

Diagnostic bactériologique des infections respiratoires basses

Pr Ag Hajer Ben Abdallah

Hôpital F. Bourguiba de Monastir

Faculté de Médecine de Monastir

INTRODUCTION

Pneumonies aiguës communautaires (PAC) :

- La confirmation **bactériologique** de l'infection :
pas nécessaire au diagnostic (**clinique** et **radiologique**)
 - adaptation secondaire du traitement
 - aucune technique n'a suffisamment de sensibilité et de spécificité pour influencer l'antibiothérapie initiale

INTRODUCTION

Pneumopathies nosocomiale

- 1^{ère} cause d'infection nosocomiale en réanimation (ventilation mécanique+++)
- **Diagnostic**
 - clinique (Scores: *Clinical Pulmonary Infection Score* ...),
 - lavage bronchoalvéolaire (LBA) :l'examen le plus utile
- **Traitement** orienté par les données de prélèvements non invasifs: aspirations trachéales(périodiques et systématiques)



Défenses non spécifiques contre l'agression bactérienne

Défenses de la paroi et des muqueuses

- Facteurs chimiques
(IgA sécrétaires...)
- Mécaniques
(mucus, épithélium cilié, desquamation cellulaire)
- Bactériens :
flore commensale ⇔ effet barrière

Principales bactéries de la flore commensale oro-pharyngée

- **Flore oro-pharyngée:**
 - Streptocoques α -hémolytiques autres que *Streptococcus pneumoniae*,
 - *Neisseria sp*,
 - flore anaérobie
- **Colonisation transitoire par Bactéries pathogènes :**
 - *S. pneumoniae*,
 - *S. pyogenes*
 - *Staphylococcus aureus*
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Moraxella catarrhalis*
 - *Neisseria meningitidis*



Etiologies des Broncho- pneumopathies infectieuses

Bronchiolite aiguë du nourrisson

- **Etiologie virale**
- **Possibilité de Surinfection bronchopulmonaire**

Bronchites aiguës

- **Infection la plus fréquente des voies respiratoires basses**
- **Etiologie virale +++**
- **Possibilité de Surinfection bronchopulmonaire**
- **Diagnostic bactériologique et antibiothérapie inutiles**

Exacerbations de BPCO

- **50% cas: origine infectieuse (virale ou bactérienne)**
- **la purulence franche de l'expectoration= argument fort en faveur de l'origine bactérienne**
- **Bactéries responsables de surinfection bronchique:**
 - ***S. pneumoniae***
 - ***H. influenzae,***
 - ***M. catarrhalis***
 - ***Pseudomonas aeruginosa***
 - ***Staphylococcus aureus, Entérobactéries, Acinetobacter***

Exacerbations de BPCO

- **Examen cyto bactériologique des expectorations : en général inutile!**
- **Prélèvements: même que pneumopathies**
- **Indications: échec thérapeutique ou stade de BPCO sévère**

Pneumonies

- **Etiologie inconnue: 50% des cas**
- **Association possible de plusieurs germes**
- **Agents responsables:**

1. Bactéries

(S. pneumoniae++++, bactéries intracellulaires, BGN..)

2. virus+++

3. parasites

4. champignons

Pneumonie lobaire

- ***S. pneumoniae* +++ (1^{er} agent de PAC sévère)**
- ***Legionella pneumophila* (Europe: 10%, 2^{ème} agent de PAC sévère)**
- ***Klebsiella pneumoniae* (2-3%)**
- **Plus rarement (bronchopneumopathies+++)**
 - *H. influenzae*
 - *S. aureus* (nourrisson, sujets âgés+++)
 - Entérobactéries (sujets âgés)
 - anaérobies (inhalation)
 - *P. aeruginosa* (Mucoviscidose ++)
 - *Bordetella pertussis et parapertussis*
(grand enfant et adulte jeunes insuffisamment immunisé)

Pneumopathies interstitielles (atypiques)

- *Legionella pneumophila*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Chlamydia pneumoniae*, *C. psittaci*
- *Coxiella burnetii*

Pneumonies nosocomiales

- *Pseudomonas aeruginosa*,
- *Acinetobacter baumannii*
- *S. aureus*,
- *Entérobactéries (Klebsiella, Enterobacter, Serratia+++)*
- *Anaérobies*,
- *Legionella pneumophila*



diagnostic bactériologique d'une pneumopathie bactérienne

- **Difficulté du diagnostic** des broncho-pneumopathies est **liée à l'obtention de prélèvements** des voies aériennes inférieures **non contaminés** par la flore oro-pharyngée.
- Les principales espèces responsables de pneumopathies peuvent être présentes à l'état commensal dans l'oropharynx.

