EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES PUS

INTRODUCTION

Les infections bactériennes de la peau et des tissus mous sont fréquentes, constituant une part non négligeable de l'activité de routine d'un laboratoire de bactériologie.

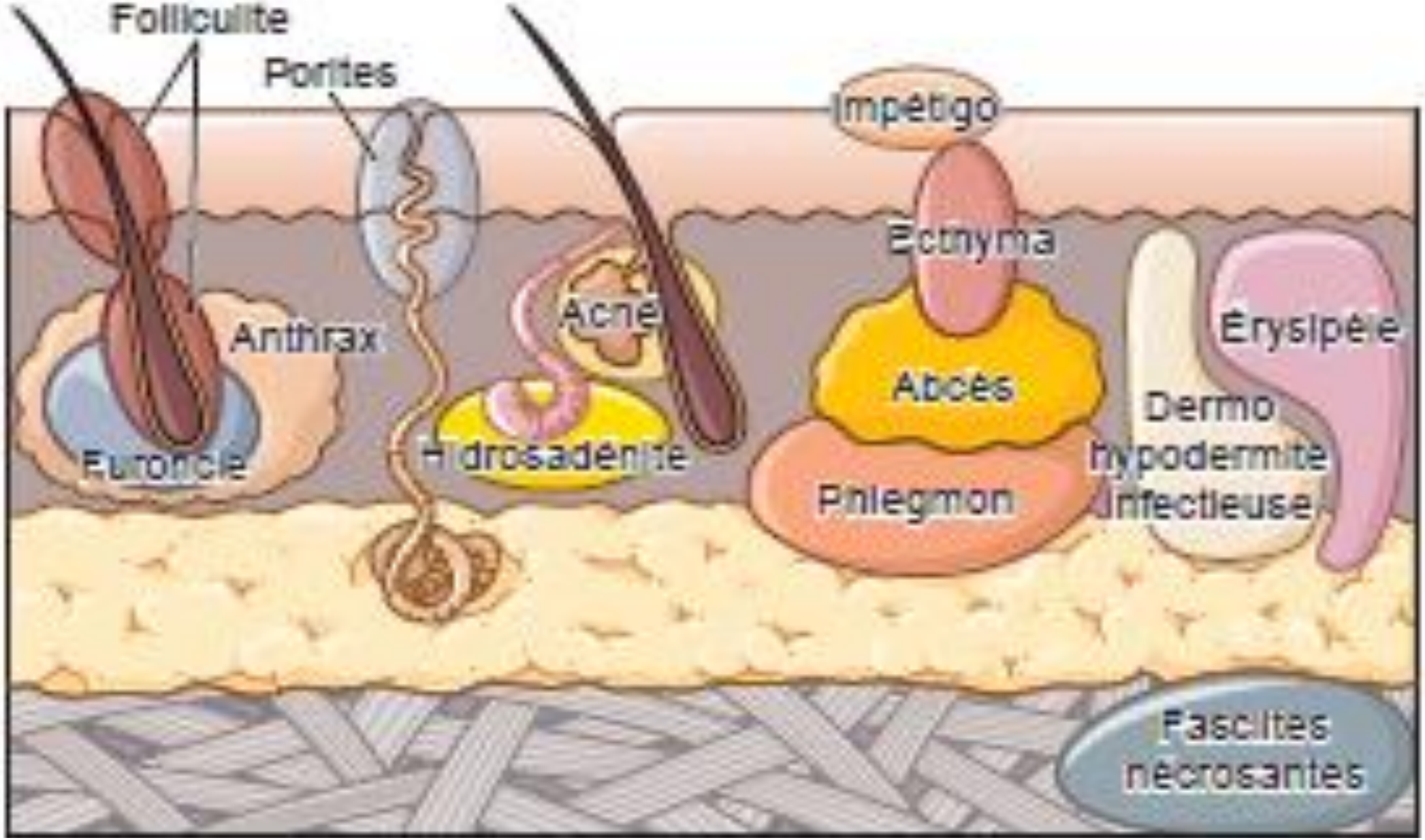
Ce type d'infections regroupe des formes cliniques très diverses selon la nature du tissu infecte (épiderme, derme, hypoderme, aponévrose, muscle), son caractère primitif ou secondaire (surinfection de dermatose virale ou chronique, post-traumatique) et son éventuelle nature nécrosante.

En fonction de la profondeur du tissu atteint , on distingue trois classes de suppurations qui sont les suivantes :

■ suppurations de classe I : les plus profondes, normalement fermées et stériles, sans communication avec l'extérieur ;

■ suppurations de classe II : elles communiquent ou ont communique avec un site anatomique colonise par la flore commensale cutanée susceptible de contaminer les prélèvements (suppurations fistulisées) ;

■ suppurations de classe III : superficielles et ouvertes avec une forte colonisation par la flore commensale cutanée.


