inhibitrice (d'un antibiotique)
+	positif	CMV	cytomégalovirus (HHV-5)
Ac	anticorps	CNR	centre national de référence
ADH	arginine dihydrolase	COAG	coagulase
ADN	acide désoxyribonucléique	CPAM	caisse primaire d'assurance maladie
Ag	antigène	CXCR4	un des corécepteurs du HIV-1
ALAT	alanine aminotransférase	DENV	virus de la dengue
ARN	acide ribonucléique	DNase	désoxyribonucléase
ARA	arabineose	DO	déclaration obligatoire
ARS	agence régionale de santé	DPN	diagnostic prénatal
AS	aérobie strict	EBV	virus Epstein Barr (HHV-4)
ASAT	aspartate aminotransférase	ECBC	examen cyto bactériologique des crachats
ATU	autorisation temporaire d'utilisation	ECBU	examen cyto-bactériologique des urines
B19V	B19 virus	ECP	effet cytopathique
BAAR	bacille acido-alcooloo résistant	EDTA	acide éthylène diamine tétraacé- tique
BCP	gélose lactosée au Pourpre de Bromocrésol	ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
BCYE	<i>Buffered Charcoal Yeast Extract</i>	EIA	<i>Enzyme ImmunoAssay</i>
BHRe	bactéries hautement résistantes émergentes	EM	érythème migrant
BK	bacille de Koch / <i>M. tuberculosis</i>	EN	éléments nucléés
BLSE	bêta lactamase à spectre à spectre étendu	ESC	esculine (hydrolyse)
BMR	bactérie multi-résistante	E-Test	epsilomètre (CMI par bandelette)
C1G	céphalosporine de 1 ^{ère} génération	FFP2	<i>filtering face piece 2</i>
C2G	céphalosporine de 2 ^{ème} génération	GDH	glutamate déshydrogénase
C3G	céphalosporine de 3 ^{ème} génération	GEL	gélatinase
CAT	catalase	GGT	gamma glutamyl transférase
CCR5	un des corécepteurs du HIV-1	GISA	<i>Staphylococcus aureus</i> de sensi- bilité diminuée aux glycopeptides
CI50	concentration inhibitrice 50	GLU	glucose
CIT	citrate	HACCEK	<i>Haemophilus aphrophilus/paraphro- philus/parainfluenzae, Aggregatibacter</i>
CLED	cystine-lactose-électrolyte déficient		
CLIN	comité de lutte contre les infections nosocomiales		

	<i>actinomycetemcomitans</i> , <i>Cardio-bacterium hominis</i> , <i>Capnocytophaga spp.</i> , <i>Eikenella corrodens</i> , <i>Kingella kingae</i>		
HAV/VHA	hépatite A (virus)	LAMP	<i>Loop-mediated isothermal amplification</i>
HBV/VHB	hépatite B (virus)	LBA	liquide de lavage broncho-alvéolaire
HCV/VHC	hépatite C (virus)	LCS	liquide cérébro-spinal
HDV/VHD	hépatite D (virus)	LDC	lysine décarboxylase
HEV/VHE	hépatite E (virus)	LGV	lymphogranulomatose vénérienne
HHV-6	<i>Human Herpesvirus 6</i>	MALDI-TOF	<i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation – Time Of Flight</i>
HHV-8	<i>Human Herpesvirus 8</i>	MAL	maltose
HIP	hydrolyse de l'hippurate	MAN	mannitol
HIV/VIH	Virus de l'immunodéficience humaine	MGG	May Grunwald Giemsa
HPV	Papillomavirus humains	MH	Mueller-Hinton
HSH	homme ayant des relations sexuelles avec des hommes	MNI	mononucléose infectieuse
HSV	<i>Human Herpes Virus 1</i> (HHV-1 et HHV-2)	NIT	nitrate
HTLV	<i>Human T Lymphotropic Virus</i>	NGS	Séquençage de nouvelle génération
ICD	infection à <i>Clostridioides difficile</i>	NO₂	réduction des Nitrites
IDR	intradermo réaction	NSB	niveau de sécurité microbiologique
IF	immunofluorescence	O129	composé vibriostatique
IFI	immunofluorescence indirecte	ODC	ornithine décarboxylase
Ig	immunoglobulines	OMS	organisation mondiale de la santé
IgA	immunoglobulines de type A	ONPG	ortho-nitro-phényl-galactopyranoside
IgG	immunoglobulines de type G	ORL	oto-rhino-laryngologie
IgM	immunoglobulines de type M	OX	oxydase
IGRA	<i>interferon γ released assay</i>	PCC	précautions complémentaires contact
IM	intra-musculaire	PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
IMG	interruption médicale de grossesse	PLP	protéines liant les pénicillines
IND	indole	PNN	polynucléaires neutrophiles
INFγ	interféron γ	PYRA	pyrrolidonyl arylamidase
INNTI	inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse	R	résistant
INTI	inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse	RCIU	retard de croissance <i>in utero</i>
IP	inhibiteurs de Protéase	ROR	Rougeole Oreillons Rubéole
ISC	injection sous-cutanée	RPR	<i>rapid plasma reagin</i>
IST	infections sexuellement transmissibles	RSV/VRS	virus respiratoire syncytial
IV	intra-veineux	RT-PCR	<i>Reverse Transcriptase</i> puis <i>Polymerase Chain Reaction</i>
LAC	lactose	S	sensible
		SA	semaine d'aménorrhée
		SAC	saccharose
		SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline

SC	sous-cutané
SIDA	syndrome d'immunodéficience acquise
SOR	sorbitol
TI	<i>Transcriptase Inverse</i>
TIAC	Toxi-infection Alimentaire Collective
TK	thymidine kinase
TMA	<i>Transcripted Mediated Assay</i>
TNT	test non tréponémique
TROD	test rapide d'orientation diagnostique
TT	test tréponémique
UFC	unité formant une colonie

UCC	unité de changement de couleur urée (hydrolyse de l')
URE	urée (hydrolyse de l')
V	variable
VCAT	vancomycine, colistine, amphotéricine B, triméthoprime (gélrose)
VDRL	<i>Veneral Disease Research Laboratory</i>
VP	réaction de Voges-Proskauer
VZV	<i>Varicello Zoster Virus</i> (HHV-3)
WB	<i>Western Blot</i>
WNV	virus du Nilot occidental (west Nile)
XYL	xylose
ZIKV	virus zika

PRINCIPAUX LOGOS

	Aéro-anaérobie facultatif		Coque à Gram -
	Micro-aérophile		Diplocoque à Gram - capsulé
	Aérobic strict		Bacille à Gram -
	Anaérobie strict		Bacille à Gram - incurvé
	Cultivable en routine		Spirille
	Culture difficile		Intracellulaire obligatoire
	Coque à Gram +		Déclaration obligatoire
	Coque à Gram + amas		Symétrie cubique nue
	Diplocoque Gram +		Symétrie cubique enveloppée
	Coque à Gram + chaînettes		Symétrie hélicoïdale enveloppée
	Bacille à Gram +		Génome à ADN
	Bacille à Gram + intracellulaire		Génome à ARN

ABRÉVIATIONS ANTIBIOTIQUES ET ANTIVIRAUX

β-lactamines

P	pénicilline G
AM	ampicilline
AMX	amoxicilline
AMC	amoxicilline + acide clavulanique
OX	oxacilline
TIC	ticarcilline
TCC	ticarcilline + acide clavulanique
PIP	pipéracilline
PTZ	pipéracilline + tazobactam
CF	céfalotine
FOX	céfoxitine
CTX	céfotaxime
CRO	ceftriaxone
CAZ	ceftazidime
FEP	céfépime
ATM	aztréonam
IMP	imipénème
ERT	ertapénème
MER	méropénème

Aminosides

GM	gentamicine
TM	tobramycine
K	kanamycine
AN	amikacine

Macrolides – Lincosamides – Streptogramines

E	érythromycine
L	lincomycine
CLI	clindamycine
PT	pristinamycine

Glycopeptides

VA	vancomycine
TEC	teicoplanine

Fluoroquinolones

NAL	acide nalidixique
OFX	ofloxacine
CIP	ciprofloxacine
LEV	lévofloxacine
MXF	moxifloxacine

Autres antibiotiques

RA	rifampicine
FA	acide fusidique
SXT	triméthoprimé-sulfaméthoxazole ou cotrimoxazole
FOS	fosfomycine
TET	tétracycline
DOX	doxycycline
MIN	minocycline
FU	furanes
DPC	daptomycine

Antiviraux

ACV	aciclovir
CDV	cidofovir
FCV	famciclovir
PFA	foscarnet

Lecture des tableaux de Sensibilité aux antibiotiques

Les noms des antibiotiques sont écrits avec leur sigle : voir liste

Les antibiotiques S sont surlignés en vert et les antibiotiques R sont en rouge.