Prélèvements respiratoires

- Recueil des sécrétions avant antibiothérapie.
- Acheminer rapidement au laboratoire (<2H).
- Éliminer les prélèvements salivaires.
- Quantifier la flore bactérienne.
- 2 types : - **non invasifs** (non protégées)
- **invasifs** (protégées)

Prélèvements respiratoires

Prélèvements pulmonaires non protégés:

- Expectations (ECBC)
- Aspirations trachéales ou nasotrachéales.
- Aspirations bronchiques non protégées.

= > Résultats aléatoires.

Prélèvements respiratoires

Prélèvements pulmonaires protégés

- Ponction transtrachéale (PTT).
- Lavage broncho alvéolaire (LBA).
- Brossage bronchique protégé (BBP)
- Biopsies exceptionnelles.

Réalisés en milieu spécialisé jamais au laboratoire

Plus fiables

Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

- **Risque de contamination par flore salivaire +++**
- **Conditions de prélèvement:**
 - **Rinçage de cavité buccale,**
 - **recueil matinal au cours d'un effort de toux (kiné++)**
- **Interprétation valide si:**
 - **PNN > 25/champ (microscope objectif X10)**
 - **Cellules épithéliales < 10/champ (objectif X10)**
 - **Flore dominante à l'examen direct +++**
 - **Culture: Flore monomorphe > 10 000 000 UFC/ml**

Différentes classes de crachats

Classe	Cellules épithéliale/champ	Leucocytes/champ	
1	> 10	< 10	Contamination salivaire
2	> 10	10 - 25	Contamination salivaire
3	> 25	> 25	Contamination + Réaction inflam
4	10 - 25	> 25	acceptable
5	< 10	> 25	adapté

Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

Cas particulier de la mucoviscidose:

- Germes fréquents:
 - *S. aureus*,
 - *H. influenzae*
 - *P. aeruginosa* (spécifique)
 - autres bactéries non fermentants, (*Burkholderia cepacia*++++)
 - Entérobactéries
- Seuil:
 - 100 UFC /ml pour *P. aeruginosa*, *B. cepacia*
 - 100 000 UFC /ml pour les autres bactéries

Aspiration endotrachéale (ou bronchique)

- **Risque de contamination par flore salivaire**
+++
- **Interprétation valide si:**
 - PNN nombreux
 - Cellules épithéliales < 10/champ
 - Flore dominante à examen direct
 - Culture: Flore monomorphe > 100 000 UFC/ml

Prélèvement bronchique protégé : Brosse...

- **Interprétation valide si:** Culture: > 1000 UFC/ml

Lavage broncho-alvéolaire (LBA)

Interprétation valide si:

- Flore dominante à examen direct
- Culture: > 10 000 UFC/ml
- *Legionella, Mycobacterium, Nocardia, Actinomyces:*
Critères quantitatifs non nécessaires : *pas de porteurs sains*

Autres prélèvements

- **Hémocultures** : Si gravité
- Recherche **d'Ag urinaires**:
Legionella +++, Pneumocoque (patients en Réa)
- **Sérologie**: bactéries intracellulaires

Diagnostic des PAC

PAC sans signes de gravité

- **Examen microbiologique inutile:**
- **TTT antibiotique de 1ère intention probabiliste**
Conférence de consensus (mars 2006)

Diagnostic des PAC

Signes de gravité ou Pneumopathies nosocomiales (Réa)

- **Diagnostic bactériologique indispensable: prélèvement distal protégé ++ (si impossible, asp bronchique)**
- **Hémocultures,**
- **Détection Ag urinaires *Legionella* et Pneumocoque**
- **LBA chez immunodéprimé++ (recherche de mycobactéries, *Nocardia*, ...)**

