

Prélèvements microbiologiques d'un mal perforant
du pied diabétique
Quand et Comment ?

2^{ème} réunion régionale sur l'infection du pied diabétique

13 décembre 2013

Anne Vachée

Laboratoire de biologie

CH de Roubaix

Liens potentiels d'intérêt : aucun

OBJECTIFS

- Isolement et identification du ou des micro-organismes responsables de l'infection en évitant toute contamination par la flore commensale qui colonise la peau
- Des protocoles conçus conjointement par les cliniciens et les microbiologistes
- Définir :
 - la manière de prélever selon les différentes présentations cliniques,
 - le matériel de prélèvement à utiliser,
 - les conditions de transport,
 - les techniques analytiques
- Connaître l'interprétation des résultats de la culture
- Prise en Charge MULTIDISCIPLINAIRE+++

Quand ?

- “Le diagnostic de l’infection des parties molles est clinique” !
- Les plaies sans signe clinique d’infection ne doivent jamais être prélevées

Conférence du Consensus International sur le pied diabétique
(IWGDF 2003, SPILF 2007, IDSA 2007) :
Critères diagnostiques et classification des
pieds diabétiques infectés
4 GRADES

Grade 1



plaie colonisée

Grade 2



pus ou 2 signes
rougeur, chaleur,
douleur, oedème

Grade 3



dermohypodermite ou
lymphangite, ou abcès
profond

Grade 4



+ une atteinte
systémique

**Les prélèvements bactériologiques ne sont
indiqués qu'en cas d'infection établie
cliniquement, à partir du grade 2**

Quand ?

- Dans la mesure du possible, en l'**absence d'antibiothérapie** (> 15 jours), sinon le signaler et ne pas oublier de le prendre en compte dans l'interprétation
- Sans oublier les hémocultures en cas de sepsis / fièvre



Comment ?

Préparation de la plaie

Objectif :

- Exciser les parties molles nécrosées, les tissus dévitalisés et contaminés et les tissus fibreux pour ne laisser en place que du tissu sain

Le débridement :

- Débridement chirurgical, fait au bloc opératoire à visée diagnostique
- Débridement mécanique, au lit du malade, au moyen d'une curette ou d'un scalpel stériles



- Ensuite, un nettoyage doit être réalisé avec une gaze imbibée de sérum physiologique stérile
- L'utilisation d'antiseptiques est possible, ils doivent être appliqués sur les bords de la plaie puis éliminer par du sérum physiologique stérile avant de réaliser le prélèvement.

1) écouvillonnage superficiel de la plaie

- moins fiable des techniques
- pas de méthodologie validée
- écouvillon sur une surface de 1 cm² (mouvement de zigzag et rotation)
- éviter l'écouvillonnage des bords de la plaie
- pas de possibilité de recherche de bactéries anaérobies

Recueil de la
totalité de la flore
commensale

➔ 2 écouvillons (*1 = examen microscopique, 1 = culture*)

2) curetage-écouvillonnage de la lésion ulcérée

- raclage de la base de l'ulcère avec un scalpel ou une curette
- les produits de curetage sont récupérés par écouvillonnage
- + spécifique/écouvillonnage superficiel
- milieu de transport pour culture anaérobie

➡ *3 écouvillons (2 standard + 1 milieu de transport)*

3) aspiration à l'aiguille (ou KT long) d'une lésion collectée



- en passant par peau saine
 - aspiration à l'aiguille (+/- sérum physiologique)
- adresser directement la seringue sans bulle d'air et fermée hermétiquement au laboratoire

4) biopsie tissulaire

- à privilégier
 - si lésions profondes
 - si possible
- biopsies multiples (2 à 4 fragments de tissu)
- pot stérile (+/- sérum physiologique)



CONDITIONS DE TRANSPORT

- Transfert rapide au laboratoire (< 2 heures)
- Utilisation de milieu de transport
 - écouvillon ↔ tube gélosé de type « Amies »

