

Examen bactériologique

Examen bactériologique de base des prélèvements cutanés

TYPES DE LÉSIONS

Lésion superficielle fermée

Abcès, furoncle, anthrax, panaris, sycosis, phlyctène, bulle, vésicule, pustule, onyxis, acné, folliculite.

Lésion superficielle ouverte

Impétigo, suppuration (\pm croûte), périonyxis, brûlure, escarre, plaie ulcérée exsudative, mal perforant plantaire (diabète, lèpre), lésion fistuleuse, hidrosadénite suppurative, intertrigo inter-orteils, syndrome de Lyell.

Lésion profonde (T3)

Hypodermite, érysipèle, cellulite, gangrène gazeuse, granulome hypodermique.

Maladie transmise par les animaux (brucellose, maladie des griffes du chat, maladie de Lyme, pasteurellose, rouget du porc, tularémie).

MODE DE PRÉLÈVEMENT

Lésion superficielle fermée

Nettoyer la surface à l'alcool à 70°C.

Prélèvement.

- Lésion fluctuante :

Aspirer le pus au travers de la peau à la seringue avec une aiguille introduite dans le foyer infectieux. Si le volume du prélèvement est faible, ajouter quelques gouttes de sérum physiologique stérile à l'aiguille et décharger le contenu de la seringue dans un tube stérile.

- Acné ou folliculite :

Ouvrir une lésion folliculaire avec la pointe d'un vaccinostyle et prélever la sécrétion folliculaire à l'aide d'un écouvillon fin. Décharger le prélèvement dans un tube à hémolyse stérile contenant quelques gouttes de sérum physiologique stérile quand la recherche de bactéries anaérobies strictes est inutile.

Lésion superficielle ouverte

Nettoyer le pourtour de la lésion à l'alcool à 70°C.

Éponger la plaie avec une compresse ou un écouvillon stérile (selon la taille) humecté de sérum physiologique.

Prélèvement.

– Exsudat ou pus : aspirer avec une seringue montée d'un cathlon.

– Exsudat peu abondant : frotter un écouvillon dans la lésion contre le bord.

– Particules purulentes au bord de la lésion : prélever à la curette.

Décharger le prélèvement dans un tube stérile standard contenant quelques gouttes de sérum physiologique stérile quand la recherche de bactéries anaérobies strictes est inutile.

L'écouvillon doit être introduit dans un tube Portagerm aérobie. Seuls staphylocoques et streptocoques β hémolytiques se conservent sur un écouvillon sec.

Lésion profonde

Nettoyer la surface à l'alcool à 70°C.

Deux types de prélèvements sont possibles :

– injection dans la lésion, à l'aide d'une seringue et d'une aiguille fine, d'1 ml de sérum physiologique stérile et réaspiration du liquide.

– biopsie par punch biopsie.

Déposer le prélèvement dans un tube stérile standard, sauf en cas de recherche de bactéries anaérobies strictes.

RECHERCHE DE BACTÉRIES ANAÉROBIES STRICTES

Les bactéries anaérobies strictes ne peuvent survivre en présence d'air.

Prélèvement.

– Introduire le prélèvement à l'aiguille dans un tube de conservation de type Portagerm anaérobie.

– Déposer le pot contenant la biopsie dans un sachet hermétique contenant un réducteur de l'air.

ACCOMPAGNEMENT DU PRÉLÈVEMENT - TRANSPORT AU LABORATOIRE

Préciser le site anatomique, le contexte clinique, l'existence d'une antibiothérapie. Préciser la demande de culture anaérobie stricte et la recherche d'une espèce bactérienne particulière.

Le transport au laboratoire doit être rapide ou le prélèvement déposé à 4°C pour une durée inférieure à 24 h.

ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE DE BASE

Frottis coloré au Gram et au May Grunwald Giemsa

Polynucléaires : abondance.

Bactéries : morphologie, coloration de Gram, abondance, groupement (amas, chaînettes).

Culture

Milieux de culture de base gélose au sang, gélose au sang cuit. Milieux sélectifs selon l'aspect des bactéries au Gram, ou selon l'indication.

- Staphylocoques : milieu de Chapman.
- Bacilles Gram- : milieu de Drigalski.

Incubation à 37°C, les milieux aérobie 18 h à 36 h, les milieux anaérobies 5 jours.

Un antibiogramme (étude de la sensibilité de la bactérie aux antibiotiques) est réalisé systématiquement.

CULTURE DE BACTÉRIES ANAÉROBIES

La culture est faite sur des milieux riches en atmosphère désoxygénée. Les colonies apparaissent au bout de plusieurs jours. Elles sont en général petites, parfois à la limite de la visibilité, comparativement à celles de staphylocoque.

CAS D'EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE NÉGATIF

Rôle d'une antibiothérapie préalable au prélèvement

La bactérie responsable de l'infection est incapable de se multiplier *in vitro* même si l'antibiotique est inefficace *in vivo*.

