

13 • Plaies, écoulement purulent, tissus

Plan du chapitre

1. Contexte
2. Objectifs
3. Prélèvement et transport
4. Méthodes bactériologiques
 - 1- Examen direct
 - 2- Cultures
 - 3- Résultats et interprétation

1 • Contexte

Les prélèvements parmi les plus examinés en bactériologie sont les produits de suppurations d'origines diverses. On distingue habituellement :

- les suppurations primitives : anthrax, furoncle
- les suppurations d'origine hématogène (ostéomyélite, abcès hépatiques)
- les suppurations secondaires dues à manœuvres chirurgicales (surinfections à bactéries opportunistes), à des traumatismes, à des facteurs locaux favorisant (escarres, mal perforant, ulcère variqueux)

2 • Objectifs

Les prélèvements adressés au bactériologiste sont d'origines diverses du fait de l'histoire clinique du malade : prélèvements tissulaires biopsiques, pièces opératoires, fistules, liquides d'écoulement spontané.

1- Plaies traumatiques aiguës

- ◆ Elles sont habituellement surinfectées par les bactéries pyogènes.
- ◆ Morsures d'animaux : on recherchera les bactéries des morsures *Pasteurella* et apparentés, les anaérobies strictes, *Streptobacillus moniliformis* (rongeurs).
- ◆ Morsures humaines : *Eikenella corrodens*, anaérobies.
- ◆ Plaies traumatiques contaminées par la terre, rechercher les *Clostridium*; contaminées par les eaux douces : *Aeromonas* spp, *Pseudomonas* spp; par les eaux de mer : *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio vulnificus*.
- ◆ Plaies traumatiques gangréneuses : *Clostridium* spp., (*Aeromonas*)
- ◆ Brûlures : *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pyogenes* (*Aeromonas* si aspersion de brûlures par des eaux contaminées).

2- Plaies chirurgicales

Elles sont initialement stériles puis peuvent être secondairement contaminées par la flore du site ou du service hospitalier. Ce sont le plus souvent des surinfections d'origine hospitalière (staphylocoques, Entérobactéries et bacilles à Gram négatif divers, *Enterococcus* spp.).

3- Plaies cutanées chroniques

Ces plaies et escarres survenant sur un terrain débilisé chez les alités, vont être contaminées et envahies par une flore polymorphe d'origine cutanée voire digestive (corynébactéries, entérobactéries diverses dont *Proteus*, *Pseudomonas* spp., *P. aeruginosa*).

4- Suppurations des voies biliaires

La bile est normalement stérile. Dans une infection primitive (cholécystite) et dans les surinfections post chirurgicales, on pourra isoler : *E. coli*, *Hafnia alvei*, *Salmonella* spp., *Enterococcus* spp., éventuellement des anaérobies.

5- Suppurations nosocomiales

Les bactéries possibles sont très diverses :

- *Staphylococcus aureus* méti R
- *Pseudomonas aeruginosa* et autres *Pseudomonas* spp.
- *Escherichia coli*, *Klebsiella*
- *Enterobacter*, *Serratia* et autres *Enterobacteriaceae*
- *Acinetobacter*
- *Alcaligenes faecalis* et *Alcaligenes* spp.
- *Stenotrophomonas maltophilia*
- *Chryseobacterium meningosepticum*
- *Corynebacterium jeikeium* et autres *Corynebacterium* spp

6- Ostéites (post- chirurgicales)

- *Staphylococcus aureus* multirésistants
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Streptococcus* spp.
- *Enterobacteriaceae* multirésistantes
- Flore plurimicrobienne aérobie et anaérobie