Folliculite
Porites
Impétigo
Ecthyma
Acné
Anthrax
Furoncle
Hidrosadénite
Abcès
Phlegmon
Erysipèle
Dermo hypodermite infectieuse
Fascites nécrosantes

Tissus non nécrosés			Tissus nécrosés	
	Germes			Germes
Tableau	Les plus fréquents	Moins fréquents	Tableau	Usuels
Abcès cutané	*Staphylococcus aureus*		Cellulite *anaérobie*	*Clostridium perfringens* Mélanges aéro-anaérobies
Anthrax	*S. aureus*		Fasciite nécrosante	Mélanges aéro-anaérobies *S. pyogenes*
Cellulite	*S. aureus* *Streptococcus pyogenes*	*Haemophilus influenzae* *Pasteurella multocida* *Enterobacteriaceae* *Aeromonas* spp.	Gangrène *gazeuse*	*C. perfringens*, *C. septicum*, etc.
Ecthyma	*S. aureus* *S. pyogenes*	*Pseudomonas aeruginosa*	Progressif	*Streptococcus* spp. + *S. aureus* (voire *Proteus* spp.)
Érythrasma	*Corynebacterium minutissimum*			
Érysipèle	*S. pyogenes*	Streptocoque β-hémolytique des groupes B, C et G *P. aeruginosa* *S. aureus*		
Folliculite	*S. aureus*	*P. aeruginosa*		
Furoncle	*S. aureus*			
Impétigo	*S. pyogenes* *S. aureus*			
Panaris	*S. aureus*	*S. pyogenes*		

Nature de la morsure	Germes	Fréquence
Chat	*Pasteurella multocida* Anaérobies, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Capnocytophaga canimorsus*, *Eikenella corrodens*	+++ ++ ++
Chien	*Pasteurella multocida* Anaérobies, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus* *Capnocytophaga canimorsus*, *Eikenella corrodens*	+++ ++ +
Humain	*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *anaérobies* *Eikenella corrodens* *Haemophilus influenzae*	++ ++ +
Rat	*Streptobacillus moniliformis*	Exceptionnel

+++ : fréquent; ++ : peu fréquent; + : rare.

Aspect de la plaie	Germes usuels
Superficielle	*Staphylococcus aureus*, streptocoques β-hémolytiques
Chronique	*S. aureus*, streptocoques β-hémolytiques, entérobactéries
Lésion macérée	*Pseudomonas* en association à d'autres espèces bactériennes
Ulcère ≥ 6 mois	Polymicrobisme : *S. aureus*, streptocoques β-hémolytiques, entérocoques, corynébactéries, entérobactéries, *Pseudomonas*, bacilles à Gram négatif non fermentatifs
Nécrose, gangrène	Cocci à Gram positif aérobie, entérobactéries, *Pseudomonas*, bacilles à Gram négatif non fermentatifs, anaérobies stricts

Folliculite

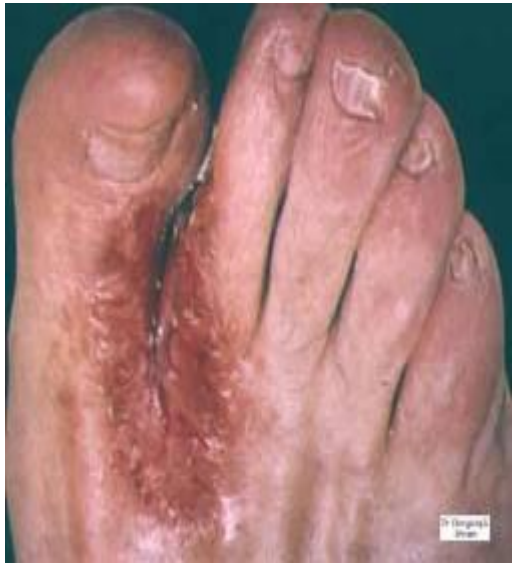
Furoncle

Anthrax staphylococcique

Impétigo

Impétigo bulleux

Intertrigo



Erysipèle de la jambe

Escarre et ulcère cutané

Panaris

Fasciite nécrosante

Les conditions de prélèvement

1. Les prélèvements doivent être réalisés de préférence avant toute antibiothérapie.
2. Les échantillons doivent être acheminés au laboratoire dans un sac hermétique, accompagnés d'une feuille de renseignements cliniques.
3. Les informations cliniques sont essentielles pour la prise en charge et l'interprétation de l'examen (identification du type d'infection et de sa localisation, modalités de prélèvement, contexte clinique global (âge, état immunitaire, diabète, corticothérapie,etc.) et traitement antibiotique éventuel.

Modalités de prélèvement

- Le prélèvement des suppurations de classes II et III doit être précédé d'une détersion au sérum physiologique stérile et d'une asepsie rigoureuse afin d‘éviter la contamination de l‘échantillon par la flore commensale cutanée.
- Les prélèvements réalises a l‘écouvillon sont à éviter le plus possible

car facilement contamines et non adaptes a la recherche de bactéries anaérobies.