Tous les phénotypes de résistance acquise ne sont pas décrits : les phénotypes rares ne figurent pas.

L'interprétation de l'antibiogramme se fait en fonction des recommandations en vigueur (CASFM-EUCAST).

1 PRÉLÈVEMENTS

➤ Sérum

La sérologie consiste en la mise en évidence (test qualitatif) et/ou le dosage (test quantitatif) d'anticorps spécifiques d'un agent infectieux donné. Le but est d'évaluer l'immunité vis-à-vis de ce pathogène.

Les anticorps (Ac) recherchés peuvent être des IgG, des IgM ou plus rarement des IgA. Certaines techniques permettent la détection de toutes les classes d'anticorps (test de dépistage, à confirmer si positif) ; les résultats seront alors qualitatifs.

Les anticorps sont détectables au minimum 8 à 10 jours après l'infection, en pratique souvent 15 à 21 jours. Pendant ce délai, l'infection est sérologiquement inapparente (fenêtre sérologique).

1. Les IgG perdurent en général toute la vie ou décroissent très lentement. Elles signent une **immunité** protectrice ou pas selon les anticorps étudiés.
2. Les IgM ne sont présentes qu'à proximité de la **primo-infection** (apparition précoce et transitoire) ou dans certains cas lors d'une réactivation ou d'une réplication active pour certains virus. Toutefois certaines personnes peuvent avoir des IgM persistantes.

Les sérologies s'interprètent sur l'apparition (**séroconversion**), l'ascension ou la décroissance du taux des anticorps à quelques jours ou semaines d'intervalle. Ainsi une augmentation du taux des anticorps, notamment des IgG, objective une réinfection récente. Celle-ci doit être franche ($\times 2$ à $\times 4$ en 15 jours). La conservation en sérothèque légale (-20°C) est de 1 an (3 ans si diagnostic prénatal). Attention aux sérums ictériques ou hémolytiques.

Nous nous limiterons dans cette fiche à présenter les sérologies classiques.

Bactériologie

Tableau 1-1 : Sérologies bactériennes effectuées en pratique courante de laboratoire

Bactérie recherchée	Appellations actuelles (et anciennes)	Technique(s) courante(s)
<i>Treponema pallidum</i>	Sérologie syphilitique, Ig totales (test tréponémique) - VDRL (test non tréponémique)	ELISA VDRL : Agglutination
<i>Brucella spp.</i>	Rose Bengale Test, sérologie de Wright	Agglutination (Wright), Antigène tamponné ou Rose Bengale, IFI
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Sérologie de la maladie de Lyme	1 ^{ère} intention : ELISA 2 ^{ème} intention : Western Blot
<i>Legionella spp.</i>	Sérologie légionellose	IFI, ELISA
<i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Chlamydophila pneumoniae</i> , <i>Chlamydophila psittaci</i>	Sérologie <i>Chlamydia</i>	IFI, ELISA
<i>Coxiella spp.</i>	Sérologie fièvre Q	IFI, ELISA
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Sérologie mycoplasme	Fixation du complément, ELISA
<i>Bartonella spp.</i>	Sérologie de la maladie des griffes du chat	IFI, ELISA
<i>Leptospira spp.</i>	Sérologie leptospirose (sérologie Martin-Petit)	Micro-agglutination, ELISA
<i>Francisella spp.</i>	Sérologie tularémie	Micro-agglutination, IFI, ELISA
<i>Helicobacter pylori</i>	Sérologie <i>Helicobacter</i>	ELISA, WB

Virologie

Tableau 1-2 : Recherches d'anticorps et d'antigènes viraux effectuées en pratique courante de laboratoire

Virus recherché	Technique(s) courante(s)
Cytomégalovirus	IgG et/ou IgM par ELISA Avidité des IgG
Epstein Barr Virus	ELISA (IgG VCA et EBNA, IgM VCA), hémagglutination, MNI Test (PBD – Paul Bunnel Davidson)
Herpès simplex virus	IgG HSV type 1+2 par ELISA
HHV-6, HHV-8	IgG par ELISA, IFI
Hépatite A	IgG et/ou IgM par ELISA
Hépatite B	IgM ou Ac anti-HBc, Ac anti-HBs, Ac anti-HBe, Ag HBs, Ag HBe par ELISA
Hépatite C	Dépistage ELISA et test de confirmation
Hépatite D (agent delta)	IgG ou IgM par ELISA
Hépatite E	IgG et/ou IgM par ELISA
HTLV I et II	Dépistage ELISA et test de confirmation
Virus ourlien (des oreillons)	IgG et/ou IgM par ELISA
Virus morbillieux (de la rougeole)	IgG et/ou IgM par ELISA
Virus de la rubéole	IgG et/ou IgM par ELISA
VZV (varicelle zona)	IgG et/ou IgM par ELISA
HIV	Dépistage par ELISA et test de confirmation
Érythrovirus B19 (Parvovirus)	IgG et/ou IgM par ELISA