7- Ostéite ou ostéoarthrite brucelliennes

- *Brucella*

3• Prélèvements et transport

Biopsies, peau, plaies, inflammation cutanée, fractures, abcès			
Produit	Mode de prélèvement	Transport	Commentaire
Biopsies diverses	<ul style="list-style-type: none"> Placer la biopsie au fond d'un tube stérile Ajouter 3 ou 4 gouttes d'eau physiologique stérile pour les petits échantillons Si recherche de germes anaérobies stricts, adresser une 2^e biopsie dans un milieu de transport anaérobie 	< 2 H 20°C	Ne jamais utiliser d'écouvillon Les techniques d'amplification génique <i>in vitro</i> (maladie des griffes du chat, borréliose de Lyme) exigent des conditions spécifiques.
Frottis de peau	Écouvillon de coton préhumidifié avec de l'eau physiologique stérile	< 2 H 20°C	Intérêt purement épidémiologique.
Plaie superficielle, brûlure, abcès ouvert, ulcère, escarre, lésions cutanées nécrotiques	<ul style="list-style-type: none"> Nettoyer la plaie, éliminer les exsudats, débri-der les tissus nécrosés si nécessaire Appliquer de la Bétadine® et laisser sécher Rincer à l'eau physiologique stérile Biopsier la lésion ou cureter le bord actif de la lésion (voir biopsies) Eventuellement aspirer à l'aiguille fine le liquide inflammatoire produit par la lésion (très peu de matériel est suffisant). Si nécessaire, aspirer ensuite 1 ml d'eau physiologique stérile pour éviter que le prélèvement ne se dessèche dans la seringue Écouvillonnage peu fiable, à la rigueur frottis fermement appuyé 		Culture anaérobie inutile. Un prélèvement de plaie réalisé selon les modalités ci-contre n'est indiqué que s'il y a des signes d'accompagnement locaux (douleur, inflammation péri-ulcéreuse) ou généraux (adénite, fièvre)
Prélèvements réalisés au cours d'opération sur matériel implanté ou sur lésion osseuse	Effectuer plusieurs prélèvements (écouvillonnages ou biopsies) en des sites anatomiques différents (régions osseuses diverses, matériel implanté, ciment...) et bien les identifier sur la demande d'examen.	< 2 H 20°C	Les lésions osseuses et les bio-matériaux peuvent être contaminés par des germes provenant de l'environnement ou de la peau. Comme pour les hémocultures, la mise en évidence d'une infection par un germe habituellement considéré comme peu pathogène (<i>Bacillus</i> , staphylocoque à coagulase négative) nécessite d'avoir isolé plusieurs fois la bactérie
Fracture ouverte	Fragment osseux en tube stérile, écouvillon coton	< 2 H 20°C	Sur fracture ouverte, les prélèvements d'admission sont inutiles. Ceux réalisés après parage chirurgical sont souvent peu utiles car les bactéries mises en évidence lors d'infection post-opératoire sont habituellement différentes des bactéries isolées initialement
Inflammation cutanée, érysipèle, hypodermite	<ul style="list-style-type: none"> Nettoyer le site avec de l'alcool à 70° A l'aide d'une seringue et d'une aiguille fine : injecter dans la lésion un peu d'eau physiologique stérile et réaspirer tout ce qui est possible d'obtenir Aspirer ensuite 1 ml d'eau physiologique stérile dans la seringue pour éviter tout dessèchement du prélèvement Boucher stérilement 	< 30 min 20°C	Examen peu sensible : seules 30 % des lésions peuvent être documentées de cette manière

