



Gilbert Greub¹

Diagnostic étiologique des bactériémies

Les bactériémies sont associées à une mortalité et morbidité significative. Dans ce contexte, le diagnostic microbiologique est très important pour rapidement ajuster le traitement antibiotique. Cependant, avec l'avènement d'un nombre croissant de bacilles Gram négatifs multi-résistants, il est aujourd'hui essentiel que les laboratoires de microbiologie puissent offrir aux cliniciens une information rapide et robuste non seulement en termes de détection des micro-organismes circulant dans la circulation sanguine et en termes d'identification de ces pathogènes, mais également en termes de détermination de leur spectre de sensibilité aux agents antimicrobiens.

De manière générale, il est important de différencier les bactériémies liées à une infection endovasculaire (endocardite, infection d'une prothèse artérielle et/ou d'un anévrisme) des infections bactériémiques sans foyer ou avec un foyer extravasculaire. En effet, le nombre de bouteilles d'hémocultures positives sera souvent plus bas dans la deuxième situation.

La sensibilité des hémocultures

Elle est directement proportionnelle au volume de sang prélevé et testé en culture. Ainsi comme l'a montré Li et collaborateurs [1], une sensibilité de plus de 90% est atteinte à partir de 40 ml de sang [1]. Etant donné qu'une

néralement considéré comme un contaminant alors que lorsque 4 à 6 bouteilles sont positives sur 6, la présence de *S. epidermidis* dans les hémocultures est le plus souvent cliniquement significative [2].

Il faut du temps

Dans les laboratoires de microbiologie diagnostique modernes, la détection de la croissance de bactéries et/ou levures est généralement effectuée de manière automatique et survient souvent après 6 à 72 heures d'incubation des bouteilles d'hémocultures. Ce délai de positivité reflète généralement la quantité de bactéries présentes initialement dans les bouteilles. Ainsi, un germe commensal de la peau contaminant les hémocultures lors du prélèvement (*Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*...) sera présent en faible quantité et poussera généralement en plus de 24 heures. Ainsi, lors de la détection de croissance, il est important de pouvoir rapidement donner aux cliniciens une identification présomptive du germe. Initialement et avant l'avènement du MALDI-TOF ce diagnostic présomptif était effectué sur le Gram natif du bouillon. Le clinicien obtenait alors une information préliminaire du genre «Cocci Gram positif arrangé en chaînette» ou «Cocci Gram positif arrangé en amas». Avec la première réponse, le clinicien suspectait un streptocoque ou un entérocoque alors que le deuxième type de réponse était suggestif d'un staphylocoque.

L'identification rapide

A Lausanne, afin d'améliorer la sensibilité de l'examen de Gram effectué sur le bouillon d'hémocultures natifs et de pouvoir effectuer d'autres ana-

lyses complémentaires, nous avons développé une procédure permettant la lyse des globules rouges et l'obtention d'un culot bactérien relativement pur [3]. La disponibilité de ce culot bactérien pour les Gram nous a permis d'envisager différentes applications en aval incluant l'identification rapide par MALDI-TOF [4], la détection de céphalosporinases à spectre élargi (ESBL) [5], ainsi que tester rapidement la sensibilité aux antibiotiques du culot bactérien obtenu [6].

Cependant, nous poursuivons, en parallèle de l'examen de Gram effectué sur le culot d'hémocultures, un examen de Gram effectué sur le bouillon de culture natif, puisque comme mentionné précédemment, l'arrangement des Cocci Gram positifs nous donne une information significative sur l'identification présomptive (streptocoque-entérocoque versus staphylocoque). De plus, certaines bactéries ont un arrangement typique: *Cardiobacterium hominis*, un agent d'endocardite à hémocultures négatives, se présente souvent sous la forme de bacilles Gram négatifs arrangés en rosette alors qu'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se retrouve généralement sous la forme d'amas épais liés à l'agrégation de cette espèce bactérienne [7].

Toujours MALDI-TOF?