Cas clinique N°1

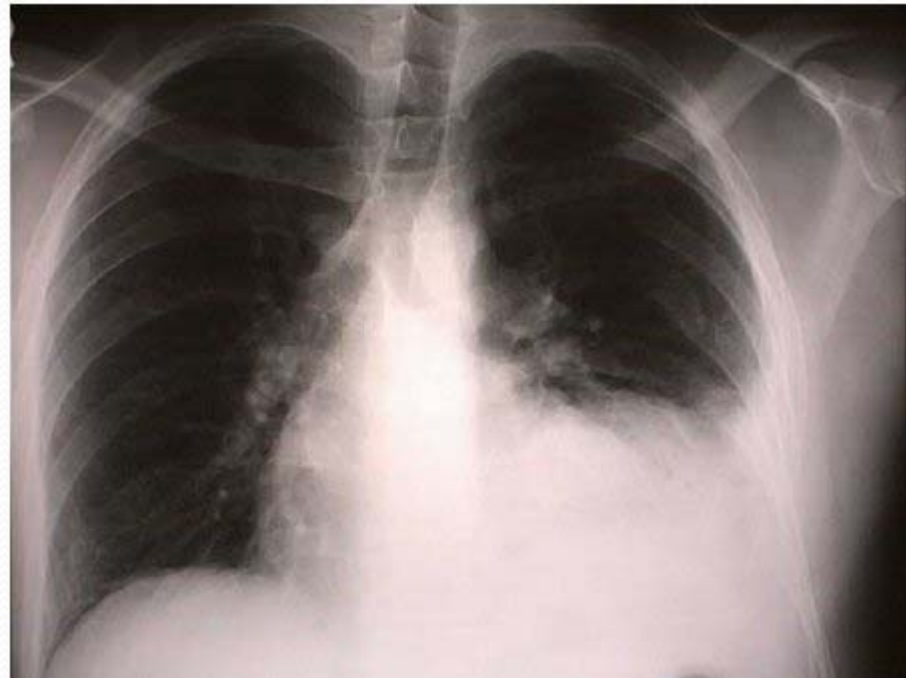
- Madame Z, 42 ans, vous consulte pour l'apparition brutale depuis 24 h:
- Doleur thoracique,
- Fièvre,
- Sueurs,
- Malaise général,
- Vomissements,
- Toux productive (expectoration verdâtre).

L'examen clinique

- Température: 39°C
- TA: 120/80 mmHG
- Pouls 120 /mn
- FR: 25/mn
- Foyer de crépitants : base pulmonaire gauche

Radio thoracique

- Opacité alvéolaire
- Systématisée
- Limites nettes



QUESTION 1

Quel est votre diagnostic ?

REPONSE -QUESTION 1

Pneumonie franche lobaire aigue: PFLA

QUESTION 1

Quel est le pathogène le plus fréquemment responsable ?

REPONSE -QUESTION 1

***S. pneumoniae*+++**

QUESTION 3

Quels sont les 2 **examens complémentaires non invasifs** qui peuvent permettre de mettre en évidence ce germe lorsqu'une documentation microbiologique est nécessaire?

