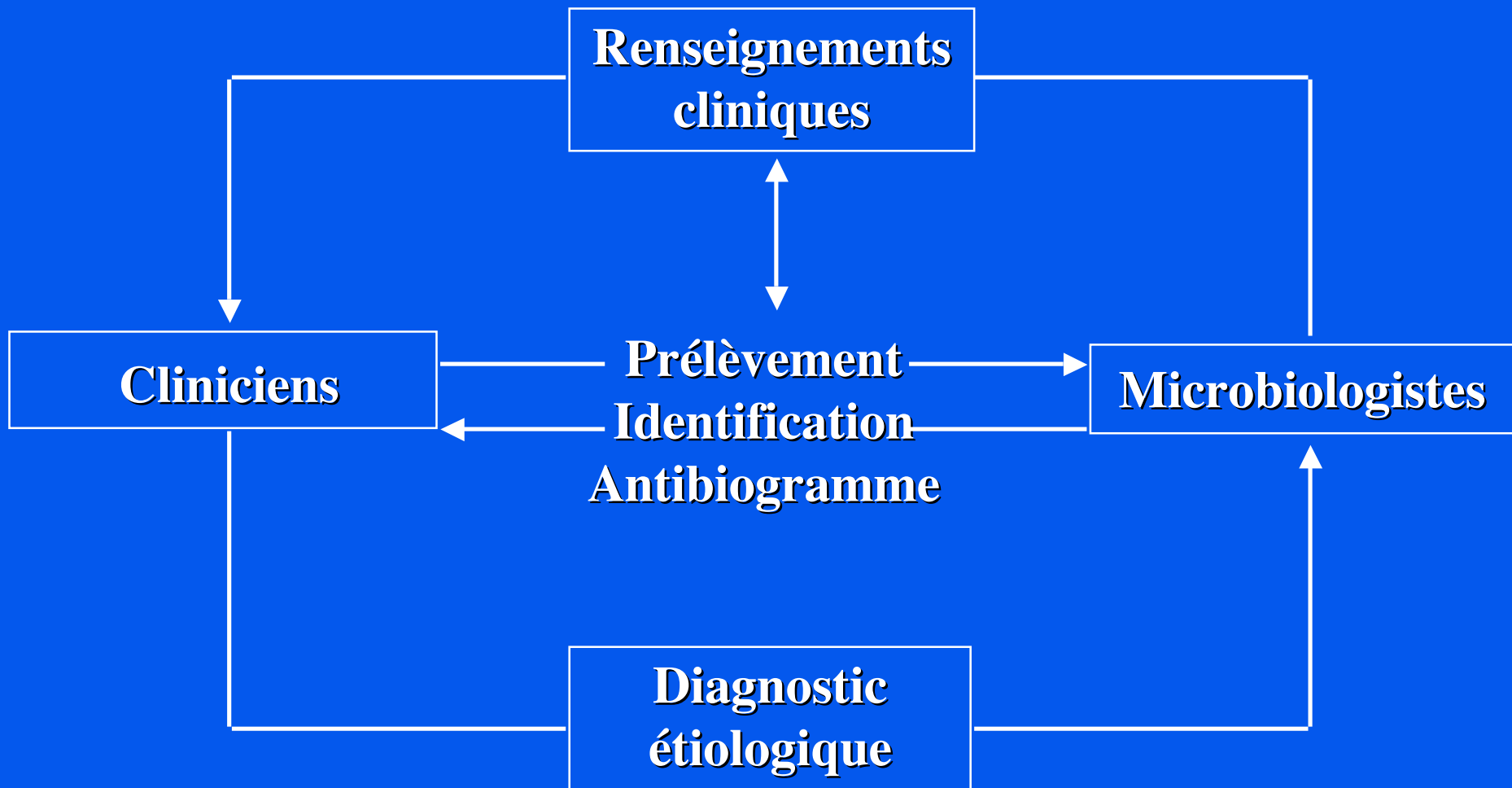


BASES MICROBIOLOGIQUES POUR LE CLINICIEN



Particularité de l'analyse biologique : recherche de microorganismes vivants et ubiquitaires

Diagnostic étiologique / système respiratoire des bactéries

Conditionnement du prélèvement

- aérobie strict : tube sec stérile
- anaérobie strict : seringue
: portagerm
: hémoculture non ventilée
- aéro-anaérobie : tube sec stérile
- microaérophile : milieux spéciaux pour
optimiser la culture (*Brucella*)