► Sang : bactériémies et virémies

Bactériologie

Les hémocultures sont les prélèvements de choix permettant le diagnostic des bactériémies. Elles sont fréquemment prescrites en milieu hospitalier notamment en cas de fièvre, mais aussi en cas de suspicion d'endocardite ou de sepsis.

Devant la gravité potentielle du pronostic tout résultat même partiel doit être transmis au clinicien. Ils permettront d'adapter le traitement antibiotique probabiliste.

► Bactéries à rechercher

Le sang est un liquide biologique stérile même s'il peut exister des bactériémies physiologiques transitoires en période post-prandiale notamment.

Les bactériémies sont le plus souvent mono-microbiennes.

L'interprétation est simple si la bactérie retrouvée n'est jamais commensale de la peau. Si elle l'est, le microbiologiste doit essayer en collaboration avec le clinicien de distinguer les contaminants des bactériémies vraies en tenant compte du contexte clinique et du terrain du patient.

Tableau 1-3 : Micro-organismes fréquemment retrouvés dans les bactériémies

Micro-organisme	Fréquence	Remarque / attention particulière	Rôle dans une éventuelle contamination
Entérobactéries	+++		Jamais
Staphylocoques coagulase négative*	+++	Patients porteurs de cathéters intravasculaires ou autres dispositifs implantables Endocardite	Possible
<i>Staphylococcus aureus</i>	++	Endocardite	Jamais
Anaérobies stricts	++		Rare
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	+/-		Jamais
Streptocoques β -hémolytiques	+/-		Jamais

Micro-organisme	Fréquence	Remarque / attention particulière	Rôle dans une éventuelle contamination
<i>Streptococcus</i> du groupe <i>viridans</i>	+/-	Endocardite	Possible
<i>Haemophilus influenzae</i>	+/-		Jamais
<i>Enterococcus spp.</i>	+	Endocardite	Jamais
<i>Corynebacterium spp.</i>	+		Fréquent
<i>Bacillus spp.</i>	+/-		Fréquent
<i>Cutibacterium acnes</i>	+		Fréquent
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Patients immunodéprimés	Jamais
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	Femmes enceintes, sujet âgé	Jamais
<i>Neisseria meningitidis</i>	-	Meningococcémie gravissime	Jamais
<i>Brucella spp.</i>	-	Endocardite	Jamais
<i>Campylobacter spp.</i>	-		Jamais
HACCEK	-	Endocardite	Rare
<i>Pasteurella spp.</i>	-	Morsure	Jamais

* Les staphylocoques à coagulase négative sont parfois à tort considérés comme des contaminants. Cette interprétation doit tenir compte du contexte (patient porteur de matériel étranger).

➤ Prélèvement

Le volume de remplissage des flacons est un élément critique. Chez l'adulte un volume de 8 à 10 mL par flacon est à prélever. Chez le nourrisson, le volume est à adapter au poids (flacon pédiatrique).

Les hémocultures doivent être prélevées avec certaines précautions. Il faut ainsi effectuer une déterision de la peau au savon suivie d'une antiseptie rigoureuse.

Il existe plusieurs types de flacons à hémocultures de différents fabricants. Ils contiennent tous une résine adsorbant les cations ou du charbon activé neutralisant l'action des antibiotiques.

On utilise un jeu de deux flacons aérobie et anaérobie dont la composition est la suivante :

- aérobie : atmosphère ambiante avec différentes quantités de CO₂ ajouté
- anaérobie : CO₂ + N₂

L'ensemencement est effectué directement dans les flacons lors du prélèvement.

Il ne faut pas pré-incuber les hémocultures dans une étuve avant leur transfert dans un automate d'hémoculture.