A défaut, l‘écouvillon utilisé doit être accompagné d'un milieu de transport. les prélèvements effectues a la seringue, les biopsies et pièces opératoires mises en récipient stérile doivent en revanche être privilégiés

- Le prélèvement des échantillons de faible volume réalisé a l'aiguille fine montée sur une seringue peut être facilite par l'utilisation d'une faible quantité de sérum physiologique stérile préalablement injecte dans la lésion ou aspire secondairement.
- L'expulsion préalable de l'air contenu dans la seringue est indispensable pour permettre la survie des bactéries anaérobies éventuellement présentes dans l‘échantillon.
- La dessiccation des biopsies cutanées peut être prévenue par l'ajout de quelques gouttes de sérum physiologique stérile dans le récipient stérile. Dans le cas particulier des infections du pied diabétique, la biopsie tissulaire est à privilégier.
- En dehors des prélèvements locaux, des hémocultures doivent également être prélevées car les infections bactériennes sévères s'accompagnent très souvent d'une bactériémie.

- **Transport**
- Les échantillons doivent arriver rapidement au laboratoire,
- dans un délai maximal de 2 heures a température ambiante
- afin d'optimiser la recherche des bactéries anaérobies. Si
- ce délai doit être dépassé, il est recommandé d'utiliser un
- milieu de transport

Examen cytobactériologique

Examen macroscopique

L'aspect macroscopique de l'échantillon constitue une information importante a noter (hémorragique, purulent, présence de grains, etc.).

Préparation de l'échantillon

Les échantillons solides doivent être broyés stérilement. Pour les échantillons prélevés sur écouvillons, l'un d'entre eux est réservé à l'examen direct et les autres a la culture.

Examen microscopique

L'examen microscopique après coloration de Gram du frottis de produit pathologique indique la quantité relative de leucocytes, de cellules épithéliales et la présence de bactéries.

L'examen microscopique des échantillons de suppuration de classes II et III évalue également l'abondance relative de la flore.

Mise en culture

Du fait de la diversité des bactéries isolées, des milieux de culture enrichis sont nécessaires, ainsi que des milieux sélectifs, notamment pour les prélèvements contaminés par une flore commensale. Sont ensemencées au minimum :

- une gélose au sang incubée en aérobiose ;
- une gélose au sang cuit avec supplément poly vitaminique incubée sous CO2.

Peuvent être ajoutes en fonction des modalités de prélèvement (biopsie, prélèvement liquide, suspicion d'infection a bactérie anaérobie) et de l'examen microscopique :

- une gélose au sang incubée en anaérobiose ;
- une gélose ordinaire incubée en aérobiose pour les bactéries

a Gram negatif (CLED, BCP, etc.) ;

■ des flacons d'hémoculture (aérobie et anaerobie) peuvent être ensemencés au laboratoire si cela n'a pas déjà été fait au moment du prélèvement.

Les milieux de culture sont incubes a 35 a 37 °C au moins 48 heures en aérobiose. Pour la recherche de bactéries anaérobies ou de croissance lente, les milieux sont incubes en anaérobiose et sous CO_2 pour au moins 5 jours. L'incubation des milieux liquides est poursuivie au minimum 15 jours.

Conservation des échantillons pour analyse ultérieure

Les échantillons précieux (prélevés à la seringue, les biopsies et pièces opératoires) doivent être conserves a −80 °C pour d'éventuelles analyses ultérieures évoquées en fonction des premiers résultats bactériologiques (recherches particulières, biologie moléculaire, etc.) et de l'évolution clinique.

Interprétation des cultures positives

Etant donne la diversité des localisations, tout échantillon doit être accompagné de sa localisation précise et des renseignements cliniques indispensables pour

Étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Un antibiogramme doit être réalisé sur les souches cliniquement importantes .Il est conseillé de conserver les souches bactériennes cliniquement significatives par congélation à une température de −20 °C a −80 °C en présence d'un cryoprotecteur ou par piqure en gélose profonde.

Diagnostic moléculaire

Le diagnostic moléculaire est complémentaire de la culture ; il est souvent réalisé dans un second temps au cours du diagnostic bactériologique. La recherche d'ADN bactériens par PCR dans les échantillons biologiques peut être très utile, notamment en cas de traitement antibiotique concomitant au prélèvement, ou de bactéries a croissance lente ou difficile. Deux types de cibles génomiques peuvent être recherchés : spécifiques (amorces spécifiques d'éspèce) ou universels (amorces universelles permettant d'amplifier un fragment du gene codant l'ARN ribosomal 16S).

Diagnostic indirect

Certaines manifestations cutanées résultent d'infections par des bactéries difficilement cultivables et pour lesquelles le diagnostic repose sur la sérologie et la détection par PCR de constituants bactériens. Il s'agit notamment de *Borrelia burgdorferi*, l'agent de la maladie de Lyme, de *Bartonella*, responsable de la maladie des griffes du chat, et de *Francisella tularensis* identifie dans la tularemie.