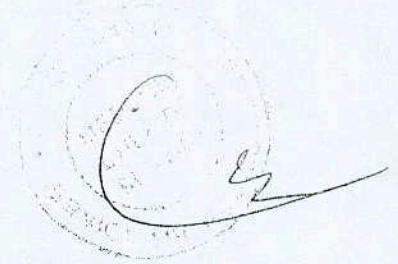




Université de BATNA
Faculté de Médecine
Cours de Microbiologie
Residanat (2004/2005)
Dr. S. Boukhalfa

Batna, le 04/01/2005

Hémoculture



I) Généralités :

- 1- Le sang est normalement stérile
- 2- Un état septicémique se caractérise par un passage répété de microbes dans le sang.
- 3- Toute fièvre d'origine indéterminée, surtout si elle est accompagnée de signes cliniques évocateurs d'infection, doit donner lieu à la pratique d'hémocultures.
- 4- Les évolutions thérapeutiques ainsi que l'amélioration des techniques de Dgc permettent aujourd'hui de détecter de (+) en (+) précocement la présence de bactéries dans le sang, et de diminuer / une meilleure prise en charge, la mortalité et la morbidité liées aux infections bactériennes systémiques.
- 5- L'évolution de l'écologie microbienne hospitalière, dans laquelle s'installe de façon inquiétante des bactéries multirésistantes aux ATB, conduits dans certains cas à des impasses thérapeutiques d'où l'intérêt d'une collaboration entre le clinicien et le microbiologiste.
- 6- Les données épidémiologiques montrent que :
S. aureus et E. coli sont les 02 espèces, les plus souvent isolées en situation de pathogénicité.
- 7- Viennent par la suite les autres entérobactéries, P. aeruginosa, et BNF, streptocoques, entérocoque.
- 8- Devant un état septicémique ;
 - 1 → envisager systématiquement le Dgc.
 - F° > 38,5° C
 - Frissons
 - ± hypothermie
 - 2 → rechercher systématiquement un site infectieux

- porte d'entrée
- localisations secondaires
- **pratiquer des prélèvements bactériologiques avant toute ATB :**
 - hémocultures
 - prélèvements locaux (ECBU-LCR-coproculture-cathéters-ponction pleurale...)
- **apprécier la gravité du tableau clinique.**
- **initier rapidement le TRT ATB en milieu hospitalier**

II) Diagnostic au laboratoire :

Se fait / hémoculture :

Mise en culture d'un échantillon de sang prélevé aseptiquement chez un patient suspect de bactériémie

Indiqué devant tout Ed fébrile d'allure infectieux

A) Prélèvement :

L'hémoculture est réalisée avant toute ATB au moment des :

- frissons
- et /ou pics fébriles

et dans des conditions d'asepsie rigoureuse (antisepsie de la peau)

on ponctionne le sang veineux à raison de :

- 5-10 ml (adulte)
- 1-5 ml (enfant, nourrisson)

2 à 3 hémocultures /24h sont suffisantes

Un espace de temps de 30 à 60 min entre deux prélèvements est nécessaire.

Le sang veineux est ensemencé dans 02 flacons d'hémoculture :

L'un incubé en aérobiose, l'autre en anaérobiose.

- ces flacons d'hémocultures contiennent des :

Bouillons d'enrichissement simple ou enrichis (fc de croissance, vit)

Favorisant la croissance de la plupart des bactéries (exigeantes)

exp : bouillon citraté

milieu biphasique type castaneda

B) Transport du prélèvement :

- étiquetage
- fiche de renseignement complète (++) l'heure du prélèvement et T°)
- transport rapide
- placer dans une écuve à 37°C
- signaler toute suspicion de brucellose, méningo-coccémie, endocardite.