2 protocoles de prélèvements :

- unique : 4 à 6 flacons en 1 prélèvement
- multiples : 2 à 3 ponctions de 2 flacons en 2 à 3 prélèvements

➤ Prise en charge de l'échantillon au laboratoire

Les flacons sont placés dans un automate à 35 °C au minimum 5 jours. En cas de suspicion d'endocardite, l'incubation peut être prolongée à 10-15 jours. Ils possèdent à leur base un détecteur colorimétrique incorporé. Ce détecteur est sensible à l'abaissement du pH et donc à la production de CO₂ lors de la pousse bactérienne. Le virage de couleur est détecté par réflectométrie ou fluorescence sur l'automate. Celui-ci effectue plusieurs lectures par heure. En cas de positivité détectée par l'automate, les étapes suivantes seront effectuées :

Examen direct

Donne une première indication au clinicien et peut orienter le choix des milieux de culture et de l'atmosphère d'incubation.

Gram : réalisé en systématique. Attention une bactérie peut avoir un aspect déroutant (exposition aux antibiotiques).

État frais : pour la mobilité de certaines bactéries.

Technique d'ensemencement

Homogénéiser par retournements successifs le flacon puis prélever une goutte de bouillon sous poste de sécurité microbiologique. Effectuer ensuite une subculture sur

- gélose au sang cuit de type polyvitex® sous CO₂ à 35 ± 1 °C
- gélose au sang en anaérobiose à 35 ± 1 °C
- si suspicion de *Campylobacter* à l'examen direct, une gélose au sang en atmosphère microaérobie à 35 ± 1 °C.

L'incubation des boîtes doit être poursuivie pendant 5 jours.

Il existe des protocoles permettant l'identification en spectrométrie de masse directement à partir du flacon d'hémoculture.

Dans certains cas, un antibiogramme par diffusion peut être réalisé directement à partir des flacons.

Tableau 1-4 : Conduite à tenir devant la positivité d'hémoculture(s)

Cas	Bactérie	Conduite à tenir
Plusieurs hémocultures positives avec une même bactérie	Quelle qu'elle soit	Bactériémie vraie
Une seule hémoculture positive sur la série	Bactérie n'appartenant pas à la flore cutanée ou aux potentiels contaminants	Bactériémie vraie
	Bactérie rarement retrouvée dans la flore cutanée ni potentiel contaminant	À considérer comme une bactériémie vraie après discussion avec le clinicien
	Bactérie de la flore cutanée ou potentiel contaminant	Discussion avec le clinicien Si la même bactérie est retrouvée au niveau d'un foyer infectieux ou de la porte d'entrée elle pourra être considérée comme responsable Ex : <i>S. epidermidis</i> sur un cathéter ou sur autre matériel (valve), sinon évoquer une contamination
Plusieurs hémocultures positives avec plusieurs espèces bactériennes. Terrain de débilite ou foyer digestif	Toute bactérie	Bactériémie vraie
Toutes les hémocultures sont négatives	Absence de bactériémie (bactéries classiques) si les conditions de prélèvement et de transport ont été optimales Bactérie de pousse impossible sur les géloses (<i>Coxiella</i> , <i>Bartonella</i> , ...) Si le patient était sous antibiotiques, la culture a pu être décapitée. Si le volume de remplissage des flacons est insuffisant, baisse de la sensibilité de l'examen.	

Cas particulier des suspicions d'infections sur dispositifs intra-vasculaires

La bactériémie peut avoir pour origine un dispositif intravasculaire (cathéter, picline, chambre implantable...), colonisé par des bactéries le plus souvent d'origine cutanée. Toutes les bactéries peuvent être retrouvées.

Les plus fréquentes sont : Staphylocoques à coagulase – ; *Staphylococcus aureus*, Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.

Les Staphylocoques à coagulase –, par leur capacité à fabriquer du biofilm, peuvent adhérer sur du matériel.

En plus des hémocultures classiques, différents arguments peuvent orienter le clinicien pour incriminer le dispositif invasif en plus des signes locaux et de l'absence d'autre foyer :

- la réalisation d'une analyse comparée entre des hémocultures prélevées en périphérie et sur le dispositif positives, au même moment, au même micro-organisme

Un délai de positivité au moins 2 h plus précoce pour les hémocultures prélevées sur le cathéter par rapport aux hémocultures périphériques est en faveur d'une infection originaire du dispositif. Néanmoins l'interprétation du délai de pousse doit être soumise à précaution car dépendante de nombreux paramètres pré-analytiques non maîtrisables (volume inoculé, moment du prélèvement, acheminement trop long...). Il existe des techniques quantitatives mais difficiles à mettre en place.