Il faut souligner que plusieurs autres laboratoires de microbiologie diagnostique ont développé des approches similaires afin d'obtenir rapidement un culot d'hémocultures permettant d'effectuer une identification précoce par la technique de MALDI-TOF [8]. Cependant, il est essentiel de toujours coupler l'identification par MALDI-

Il faut souligner que plusieurs autres laboratoires de microbiologie diagnostique ont développé des approches similaires ...

bouteille d'hémocultures contient typiquement 8 à 10 ml de sang, 2 paires d'hémocultures (4 bouteilles) sont par conséquent un minimum lors de toute suspicion d'infections bactériémiques. La disponibilité de plusieurs bouteilles d'hémocultures est par ailleurs utile pour prédire la signification clinique lors d'identification de bactéries commensales de la peau telles que *Staphylococcus epidermidis*. Ainsi dans ce type de situation, il est souvent utile d'avoir 3 paires d'hémocultures disponibles, puisque lorsqu'une seule bouteille est positive sur 6, le *S. epidermidis* est gé-

¹ Prof. Gilbert Greub, Institut de microbiologie, Département des laboratoires, Bugnon 48, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV)

TOF à l'examen direct de Gram en raison de possibles inversions ou erreurs et vu la fréquence non négligeable de bactériémies mixtes, souvent non détectées par MALDI-TOF [9]. Ainsi dans notre expérience, lors de bactériémies dans le contexte d'infections poly-microbiennes d'origine digestive (péritonite, abcès intra-abdominal), l'entérocoque est souvent non détecté par l'identification par MALDI-TOF, qui donne souvent seulement l'identification du bacille Gram négatif concomitant.

Rappelons ici que les bacilles Gram négatifs sont les bactéries les plus souvent retrouvées lors de bactériémies et que la résistance intrinsèque aux cephalosporins d'un certain nombre d'espèces (*Serratia marcesens*, *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*...) en raison de la présence d'un *ampC* chromosomique permet de partiellement choisir le traitement en fonction du germe identifié. Ainsi, dans une étude prospective randomisée, nous avons pu démontrer un im-

impact du MALDI-TOF sur le choix thérapeutique dans 35% des cas, lorsque l'identification par MALDI-TOF est effectuée sur les culots d'hémocultures lors de bactériémies à Gram négatif [10]. Pour le staphylocoque doré, qui représente le 2^e agent en fréquence isolé d'hémocultures, l'utilisation du MALDI-TOF a également eu un impact majeur puisqu'il permet rapidement de documenter la bactériémie à staphylocoque doré. Cependant, le MALDI-TOF ne permet pas de distinguer les MSSA des MRSA. Pour ce faire, la détection du gène *mecA* par PCR permet de guider l'antibiothérapie empirique et de réduire l'utilisation des glycopeptides (toxicité rénale importante) grâce à la documentation précoce de la sensibilité à la méthicilline du staphylocoque doré isolé des hémocultures [11].

Encore plus rapide avec des outils plus modernes

Par analogie, il est possible d'effectuer à partir des culots d'hémocultures

Ätiologische Diagnostik bei Bakteriämien

Bakteriämien sind mit einer signifikanten Mortalität und Morbidität assoziiert. Die mikrobiologische Diagnostik ist sehr wichtig, um die Antibiotikabehandlung rasch anpassen zu können. Im Allgemeinen müssen Bakteriämien im Zusammenhang mit endovaskulären Infektionen (Endokarditis, Infektion einer Gefäßprothese und/oder eines Aneurysmas) von bakteriämischen Infektionen mit oder ohne extravaskulären Infektionsherd unterschieden werden. Durch zahlreiche Innovationen ist es gelungen, die frühzeitige Feststellung der für eine Bakteriämie verantwortlichen Bakterien zu verbessern sowie ihre Sensibilität gegen Antibiotika zu ermitteln. Es bleibt zu hoffen, dass in naher Zukunft auch die Sensibilität gegen Antibiotika frühzeitig festgestellt werden kann, was signifikante Auswirkungen auf die Versorgung der Patienten mit Bakteriämien, Septitiden und/oder endovaskulären Infektionen haben dürfte.

d'autres PCRs spécifiques permettant de détecter rapidement divers gènes de résistance dont ceux codant pour des ESBLs et/ou des carbapénémases, par exemple [12]. De plus, la détection précoce de l'agent étiologique directement à partir du sang, sans étape de culture par diverses approches de biologie mo-



Fehler
minimieren
und Qualität
steigern!

Die neue ACL TOP 50er Familie

Ein Durchbruch in der Gerinnungsanalytik

Die Standardisierung aller ACL TOP Systeme sorgt für überzeugende Leistungen im gesamten Testprozess.