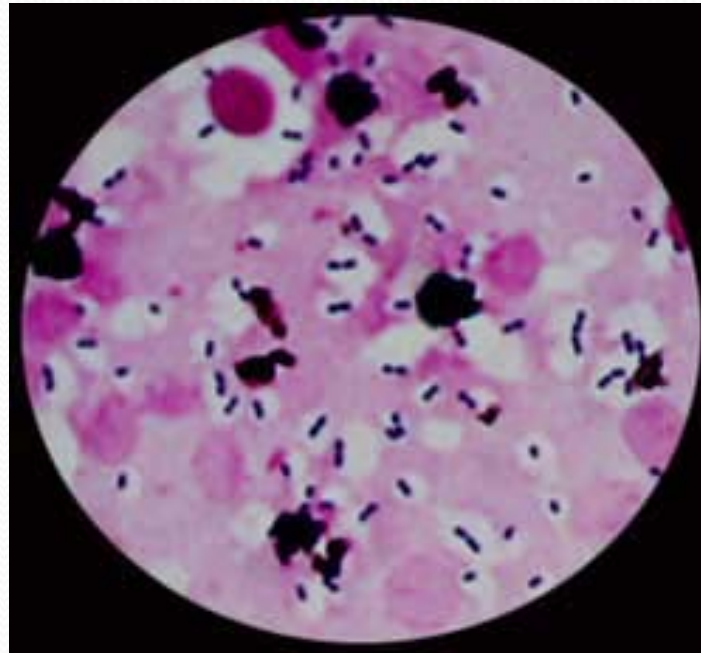
REPONSE -QUESTION 3

Hémocultures

ECBC

S. pneumoniae

- **Diplocoques à Gram + encapsulés**
- **Pathogène extracellulaire**



S. pneumoniae

Culture

- Rapide en 24 heures sur milieux enrichis au sang :

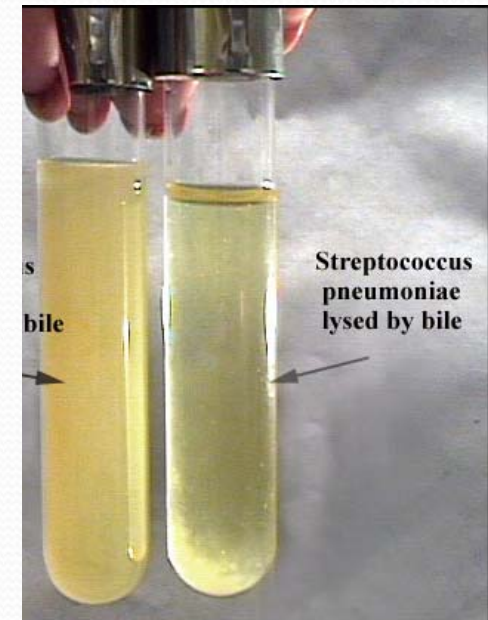
- Petites colonies,
- hémolyse α
(verdâtre: incomplète)
- Ombiliquées (autolyse
du germe)



S. pneumoniae

Identification de l'espèce :

- sensibilité à l'optochine
- lyse du pneumocoque par la bile



S. pneumoniae

Détection des Ag urinaires

- Test Binax Now *S. pneumoniae*®
- Immunochromatographie sur membrane
- Très bonne valeur prédictive positive (90 %) :
pneumonies aiguës pneumopathies graves
- faible intérêt chez les enfants,
- difficulté d'interprétation des résultats en cas de
pneumopathies récurrentes.
- Coût élevé

QUESTION 4

En l'absence de critère formel d'hospitalisation, son Médecin traitant décide de maintenir la patiente à son domicile, sans exploration complémentaire dans un 1^{er} temps .

Il lui a prescrit L'amoxicilline per os à raison de 3g /jour

Que pensez vous de cette prescription ?

REPONSE -QUESTION 4

- **Correcte pas de facteur de risque de pneumocoque de sensibilité diminuée à pénicilline +++**

S. pneumoniae

- **Détection PSDP: diamètre oxacilline <26**
- **CMI :**

	S;	R
- Pénicilline	≤ 0.06;	> 2 mg/l
- Amoxicilline	<0.5;	> 2 mg/l
- Cefotaxime	≤ 0.5;	> 2 mg/l
- **Résistance aux macrolides +++**

QUESTION 5

La patiente revient 2 jours plus tard car elle reste fébrile, et se sent de moins en moins bien.

- L'examen clinique : malade obnubilée
- Rx thoracique : Opacités alvéolo- inrstitielles disséminées
- Hyponatrémie et insuffisance rénale

- Quel pathogène suspectez vous ?
- Quel test allez vous demander en première intention?

REPONSE -QUESTION 5

Legionella pneumophila

Antigénurie (L. p de type 1)

Legionella

- **Diagnostic direct +++**
- **Prélèvements :**
 - LBA ou aspirations trachéales et bronchiques +++
 - Conservation possible 3 j à +4°C sinon -20°C
- **Préciser sur la demande: recherche de *Legionella***