- la culture du cathéter, l'écouvillonnage de la loge ou le rinçage de la chambre implantable...

L'embout du cathéter (5 cm de la partie distale) sera mis dans un flacon stérile et le délai d'arrivée au laboratoire devra être inférieur à 2 h. Il est mis dans 1 mL de sérum physiologique et une gélose au sang est ensemencée avec 100 μ L. La colonisation est significative si $\geq 10^3$ unités formant colonies (UFC) /mL, à interpréter en fonction de la présence d'une bactériémie et du contexte clinique.

Virologie

La présence de virus ou d'antigènes viraux dans le sang n'a pas du tout la même signification pronostique qu'une bactériémie. En effet, beaucoup de virus peuvent se trouver transitoirement ou non dans la circulation générale en absence de symptomatologie.

➤ Conditions de prélèvement et techniques de recherche

• Quantification des génomes viraux sur sang total ou plasma +++

Le prélèvement est réalisé sur tube EDTA, acheminé à température ambiante dans les 12 h au laboratoire. Les recherches s'effectuent selon les cas sur plasma, cellules ou sang total. Les techniques de PCR ou TMA utilisées sont qualitatives ou quantitatives (charges virales). Elles permettent ainsi un diagnostic et le suivi de l'évolution de la charge virale en particulier sous traitement.

- **Isolement viral**

Le prélèvement est effectué sur tube hépariné, citraté ou plus rarement EDTA. Le transport jusqu'au laboratoire doit être à température ambiante rapide et ne pas excéder 2 h.

Le type de culture cellulaire utilisée dépend du virus recherché. Pour les virus présents dans les cellules mononucléées, il est possible d'augmenter la sensibilité de la recherche en effectuant une séparation des cellules. Elle s'effectue par centrifugation sur un gradient de densité (type Ficoll®) qui permet de collecter l'anneau leucocytaire.

- **Antigénémies**

Les principaux antigènes viraux recherchés dans le sang le sont pour le VHB (Ag HBe ou Ag HBs).

➤ Virus recherchés

Tableau 1-5 : Principaux virus recherchés dans le sang et techniques utilisées

Virus	Technique de recherche		
	PCR	Antigénémie	Culture cellulaire
Adénovirus	Oui (plasma)	non	possible
Cytomégalo virus	Oui (sang total)	possible	possible
Entérovirus	Oui (plasma)	non	possible
Epstein Barr Virus	Oui (sang total)	non	possible
Virus de l'hépatite B	Oui (plasma)	oui (Ag HBs et HBe)	non
Virus de l'hépatite C	Oui (plasma)	possible	non
Virus de l'hépatite E	Oui (plasma)	non	non
HIV	Oui (plasma)	oui ± (p24)	difficile
Erythrovirus B19 (Parvovirus)	Oui (plasma)	non	non
BK/JC Virus	Oui (plasma)	non	non

➤ Liquide cébrospinal (LCS)

En raison de l'engagement du pronostic vital, l'examen cyto bactériologique et/ou virologique du LCS s'impose devant toute suspicion de méningite.

➤ Bactéries et virus à rechercher

Le LCS est un liquide stérile. Ainsi une présence d'un micro-organisme est anormale quel qu'il soit.

Tableau 1-6 : Différents micro-organismes responsables de méningites

	Adulte	Jeune Adulte et enfant > 5 ans	Enfant < 5 ans	Nouveau-né
<i>Neisseria meningitidis</i>	+	+++	++	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	++++	+	+	
<i>Streptococcus agalactiae</i>				++++
<i>Escherichia coli</i>				+++ (souvent K1)
<i>Listeria monocytogenes</i>	+ > 60 ans			+++
<i>Haemophilus influenzae</i>			±	
HSV-2		+		++
HSV-1	++	+		
Enterovirus		++	+++	
Autres bactéries en fonction du contexte :	Borrélie, Syphilis, mycobactéries...			
Autres virus, en fonction du contexte :	VZV, CMV, HHV-6, HIV, poliovirus, v. rougeole...		Oreillons	

Dans le cadre de méningites nosocomiales (liquide de dérivation...) toutes les bactéries peuvent être retrouvées, y compris celles de la flore cutanée (Staphylocoques, *Cutibacterium acnes*...).

➤ Prélèvement

Le LCS doit parvenir au laboratoire le plus rapidement possible en raison de la fragilité de certains micro-organismes et de la gravité potentielle du diagnostic.