Importance du tube sec stérile

Examen direct

- Coloration Gram $\oplus$, $\ominus$
- Morphologie : bacille
cocci
- Organisation : amas
chaîne
palissade
- Si positive $\leftrightarrow$ 10^5 C / ml $\rightarrow$
orientation diagnostique en 20'
(impossible à faire avec les bactériémies)

Diagnostic étiologique / temps de croissance des bactéries

- [illegible]

Diagnostic étiologique/ temps de croissance

Conservation des prélèvements

- Pour une croissance rapide et les diagnostics utilisant une quantification bactérienne
 - urines
 - cathéters centraux
 - prélèvements distaux protégés, brosses

conservation
à +4°C
(sauf exception)
- Croissance lente
Mycobactéries - mais autres espèces évoquées sur la clinique
ex : *Brucella*, prévenir le laboratoire car trois semaines de culture et repiquage systématique des hémocultures

Diagnostic étiologique / température et facteurs de croissance des bactéries

- Lyse spontanée : pneumocoque, méningocoque (inoculation en milieu de culture, la plus rapide possible)
- Dessiccation : éviter les écouvillons (culturette)
- Activité antibiotique : dilution ou capture (résine) des antibiotiques
- Multiplication intra-cellulaire : Isolator
- Facteurs de croissance indispensables : *Legionella* (BCYE)
- Température de croissance $\neq$ de 37°C : *Nocardia*
Campylobacter

1ère Conclusion

- Prélèvement bien fait + renseignements cliniques
 - > Optimisation de l'isolement des
""microorganismes au laboratoire

Interprétation des résultats bactériologiques

Valeur pathogène du microorganisme isolé ?

Bactéries pathogènes strictes

Gonocoque, *M. tuberculosis*, *Salmonella* majeures, mineures

Mais porteurs sains de pathogènes stricts :
Salmonella, *Vibrio cholerae* (tube digestif)

Bactéries commensales

!Escherichia coli

Tube digestif

Pneumocoque

Haemophilus influenzae

Oropharynx

Corynébactérie

Staphylocoque

à coagulase négative

Acinetobacter

Peau

hors niche
écologique
→ pathogène
≠ "pouvoir
pathogène
des bactéries

Bactéries saprophytes

!!!!

Acinetobacter

Pseudomonas aeruginosa

!!!!

Diverses entérobactéries

(*Serratia* spp, *Enterobacter cloacae*)