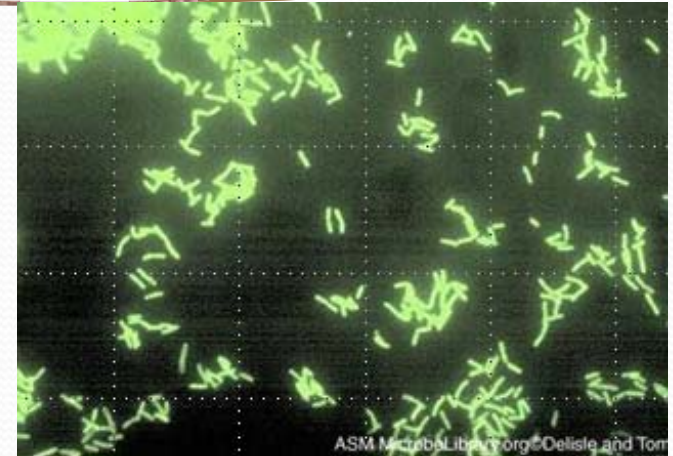
Legionella

- **IFD** (sens: 25-40%, spécifique: 60-70%)

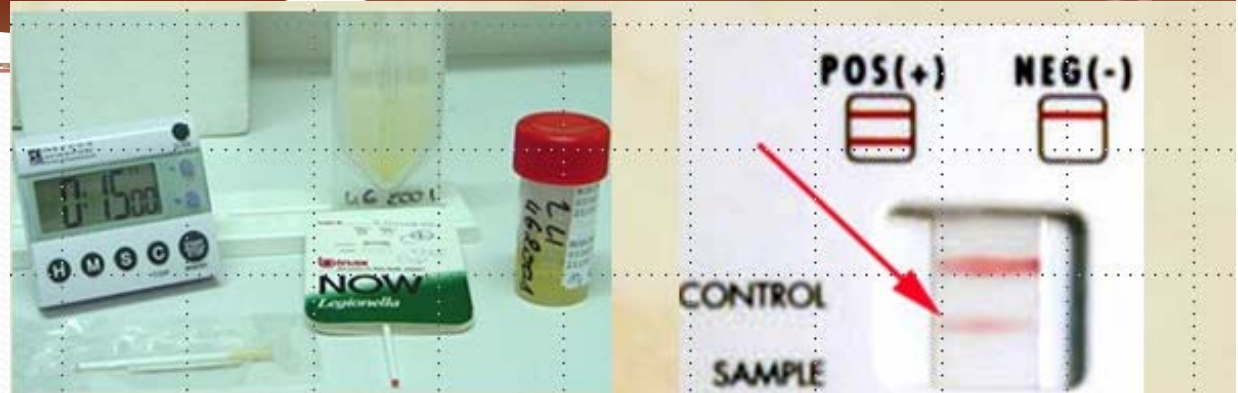
- **Culture**

- méthode de **choix**: certitude
- Délicate et peu sensible (60%), mais très spécifique
- milieux spécifiques
(BCYE: Buffere Charcoal Yeast Extract
→ colonies en « verre fritté » en 3 à 7 j)
- Permet recueil et comparaison des souches:

Enquête épidémiologique +++



Legionella



- **Recherche d'Ag soluble urinaire (antigénurie)+++**
 - *Facile*: 10 ml urines dans pot stérile
 - Très spécifique, sensible (55-80%),
 - Uniquement *L pneumophila sérogroupe 1*
 - ELISA, RIA (4H)
 - Immunochromatographie: rapide (15mn)
 - *Positive dès début de maladie (3-4^{ème} j)*
 - Durée d'excrétion variable : 2 mois en moyenne

Ne pas utiliser en suivi TTT

Legionella

- **PCR en temps réel**
 - Pas encore en routine, mais intérêt +++
 - Rapide, très spécifique (> 99%), sensible (80%)
 - LBA, aspiration trachéale....
 - Possible dans 24h suivant mise en route de l'ATBthérapie
 - Détection des différentes espèces du genre *Legionella*

Legionella

- **Sérologie**

- **Diagnostic tardif rétrospectif +++:**

- 10% cas seulement: sérum initial positif

- délai d'apparition des Ac long (1 semaine)