Produit	Mode de prélèvement	Transport	Commentaire
Fistule	<ul style="list-style-type: none"> • Désinfecter la partie cutanée ou la partie superficielle par de l'alcool à 70°. Laisser sécher. • Aspirer à l'aiguille la partie la plus profonde de la lésion et aspirer ensuite si nécessaire 1 ml d'eau physiologique stérile pour éviter que le prélèvement ne se dessèche dans la seringue. • Réaliser également un prélèvement biop-sique de la paroi du trajet fistuleux. 	Conditions anaérobies	Il n'existe pas de corrélation nette entre les germes trouvés dans une fistule et les germes trouvés en profondeur, sauf peut-être pour <i>S. aureus</i> . Plutôt que des prélèvements sur fistule, réaliser de préférence des prélèvements peropé-atoires ou par ponction dans le foyer infectieux à partir de la peau saine.
Morsures	<ul style="list-style-type: none"> • Aspirer le pus de la blessure dans une seringue; aspirer ensuite 1 ml d'eau physiologique stérile. • A défaut : 2 écouvillonnages profonds : 1 pour bactéries anaérobies (écouvillon d'al-ginate de Ca) et 1 pour bactéries aérobies (écouvillon en coton). 	Conditions anaérobies	La recherche de bactéries entreprise sur une morsure de moins de 12 H est sou-vent improductive.

4 • Méthodes bactériologiques

1- Examen direct

Une coloration de Gram est indispensable. Il faut indiquer le nombre relatif de leucocytes et la présence de cellules épithéliales (indiquant une contamination de surface), ainsi que l'abondance relative des différents types de bactéries.

Pour les fragments de tissus, faire une coloration de Gram de l'apposition du prélèvement sur une lame stérilisée, préalablement à l'ensemencement.

2- Cultures

Au minimum pour les prélèvements superficiels, on ensemence une gélose au sang, un milieu sélectif pour les bacilles à Gram négatif.

Si l'échantillon est sous forme d'écouvillon, on le décharge dans 0,5 ml de bouillon et on isole.

On pratique également une culture en bouillon nutritif pour les bactéries aérobies présentes en nombre faible et un bouillon anaérobie (à partir du liquide de la seringue ou de l'écouvillon d'alginate).

Pour les morsures, il est nécessaire d'incuber une gélose au sang sous CO₂ (10%) durant 4 à 5 jours et une gélose au sang en anaérobiose.

Pour les organes, tissus et biopsies : découper avec des ciseaux stériles, broyer éventuellement dans un mortier stérile (précaution d'asepsie rigoureuse, hotte à flux laminaire, ces prélèvements précieux ne seront pas renouvelés).

Des milieux spécialisés sont utiles pour l'isolement de : *F. tularensis* (gélose au sang de lapin), *L. mono-cytogenes* (bouillon à +4°C et gélose au sang à l'aci-dalidixique), *Brucella* (CO₂), Mycobactéries.

3- Résultats et interprétation

On fera le parallèle entre les cultures aérobie et anaé-robie. La durée d'incubation moyenne des bouillons est de deux jours (sauf *Brucella*, les bactéries dites «fastidieuses» de croissance difficile ou capnophiles comme dans les morsures).

Il faut limiter l'identification aux bactéries suscep-tibles de présenter un intérêt clinique. En effet, les prélèvements obtenus par écouvillonnage contien-nent des bactéries témoins de colonisation ou de contamination cutanée sans intérêt par rapport à ceux obtenus par aspiration à l'aiguille montée sur une seringue.

Les cultures mixtes (contenant plus de 3 espèces bactériennes) reflètent généralement une contamina-tion, une colonisation ou un transport différé : toute-fois, faire une exception pour les prélèvements de morsure qui sont polymicrobiens. Si les plaies super-ficielles ou les prélèvements de la sphère abdomina-le contiennent plus de 3 bactéries et qu'aucune ne soit prédominante, il faut parler de «culture mixte», conserver les isolements, en attendant la confronta-tion avec la clinique.

Bibliographie

Processing of skin and subcutaneous-tissue speci-mens in : Clinical Microbiology Procedures Hand-book - Vol. 1 - H.D. ISENBERG, A.S.M. Washington DC 1992.

FLANDROIS J.P.; CHOMARAT M. - L'examen bactériologique des suppurations - In : Bactériologie Médi-cale Pratique - Medsi/Mc Graw - Hill, Paris; 1988.

MURRAY P.R. and coll. Manual of Clinical Microbio-logy. 6th ed. ASM Press, Washington DC 1995.