opportunistes :
"colonisateurs / pathogènes ?"
→ facteurs de risque

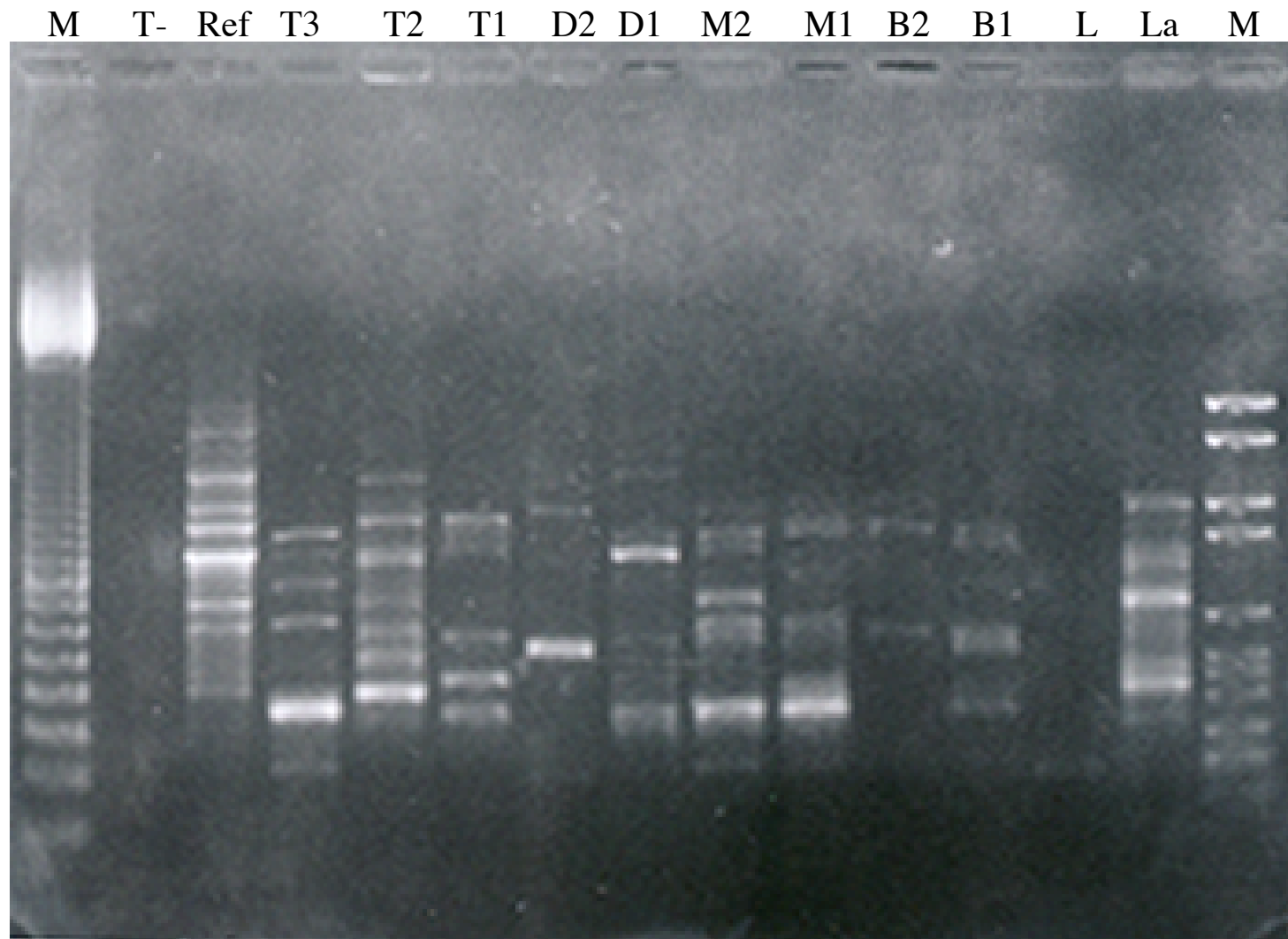
M. fortuitum

Les garde-fous pour les commensaux cutanéomuqueux peu virulents

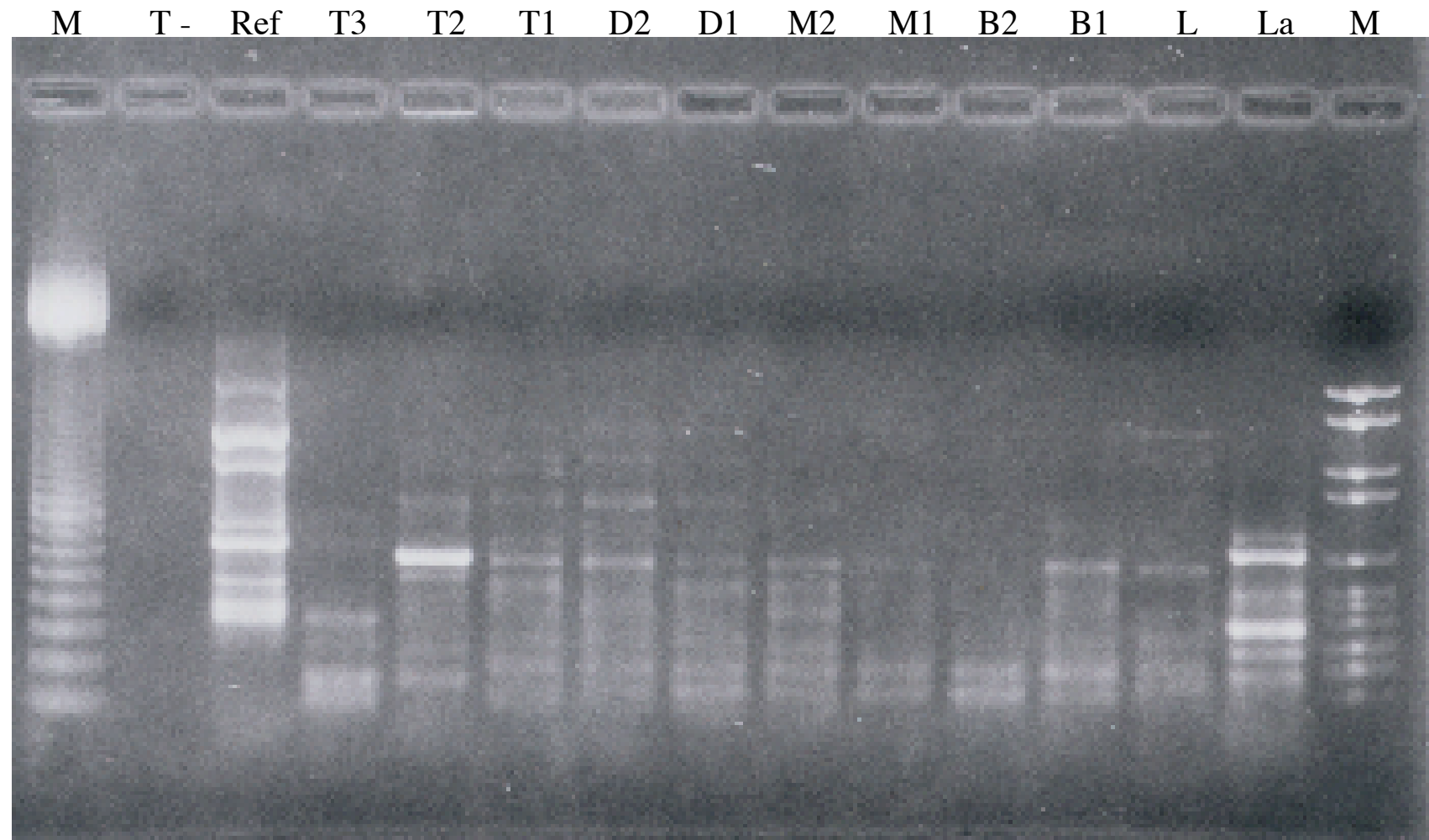
- 1) présence ou non de polynucléaires
- 2) éviter les prélèvements par écouvillonnage
- 3) multiplicité de prélèvements positifs avec le même " microorganisme