- 2ème sérum à 4 sem++

- **IFI: Détection des Ac totaux (IgM non fiables)**

- **Diagnostic des sérogroupes autres que Lp1:**

- utile pour enquête épidémiologique

- **Réactions croisées possibles**

Legionella

En pratique : CAT diagnostique

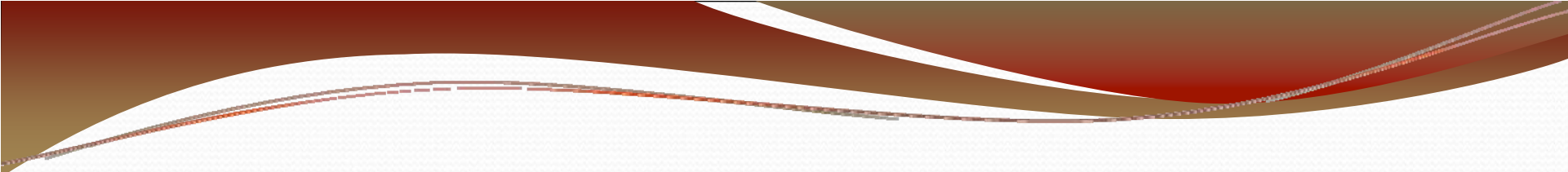
- **Antigénurie en 1ère intention :**
 - Contexte épidémique
 - Pneumopathie+ échec β lactamines (\rightarrow hospitalisation++)
- **Si + \rightarrow Diagnostic +**
- **Si - \rightarrow PCR dans 24h suivantes**
- **Si PCR + ou présence d'inhibiteur \rightarrow mise en culture**
- **Sérologie réservée aux études épidémiologiques**

Legionella

Définition d'un cas de pneumonie à *Legionella*

- **En + des signes cliniques et/ou radiologiques:**
- **Cas confirmé:**
 - **Soit culture positive**
 - **Soit antigénurie positive**
 - **Soit X4 du taux d'anticorps**
- **Cas probable:**
 - titre unique élevé d'anticorps ≥ 256**

Cas clinique N°2



Un jeune homme de 19 ans, sans ATCD particuliers, développe en quelques jours:

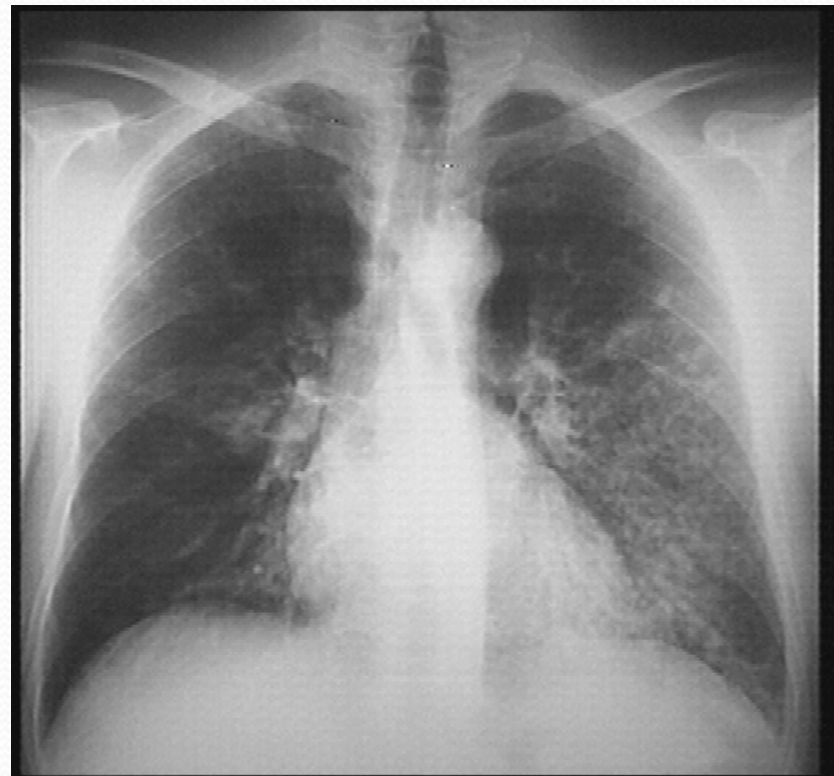
- Une fièvre
- Un malaise général
- Des céphalées
- Une toux productive

L'examen clinique

- Température: 39°C
- Râles bronchiques + quelques crépitants au niveau des bases pulmonaires

Examens complémentaires

- **Radio pulmonaire:** Syndrome interstitiel bilatéral des bases
- NFS: Nle



QUESTION 1

Quel est votre diagnostic ?