➤ Prise en charge de l'échantillon au laboratoire

L'examen doit être réalisé en urgence.

- **Cytologie et examen direct**

Aspect macroscopique

Eau de roche, clair, eau de riz, trouble, purulent, hématiche ou hémolysé

Numération cellulaire

La numération est effectuée immédiatement. Le nombre d'éléments nucléés (EN) est inférieur à 5 par mm³. Chez le nouveau-né, il peut s'élever jusqu'à 30 EN par mm³. En cas d'anomalie, il faut effectuer une formule après cyto centrifugation et coloration au MGG. Les résultats et les orientations diagnostiques sont explicités dans le tableau ci-dessous.

- **Examen biochimique du LCS**

La glycorachie et la protéinorachie sont utiles en urgence.

La chlorurorachie est comprise entre 120 et 130 mmol/L, la protéinorachie entre 0,15 et 0,30 g/L et la glycorachie entre 2,5 et 3,5 mmol/L. Cette valeur est à comparer avec la glycémie sanguine. On estime que la glycorachie est comprise entre la moitié et les deux tiers de la glycémie.

L'hypoglycorachie est un signe très spécifique de méningite bactérienne (dont tuberculeuse) ou mycosique : un taux de glucose inférieur à 50 % de la glycémie ou inférieur à 2,2 mmol/L doit être considéré comme pathologique.

Les hyperprotéinorachies entre 1 et 5 g/L voire plus, sont habituelles en cas de méningites bactériennes (y compris la méningite tuberculeuse), en revanche, au cours des méningites virales ou de diverses affections neurologiques, l'augmentation de la protéinorachie reste souvent modérée (< 1 g/L).

- **Examen direct bactériologique**

L'examen direct doit se faire après cyto centrifugation et coloration de Gram.

Tableau 1-7: Interprétation des résultats biologiques sur LCS

Aspect	Cytorachie	Hypoglycorachie	Hyperprotéino-rachie	Examen direct	Orientation diagnostique
Hémorragique	Sanguine (environ 1 EN pour 1000 hématies)	Proche sang	Proche sang	–	PL traumatique ou hémorragie méningée
Clair à trouble	> 10 EN/mm ³ Prédominance lymphocytaire ou panachée	++	+	+/-	<i>Listeria</i> , <i>Mycobacterium</i> ou méningite bactérienne débutante
Clair à trouble	> 10 EN/mm ³ Prédominance lymphocytaire	-	+	-	Étiologies virales : entérovirus, HSV...
Trouble ou purulent	> 500 EN/mm ³ Prédominance polynucléaires	+++	++++	+*	Étiologies bactériennes : <i>N. meningitidis</i> <i>S. pneumoniae</i> ...

* souvent négatif après traitement antibiotique.

- **Examen bactériologique du LCS**

Culture

Les géloses suivantes sont ensemencées :

- gélose au sang cuit de type polyvitex® sous CO₂ à 35 ± 1 °C
- gélose au sang sous CO₂ à 35 ± 1 °C
- bouillon d'enrichissement (cœur-cerveille ou Schaedler) à 35 ± 1 °C

La pousse bactérienne doit être vérifiée quotidiennement et toute colonie suspecte identifiée. Un antibiogramme doit être systématiquement effectué.

Durée d'incubation : 5 jours, doit être prolongé dans le cas des prélèvements de neuro-chirurgie.

Recherche d'antigènes dans le LCS

La recherche d'antigènes solubles est possible pour *Streptococcus pneumoniae*.

Biologie moléculaire

Un diagnostic par biologie moléculaire peut être effectué. Il peut être utile en cas de méningite décapitée, si antibiothérapie préalable. Il permet également de déterminer rapidement le séro-groupe de *Neisseria meningitidis*. Ces techniques sont de plus en plus réalisées en routine, car elles permettent un rendu de résultat plus rapide qu'une culture classique. Il existe des techniques de PCR multiplex dans le cadre d'approches syndromiques.

Examens complémentaires

Quelle que soit l'étiologie, il est important de réaliser des hémocultures. En cas de méningite à *Neisseria meningitidis* accompagnée de lésions de purpura il peut être intéressant de prélever ces lésions. En effet, ce prélèvement reste généralement positif quelques heures après la négativation du LCS sous antibiothérapie adaptée.

- **Examen virologique du LCS**

Le plus souvent, la recherche de virus dans le LCS se fait par biologie moléculaire (PCR, TMA). Le délai d'acheminement doit être inférieur à 6 h. Un stockage à 4 ± 2 °C voire à -80 °C peut être envisagé si le délai de prise en charge est plus long.