Exemple des Staphylocoques à coagulase négative

- 27 espèces
 - nécessité d'identifier (*S. epidermidis* le plus fréquent)
 - virulence différente : *S. lugdunensis* > *S. epidermidis*
- Bactériémie (infection) si 2 piqûres (2 hémocultures) ""
 - "" positives avec une même espèce et même
 - "" antibiogramme
- Valeur de l'antibiogramme pour l'identification de ""
 - "" souches de *S. epidermidis*, si multirésistance ?
- Autres systèmes de typage



Profil RAPD de *Staphylococcus epidermidis* avec l'amorce Oligo 3. M : marqueur de taille, T- : contrôle négatif, Ref : souche de référence.



Profil RAPD de *Staphylococcus epidermidis* avec l'amorce Vg1.
M : marqueur de taille, T- : contrôle négatif, Ref : souche de référence.

Les garde-fous pour les opportunistes colonisation / infection

- Notion de seuil (culture quantitative)
 - cathéters centraux (Brun-Buisson $\geq 10^3$ UFC/ml)
 - prélèvements distaux protégés, brosses (10^3 UFC/ml)

**MAIS VALIDATION PREALABLE DES SEUILS
PAR ETUDE CLINICO-MICROBIOLOGIQUE**

Exemple de *P. aeruginosa*

- Nécessite peu de nutriments pour croître
- Ubiquitaire (humidité)
- Capable de se multiplier dans les antiseptiques
- Très souvent considéré ou pouvant être considéré comme un colonisant (exemple : urines $\oplus$ chez patients sondés en réanimation)
- Facteurs de virulence : exotoxine
protéase
- Bactériémie à *P. aeruginosa* → taux mortalité attribuable > à celle due aux autres bacilles à Gram négatif

Exemple de *P. aeruginosa*

- Type de site prélevé : lame,redon/ peropératoire (polynucléaires)
- Procédure de prélèvement (aspiration trachéale, brosse)
- Même site plusieurs fois positif à *P. aeruginosa* mais variation phénotypique dans la chronicité (antibiotype-sérotype)
- Epidémie *versus* plusieurs cas sporadiques concomitants

Exemple de *Acinetobacter baumannii*

Augmentation du nombre de cas d'infection post-opératoire à *A. baumannii*

Phénomène d'épidémie, de cas sporadiques ?

Conclusion

Pour que le diagnostic microbiologique corresponde au diagnostic étiologique, l'isolement ou le non isolement de microorganisme(s) doit être replacé dans le contexte clinique (incluant l'origine et la manière dont a été fait le prélèvement) et parfois le contexte épidémiologique