Infection disséminée

Des hémocultures (culture du sang en milieu liquide dans un flacon contenant un bouillon de culture) doivent être réalisées, et peuvent permettre de trouver la bactérie pathogène.

Examen sérologique, diagnostic indirect

Dans certaines infections, des anticorps spécifiques sont détectés dans le sérum et permettent un diagnostic sérologique :

- de la brucellose par le sérodiagnostic de Wright, alors que *Brucella melitensis* est devenu indétectable dans les tissus,
- de la maladie des griffes du chat par la sérologie de *Bartonella*, en complément du test de biologie moléculaire,
- de la maladie de Lyme due à *Borrelia burgdorferi*,
- de la syphilis (*Treponema pallidum*), TPHA, VDRL.

Examen bactériologique à la recherche de mycobactéries

Le genre *Mycobacterium* se divise en de nombreuses espèces. Les mycobactéries ne se colorent pas au Gram et ne poussent pas sur milieux de bactériologie de base.

La principale mycobactérie pathogène est *Mycobacterium tuberculosis*, ou bacille de Koch (BK humain). Parmi les autres mycobactéries, dites atypiques, certaines sont responsables d'infection spécifique, telle *Mycobacterium marinum* responsable du granulome cutané après inoculation dans une piscine ou dans l'eau d'un aquarium contaminé.

INDICATION

Affection chronique : suppuration, granulome, lésion fistulisée, abcès froid, adénite.

La recherche de mycobactérie doit être précisée.

PRÉLÈVEMENT

Le prélèvement est constitué soit de pus prélevé à la seringue, soit d'une biopsie cutanée. La recherche ne peut se réaliser à partir d'un écouvillon ! Si un examen bactériologique classique est également demandé, faire 2 prélèvements séparés, la recherche de mycobactéries étant faite indépendamment.

Les mycobactéries sont des bactéries aérobies. Le prélèvement peut être entreposé 24 h à 4°C avant analyse.

ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE

Frottis coloré au Ziehl ou à l'auramine à la recherche de BAAR (bacilles acido-alcoolo-résistants) (fig. 1).

Le prélèvement est mis en culture sur milieu spécial : milieu solide de Lowenstein incubé 3 mois, milieu liquide 7H9 incubé 2 mois. L'espèce est identifiée et la sensibilité testée *in vitro* aux antibiotiques spécifiques des mycobactéries, isoniazide, rifampicine, éthambutol, pyrazinamide.

Recherche de bactéries par biologie moléculaire

INDICATION

Suspicion d'infection par une bactérie non cultivables au laboratoire.

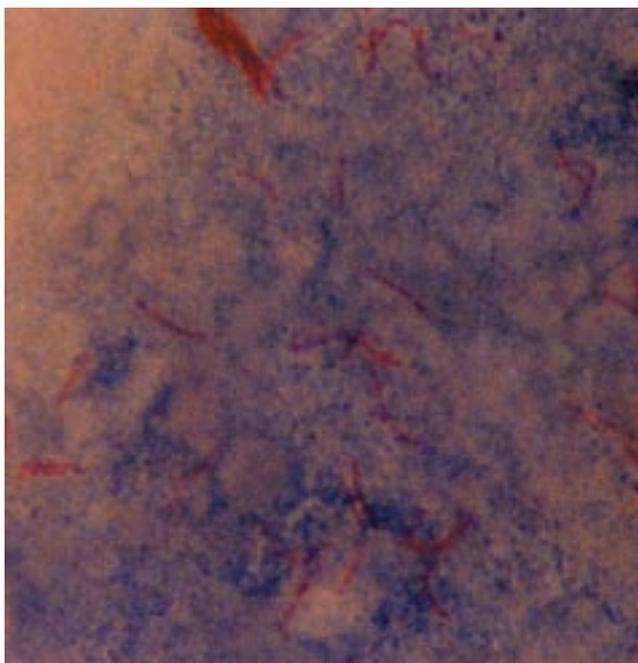


Fig. 1. Broyat de biopsie coloré au Ziehl
Présence de bacilles acido-alcoolo résistants (BAAR)

Maladie de Lyme, suivant une morsure de tique infectée par *Borrelia burgdorferi*.

Maladie des griffes du chat, suivant griffade ou morsure de jeune chat infecté par une *Bartonella*...

PRINCIPE DE LA RÉALISATION

Un ou plusieurs gènes spécifiques de la bactérie sont recherchés par amplification génique et migration du produit d'amplification sur gel d'électrophorèse en présence de témoins positif et négatif (fig. 2).

Protocoles d'étude de la colonisation cutanée et muqueuse

PROTOCOLES

- 1 - Carte cutanée bactérienne.
- 2 - Recherche de gîtes staphylococciques.
- 3 - Étude de la colonisation par des bactéries d'infection nosocomiale.