- Die gleichen Qualitätsergebnisse
- Das gleiche umfassende Reagenzportfolio
- Die gleiche leistungsstarke und intuitive Software
- Die gleiche Funktion und Handhabung

Und jetzt auch:

- Die gleiche testspezifische präanalytische Probenüberprüfung
- Die gleiche erweiterte Unterstützung für die Laborakkreditierung
- Das gleiche erweiterte Qualitätsmanagement



léculeaire, est en voie de développement [12]. De plus, nous espérons qu'avec l'utilisation de la microscopie à force atomique et l'application de senseurs nano-mécaniques, il sera possible de déterminer très rapidement la sensibilité aux antibiotiques des agents pathogènes isolés des hémocultures. Récemment, nous avons pu documenter que ces outils modernes peuvent être appliqués au culot d'hémoculture avec une excellente fiabilité, permettant la détection de la résistance aux antibiotiques d'*Escherichia coli* en moins de 20 minutes [13].

Conclusion

En conclusion, de nombreuses innovations ont permis d'améliorer l'iden-

tification précoce des agents de bactériémie ainsi que leur probable sensibilité aux antibiotiques. Dans un futur proche, grâce aux efforts dans le domaine R&D, nous pouvons espérer que la sensibilité aux antibiotiques puisse être également déterminée précocement, avec un impact significatif sur la prise en charge des patients souffrant de bactériémies, de sepsis et/ou d'infections endovasculaires.

Correspondance:
Gilbert.Greub@chuv.ch

Références

Vous trouverez la liste des références sur le site: www.sulm.ch/fr/pipette → Numéro actuel (n° 3-2017).

Vincent Aubert¹

Autoimmunité et Inflammation

La réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme à une agression de cause exogène (infectieuse) ou de cause endogène (immunologique). Des biomarqueurs sériques sont utilisés en pratique médicale pour l'aide diagnostique lors de syndromes inflammatoires. Cette revue souligne le rôle des cytokines pro-inflammatoire dans le cadre d'un exemple de maladie auto-immune comme l'arthrite rhumatoïde et illustre les conséquences des traitements biologiques sur certains marqueurs de l'auto-immunité.

La réaction inflammatoire

L'inflammation se manifeste par un ensemble de réactions cellulaires et moléculaires qui a pour but de défendre l'organisme. Elle s'exprime au niveau clinique par la triade bien connue de «calor, dolor et rubor». Après la phase d'initiation qui a permis, par chimiotactisme, l'infiltration des macrophages, polynucléaires neutrophiles et lymphocytes sur le site de l'inflammation, les macrophages activés vont produire une gamme variée de cytokines comme l'interleukine 1 (IL-1B) et le TNF. Ces médiateurs contribuent à la mise en place d'une réponse élargie de l'inflammation en provoquant la libération d'une seconde vague de cytokines et de molécules cyto-stimulantes

(prostaglandines, les leucotriènes, le facteur d'activation plaquettaire, etc.). Sous l'influence de l'IL-1 et de l'IL-6, les cellules parenchymateuses hépatiques vont synthétiser les protéines dites de la phase aiguë (Figure 1).

La réaction inflammatoire conduit très rarement en elle-même à un diagnostic étiologique, mais constitue un examen de dépistage des maladies dites inflammatoires. Dans ce contexte, l'augmentation de la vitesse de sédimentation (VS) est toujours un marqueur utile.

Parmi les protéines de la phase aiguë, celles répondant aux 5 critères auxquels un bon marqueur de l'inflammation doit répondre (Tableau 1) seront privilégiées. Ainsi, le dosage de la Protéine C Réactive (CRP) à la cinétique rapide est très utile dans le dépistage. Il est intéressant de noter que dans le Lupus Erythémateux Disséminé (LED), l'élévation de la CRP est

plus modérée, comparée à celle observée dans les pathologies infectieuses bactériennes.

Les médiateurs de l'inflammation

Les médiateurs de l'inflammation participent de manière hautement significative à l'explosion des symptômes cliniques, vasculaires et cellulaires qui constituent l'ensemble de la réaction inflammatoire. L'exacerbation de la réponse inflammatoire est associée à un excès de production des cytokines de l'inflammation. La présence d'IL-1β de même que de TNFα a été démontrée dans le liquide synovial prélevé chez des patients atteints de différents types d'arthrites. Le développement de la fibrose et de l'inflammation pulmonaire a également recours à la participation de l'IL-1β et du TNFα. D'autres états inflammatoires dont par exemple les patients souffrant de maladies inflam-

¹ Dr Vincent Aubert, PhD, FAMH, Chef du laboratoire de diagnostic du Service d'Immunologie et Allergie, CHUV, 1011 Lausanne