REPONSE -QUESTION 1

- Pneumopathie communautaire interstitielle
- Bactéries pouvant être en cause:
 - *M. pneumoniae*
 - *C. pneumoniae*,
 - *C. psittaci*
 - *C. burnetti*
 - *L. pneumophila*

QUESTION 2

Le germe retenu, après bilan biologique, a été *Mycoplasma pneumoniae*.

Quel est le moyen le plus utilisé qui a permis de poser ce diagnostic?

REPONSE -QUESTION 2

- **La sérologie :**
rechercher une séroconversion ou
la présence d'IgM

M. pneumoniae et *C. pneumoniae*

- **10-30% des pneumonies aiguës communautaires**
- **Diagnostic microbiologique:
difficile et interprétation délicate +++**
- **Diagnostic direct:**
 - Culture: non réalisée en routine
 - PCR sur prélèvement nasopharyngé (à la phase aiguë ++):
test le + spécifique et le + sensible
- **Diagnostic indirect (Sérologie) : le plus utilisé,
mais en pratique courante jamais obtention des 2 sérums !!**

M. pneumoniae

- **Sérologie : *Interprétation aisée***
 - IgM: intérêt ++ chez enfant,
 - ↑7-10j post-infection
 - réponse IgM faible ou absente chez adulte
→ nécessité 2ème sérum (2-3 sem après) +++
- **Pas de persistance des Ac,**
- **Peu de réactions croisées**

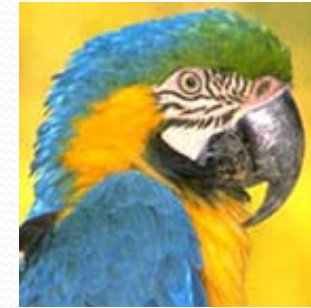
C. pneumoniae

Sérologie : *Interprétation difficile!*

- **Réponse Ac**
 - Cinétique très longue: pic IgM J30, pic IgG J60
→ 2^{ème} sérum tardif +++ (2 mois après)
 - Persistance très longue des Ac
 - Cinétiques IgG/IgA identiques
→ pas d'intérêt du dosage des IgA ++
- **Séroprévalence élevée +++ : ↑ avec âge**
- **Réactions croisées** entre espèces de Chlamydia.

C. psittaci

- *Ornithose-psittacose*
- **Notion de contact avec des oiseaux (perroquets, perruches, pigeons,...)**



C. psittaci

- **Sérologie ++++:**
 - **Diagnostic de certitude:**
 - séroconversion
 - ou ↑ significative (X4 taux anticorps)
 - ou présence d'IgM
 - **Diagnostic de probabilité: taux élevé isolé des IgG**
- **PCR**

Un résultat positif de PCR + taux significatif d'IgG ou présence d'IgM → **diagnostic de certitude précoce**

Chlamydomophila et Mycoplasma

- **En pratique de ville (formes cliniques modérées):**
pas d'indication d'investigations à visée étiologique, dans l'état actuel des techniques de diagnostic
- **Dans l'avenir:**
intérêt de la PCR dans formes sévères d'infection
(rapidité du résultat, mais pb de coût ++)

Coxiella

- **Agent de la fièvre Q**
- **Diagnostic sérologique (IFI) +++**
 - Apparition des Ac environ 2-3 sem après infection
 - Variation de phase antigénique chez *Coxiella*
 - Utilisation Ag en phase I et II → distinction entre infection aiguë ou chronique
- **Forme aiguë ou infection récente:**
 - ↑ **Ac anti-Phase II avec présence d'IgM**

Bordetella pertussis et parapertussis

- **Résurgence de la Coqueluche malgré vaccination (adolescent et adulte → au nouveau-né)**
- **Coccobacilles à Gram(-)**
- **Culture sur milieu de Bordet et Gengou (3-7j) +++**
- **Aspirations nasopharyngées (sonde molle et fine sinon écouvillone en alginate chez l'adolescent et l'adulte)**
- **IFD** : rapide peu fiable
- **PCR**: sensible et spécifique mais délicate (complément à la culture)
- **Sérologie**: diagnostic rétrospectif (2 serums: au début de toux et après 4 sem)