► Liquide de ponction

Les liquides de ponction sont stériles. Ainsi tous les micro-organismes retrouvés dans ces liquides doivent être identifiés.

L'analyse est cyto bactériologique et comporte la numération et la formule des éléments nucléés. Les liquides de ponctions qui seront traités sont :

- Liquide pleural
- Liquide d'ascite
- Liquide péricardique
- Liquide péritonéal
- Liquide articulaire

► Bactéries et virus à rechercher

Toutes les bactéries isolées de ces échantillons sont potentiellement pathogènes. Toutefois, certaines sont plus fréquemment retrouvées.

- **Liquide pleural**

Noter l'aspect macroscopique (purulent, chyleux, séro-hématique, trouble, citrin), et le taux de protéines (< 30 g/L : transsudat, > 30 g/L : exsudat, en faveur d'une infection ou d'une pathologie tumorale).

Tableau 1-8 : Bactéries responsables de pleurésies

Pleurésies bactériennes communes	Pleurésies atypiques	Pleurésies tuberculeuses
<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Éventuellement anaérobies Entérobactéries Autres streptocoques	<i>Legionella spp.</i> <i>Chlamydia spp.</i> <i>Mycoplasma spp.</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>

- **Liquide d'ascite**

L'infection du liquide d'ascite est l'une des complications infectieuses les plus fréquentes chez le cirrhotique surtout lorsque le taux de protéines est < 10 g/L d'ascite.

Une infection du liquide d'ascite est possible pendant la tuberculose.

Tableau 1-9 : Bactéries responsables d'infection du liquide d'ascite

Bactéries fréquemment isolées	
Bacilles à Gram négatif (++++) Entérobactéries	Coques à Gram positif (+) <i>Streptococcus spp.</i> <i>Enterococcus spp.</i> <i>Staphylococcus spp.</i>

- **Liquide péricardique**

Les étiologies sont fréquemment virales (entérovirus en particulier).

Tableau 1-10 : Bactéries responsables d'infections du liquide péricardique.

Bactéries fréquemment isolées
<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> Entérobactéries <i>Coxiella burnetti</i>

- **Liquide péritonéal**

Il faut différencier les péritonites primitives des péritonites secondaires à une perforation d'organe, à un kyste ou un abcès et surtout une intervention chirurgicale.

Bactéries responsables de péritonites : ce sont principalement les bactéries de la flore digestive (*Enterobacteriaceae*, Anaérobies, *Enterococcus spp.*).

- **Liquide articulaire**

Il faut différencier les arthrites septiques primitives de celles secondaires à une infection sur prothèse.

Tableau 1-11 : Bactéries responsables d'infection du liquide articulaire

Arthrites septiques primitives	Arthrites septiques secondaires
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Kingella kingae</i> (enfant) Entérobactéries <i>Mycobacterium spp.</i> Toutes bactéries possibles	<i>Staphylococcus spp.</i> (souvent multirésistants) Toutes bactéries possibles

➤ Prélèvement

Il faut privilégier le prélèvement et le transport dans un flacon hermétique sans bulle d'air ou ensemencement de flacons d'hémocultures (essentiels pour ascite, pleural, articulaire). Certaines bactéries qui peuvent être retrouvées dans ces prélèvements sont particulièrement fragiles. Le transport au laboratoire doit être le plus rapide possible.

➤ Prise en charge de l'échantillon au laboratoire

• Cytologie et examen direct

Pour ces liquides, un examen cytotabériologique est obligatoire sauf pour les liquides péritonéaux : numération des éléments nucléés, formule leucocytaire, hématies et recherche de cristaux (liquide articulaire). Un examen direct par coloration de Gram doit être réalisé après cytocentrifugation.

• Ensemencement

Les milieux suivants sont ensemencés.

- gélose au sang sous CO₂ et en anaérobiose
- gélose au sang cuit de type polyvitex® sous CO₂
- mettre l'échantillon, si ce n'est déjà fait, en culture dans des flacons à hémocultures aérobie et anaérobie
- bouillon d'enrichissement

Incubation : 5 jours, pour les liquides articulaires minimum 15 jours.

Pour les liquides péritonéaux, l'ensemencement de géloses sélectives et/ou chromogènes peut faciliter l'isolement des pathogènes (prélèvements fréquemment plurimicrobiens).