C) Examens au laboratoire :

a) Incubation :

- Etude : (35-37°C) pdt 7j
- Un temps d'incubation plus long : brucella, Legionella, suspicion d'endocardite, malade S/TRT ATB
- Une atmosphère enrichie en CO₂ pour :
Brucella, Neisseria, Haemophilus, streptocoques
- Brucella : castaneda S/CO₂ (21 j voire +) à 37°C
=> séroDgc

b) Surveillance :

b-1) Méthodes conventionnelles :

- Chaque jour ou 02 fois/j
- Orientation présomptive de la bactérie responsable en fonction de l'aspect du flacon d'hémoculture :
 - Turbidité** : BGN aerobis, Staphylocoque, Bacteroides
 - Hémolyse** : Staphylocoque, Streptocoque, Listeria, Clostridium, Bacillus
 - Production de gaz** : BGN aérobis, anaérobis
 - Coagulum** : Staphylocoque aureus
- Sur le milieu biphasique : on observe des colonies ou une croissance en nappe.
- L'agitation des flacons d'hémoculture, leur aération, la pratique d'un examen direct au microscope et les repiquages systématiques améliorent la précocité et la sensibilité de la détection de la croissance bactérienne.

→ Examen microscopique :

- EF (lame et lame le)
 - Gram
- } Orientation Dgc : réponse rapide au clinicien

→ Repiquages des hémocultures :

- Si examen direct ⊕ : repiquage sur : (gants, s/hotte)
- Gélose sang cuit enrichie (polyvitex) S/ CO₂ (24.48 h)
- GSF S/ CO₂ (24 -48 h)
- Gélose Columbia au sang le mouton à 5 % (aérobie, anaérobie)
- BCP (Broncho-césof pourpre).
- Saboraud
- ± Hektoen, chapman
- Les repiquages systématiques sont possible : 1^{er} j, 5^e, 7^èj
- On peut ainsi caractériser sur surnageant de milieu liquide ou sur pente les Ag solubles.
- S. pneumoniae, N. meningitidis, H. influenza/ réaction d'agglutination au latex couplée à une recherche dans d'autres milieux biologiques (LCR – urines – liquides pleurales)
- Un ATB gramme direct à partir de l'hémoculture peut être réalisé (ou à partir de la phase gélosée du milieu biphasique) mais sera confirmé / la suite après isolement

b-2) Méthodes plus sophistiqués :

- Centrifugation lyse (système isolator)
mycobactéries – levures – bactéries exigeantes
- Méthodes de détection automatisés

c) Identification, antibiogramme :

Après culture : la lecture des boîtes se fait en réalisant :

- La morphologie des colonies
- L'ex direct : état frais – Gram
- Oxydase – catalase
- Galerie biochimique et antigénique

→ Antibiogramme + CMI : staphylocoque : vanco - teicoplanine

Streptocoque : pénicilline - Amoxicilline - Ceftriaxone

→ S'il n'y a pas de culture, réincuber les boîtes dans les mêmes conditions encore 24 h.

d) Interprétation :

1- Dgc bactériologique d'infection est certain :

- Bactéries pathogènes spécifiques :

→ S. typhi, S. paratyphi, Brucella.

→ Listeria monocytogenes (terrain réceptif).

→ Streptocoque A, B- S pneumoniae- H. influenza- N. méningitidis (dans le cadre d'une pathologie infectieuse).

- Bactéries pathogènes opportunistes : plusieurs hémocultures sont ⊕ : S. aureus, P. aeruginosa, Acinetobacter, E. coli, K. pneumoniae, S. marcescens, Proteus. spp, Enterobacter, Clostridium perfringens C. albicans, Entérocoque.

=> rechercher une porte d'entrée.

- Bactéries commensales : plusieurs hémocultures sont ⊕

- streptocoque NG

- staphylocoques epidermidis (prothèse valvulaire).

2- Dgc bactériologique est incertain :

→ Contamination vraisemblable :

Bacillus, Micrococcus- Corynebactérium

→ Hémoculture polymicrobienne :

→ Faute d'asepsie

→ Terrain fragilisé

→ Hémocultures négatives :

- Malade S/TRT ATB

- Ed inflammatoire - allergie - néoplasie

- Maladies virales - TBC - Rickettsiose - anaérobies

- Nécessité de milieux spéciaux, incubation particulière

III) Conclusion :

La variété des micro-organismes pouvant être trouvés dans le sang s'est accrue à mesure que la proportion de malades immunodéprimés augmentait.

Les espèces en cause sont nombreuses et ont des exigences nutritives variées.

Le choix des espèces à rechercher et donc le choix du milieu de culture repose donc sur les données probabilistes, donc sur des critères cliniques.