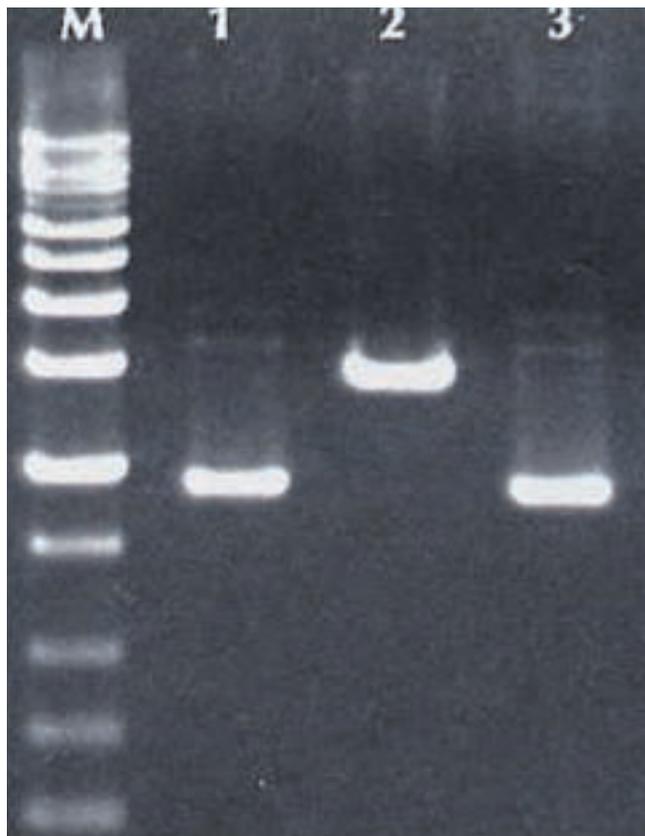


Fig. 2. Identification bactérienne par migration du produit d'amplification génique sur gel d'électrophorèse
1 - témoin positif
2 - témoin négatif
3 - gène présent
M - échelle de poids moléculaire

INDICATIONS

Carte cutanée

Patient ayant une maladie entraînant une desquamation cutanée intense, mycosis fongicoïde, érythème polymorphe, syndrome de Lyell, brûlé...

Recherche de gîtes staphylococciques

Furonculose à répétition. Indication à traiter un gîte orificiel ou localisé aux plis cutanés.

Recherche de la colonisation par des bactéries nosocomiales

Patient entrant dans un service hospitalier après plusieurs séjours hospitaliers de court ou de long séjour, ou patient entrant dans un service de soins intensifs.

Des bactéries résistantes aux antibiotiques sont recherchées : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), entérobactérie à β lactamase à spectre élargi, *Acinetobacter baumannii*.

Leur présence indique d'isoler le patient pour éviter la transmission de ces bactéries à d'autres patients.

MODE DE PRÉLÈVEMENT ET CULTURE

Carte cutanée

Une empreinte de la peau est faite avec un tampon recouvert d'un carré de vinyle sur un côté. Le tampon est appliqué successivement sur plusieurs boîtes de culture contenant des milieux gélosés spécifiques, gélose pour culture des bacilles Gram- et gélose pour culture des bactéries Gram+.

Recherche de gîtes staphylococciques

Des écouvillonnages des narines, des aisselles, des aines, et d'éventuels autres sites (anus, ombilic) sont réalisés après humidification des écouvillons par du sérum physiologique. Les écouvillons sont recapuchonnés. Au laboratoire, ils sont mis en culture sur milieu de Chapman.

Recherche de la colonisation par des bactéries nosocomiales

Des écouvillonnage des narines, des aines, des aisselles, de l'anus sont réalisés après humidification des écouvillons.

Les milieux de culture sont adaptés à la recherche de bactéries résistantes aux antibiotiques :

a) *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (pénicilline M anti-staphylococcique) (SARM),

b) *Klebsiella pneumoniae* et autres entérobactéries porteuses d'un gène de β lactamase à spectre élargi induisant une résistance à la plupart des β lactamines (pénicillines et céphalosporines) et transférable entre entérobactéries d'espèce différente,

c) *Acinetobacter baumannii*.

Un prélèvement sur écouvillon à partir de chaque site suffit : le prélèvement est directement ensemencé sur milieux de culture en boîte de Pétri et incubé 18 h à 37°C.

RÉSULTATS

Carte cutanée

Estimation semi-quantitative de l'abondance des colonies apparues sur le carré ayant reçu l'emprunte de chaque site. Identification et antibiogramme de *Staphylococcus aureus*, streptocoque β hémolytique, entérobactérie, *P. aeruginosa*...

Recherche de gîtes staphylococciques

Identification et antibiogramme de *Staphylococcus aureus*.

Recherche de la colonisation par des bactéries nosocomiales

Identification et antibiogramme des SARM, des entérobactérie à β lactamase à spectre élargi, et des *Acinetobacter*. L'incidence des SARM prédomine largement sur celle des 2 autres groupes recherchés.