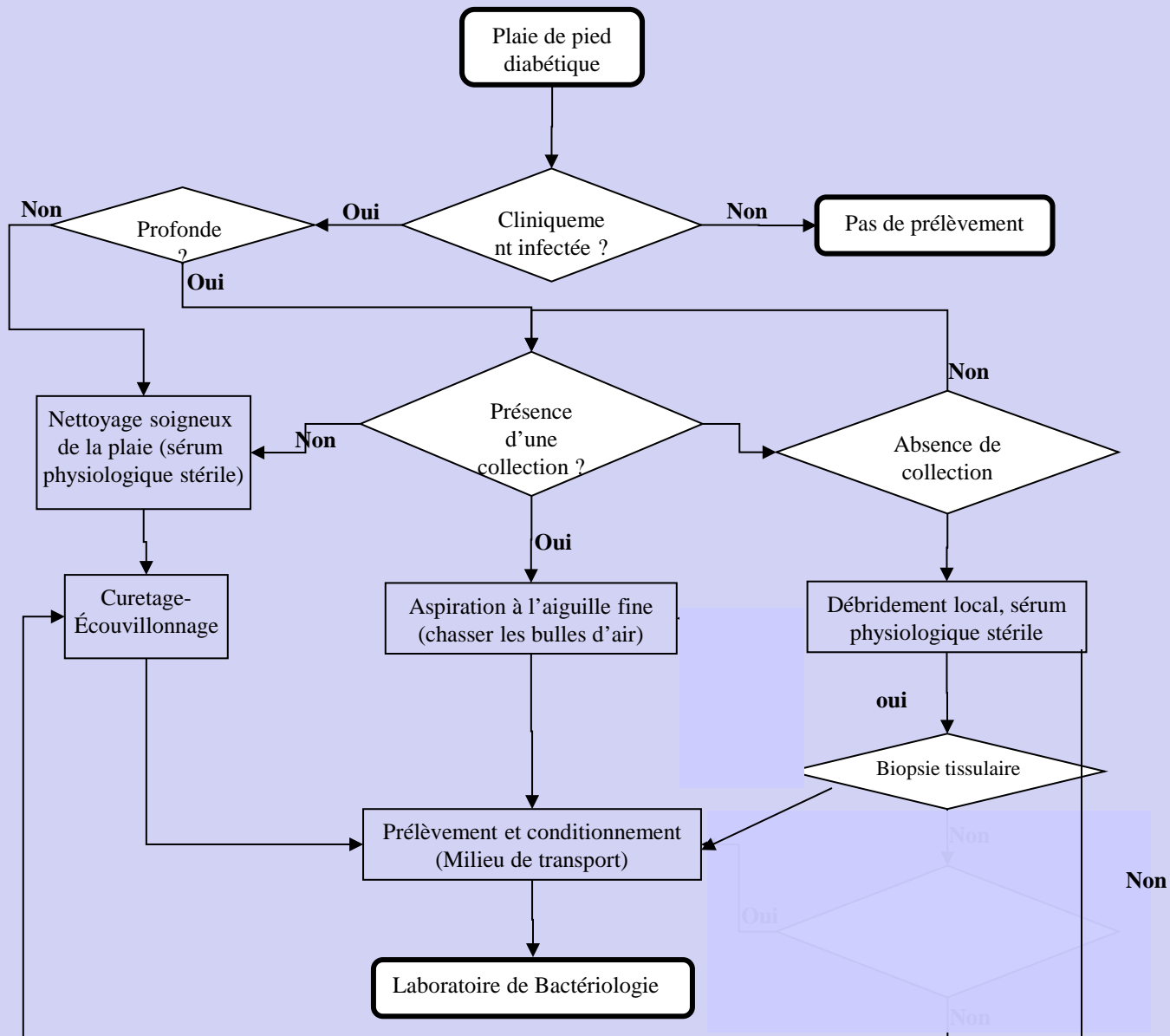


- biopsie ↔ milieu liquide type « Rosenow »

*!! Toujours accompagné
d'un échantillon sans
milieu de transport*



- Jamais de flacon d'hémoculture



Validité des prélèvements superficiels PS / prélèvements profonds PP

Références	Nb prélèvements	Comparaison	% concordance
Wheat, 1986	54	P. superficiels/p. profonds	27
Slater, 2004	60	Écouvillon/tissus profonds	62
Kessler, 2006	21	Écouvillon/tissus profonds	19
Senneville, 2006	76	Écouvillon/biopsie osseuse	17
Elamurugan, 2011	144	Écouvillon/biopsie osseuse	38

- Corrélation imparfaite mais souvent >> pour *S. aureus*
- Nombre de bactéries >> dans les PS/PP
- 1 bactérie isolée de PP peut être absente des PS (sauf Demetriou et al. 2013)
- ATB adaptée aux PS, couvre la majorité des bactéries retrouvées dans les PP
- ATB adaptée aux PS est trop large dans 1/3 des cas

- **Débuter l'antibiothérapie en urgence ?**

- La sévérité de l'infection (Grades 3 et 4)
 - Extension en profondeur (abcès, lymphangite, fasciite)
 - Sepsis
-
- Grade 2 : traitement guidé par les résultats des prélèvements (documenté)
 - Grades 3 et 4 : traitement probabiliste
- ➔ Aide du bactériologiste ?

Intérêt des nouvelles techniques de détection moléculaire

Gen Expert MRSA/SA SSTI

ADN cible recherché

- *Séquence de la Protéine A staphylococcique (SpA)*
- *Gène de la résistance à la methicilline/oxacilline (mec A)*
- *Cassette chromosomique staphylococcique (SCCmec) insérée dans le site chromosomique attB du SA*



Cultures	Souches de <i>S. aureus</i> N (%)
Nb prélèvements SA+	173 (62,7)
dont SASM	156
dont SARM	17
Nb prélèvement SA-	103
Total prélèvements	276
GeneXpert MRSA SSTI	Souches de <i>S. aureus</i> N (%)
Nb prélèvements SA+	158
dont SASM	141
dont SARM	17
Nb prélèvement SA-	105
Total prélèvements	263*
*13 prélèvements étaient ininterprétables par le GeneXpert	

*Pour la détection de *S. aureus* dans les plaies par GeneXpert® :
Sensibilité : 100%, Spécificité : 93,2%, VPN : 100%, VPP : 95,8%

*Aucune différence n'a été observée pour la détection des SARM

* Réponse en 1 à 2 heures

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- Différenciation de la flore commensale, la flore de colonisation et la flore associée à l'infection +++ mais difficile +++
- Utilité des prélèvements multiples
- Apport de l'examen microscopique direct
 - négatif dans plus de 50% des cas
 - peu de corrélation avec la culture
 - aide à l'interprétation

CONCLUSION

- Qualité des prélèvements +++ → qualité des résultats

-Impact du bon usage des prélèvements microbiologiques

Etude prospective au CHU de Nîmes de 2003 à 2007 avec mise en place des procédures (Lavigne-Sotto)

→ diminution du nombre de bactéries par prélèvements

→ diminution du nombre de BMR

→ diminution du nombre de Staphylocoques à coagulase négative

CONCLUSION

- collaboration bactério-clinique ==> interprétation
- détermination des phénotypes de résistance
==> aide à la prescription