

## Diagnostic microbiologique des infections des voies aériennes inférieures (VAI)

L. Tissières Lovey, O. Péter, G. Praz, CONSILIA et ICHV Sion

### Introduction

Les infections des VAI sont fréquentes et d'expressions cliniques variables pouvant aller de la bronchite aiguë banale guérissant spontanément à la pneumonie fulminante évoluant rapidement vers le choc septique et même le décès y compris chez des patients jeunes, sans facteur de risque. Le diagnostic microbiologique reste difficile mais les progrès technologiques récents ont permis des améliorations importantes dans ce domaine. Le développement d'anticorps spécifiques permettant la détection de virus (influenza A et B, adénovirus, Coronavirus etc.) ou d'agents bactériens difficilement cultivables (*Chlamydia* (*Chlamydia pneumoniae*, *Legionella* sp etc.) par immunofluorescence directe sur les prélèvements respiratoires constitue un progrès mais la sensibilité reste insuffisante. Ce sont surtout les techniques de biologie moléculaire par Polymerase Chain Reaction (PCR) qui sont les plus intéressantes.

### Méthodes de diagnostic microbiologique

#### 1. Examens directs

Il s'agit d'examens effectués directement sur différents prélèvements (expectorations, frottis naso-pharyngés, urine etc). Plusieurs méthodes sont utilisées.

##### 1.1 Coloration de Gram

Cette méthode très ancienne, rapide et bon marché reste une étape importante du diagnostic. La présence ou non de polynucléaires ainsi que l'évaluation qualitative et quantitative des germes visualisés (Bactéries à Gram positif ou négatif, flore mixte) sont des informations directement utilisables. De plus elle permet d'évaluer la qualité des prélèvements et d'écarter ceux d'origine clairement salivaire. Leur mise en culture pour la recherche de germes banaux est inutile, coûteuse et susceptible d'induire en erreur le médecin.

Elle doit être effectuée systématiquement avant la mise en culture. Son prix est inclus dans la culture. Lorsque la culture n'est pas effectuée le coût est de CHF 20.-

##### 1.2 Ziehl-Nilsen / Aramine

Ces colorations permettent de mettre en évidence les mycobactéries. Elles sont effectuées sur tous les prélèvements avec demande de culture spécifique. La sensibilité est modeste (60 % environ) mais la spécificité est excellente. Un résultat positif permet de poser l'indication à un traitement antituberculeux et à une mise en isolement du patient.

Agents pathogènes	Examens directs **	Cultures	PCR	Sérologie
Germes banaux ( <i>S.pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , etc)	+++	+++ (1, 2)	-	-
Legionella	++ (3,4)	+ (1)	+++ (1,4)	+
Mycobactéries	+++ (1)	+++ (1)	+++ (1)	-
Adénovirus	+++ (1,4)	+	-	++
Influenza A*, B	+++ (1,4)	+	+++ (1,4)	++
Parainfluenza	+++ (1,4)	-	-	++
RSV	+++ (1,4)	-	-	++
Picornavirus (Coxsackies, Echo, Polio)	-	-	-	+++
Chlamydia ( <i>Chlamydia pneumoniae</i> )	+ (1,4)	-	+++ (1,4)	+
Fièvre Q ( <i>Coxiella</i> )	-	-	-	+++
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	-	+++ (1,4)	++
SARS	-	+	+++ (1,4)	+

Tableau 1

- 1 Prélèvements respiratoires
- 2 Hémo-cultures
- 3 Urines
- 4 Frottis ou aspirations naso-pharyngées

+ Méthode possible ; +++ Méthode de choix

\* y compris grippe aviaire, \*\* Gram, Ziehl, IF directe, EIA

Analyses effectuées à CONSILIA

Analyses sous-traitées

#### 1.3 Détection d'antigènes spécifiques

Des anticorps monoclonaux fluorescents spécifiques sont appliqués aux prélèvements fixés sur lame et observés au microscope à fluorescence. Cette méthode nécessite un anticorps spécifique par pathogène recherché. La sensibilité est variable selon les pathogènes, le type de prélèvement et l'expérience du laboratoire.

Coût env. CHF 25.- par pathogène.

#### 1.4 Détection d'antigènes urinaires

La recherche d'antigènes solubles de *Legionella pneumophila* dans les urines est possible. Elle présente une bonne sensibilité, malheureusement uniquement pour le sérotype 1.

Coût CHF 40.-

#### 1.5 Détection du génome (PCR)

Pour l'amplification génique, l'ADN est extrait directement du prélèvement. Cette méthode est en plein développement, avec un nombre de micro organismes détectables qui augmentent de façon exponentielle. Elle est nettement plus sensible et spécifique que les méthodes ci-dessus; particulièrement utiles pour les virus et les bactéries non cultivables ou difficilement cultivables. Elle nécessite une infrastructure lourde et un personnel hautement qualifié (risque de contamination).

Coût : CHF 150.- à 170.-

A l'exception de la PCR pour mycobactéries (1 fois par semaine) ces tests se font tous les jours ouvrables.

### 2. Sérologie

Les anticorps sériques apparaissent au décours d'une infection. Leur détection est souvent peu utile pour le diagnostic de l'infection aiguë. La sérologie reste cependant la seule méthode disponible pour certains pathogènes (fièvre Q,...). Elle est progressivement remplacée par des techniques de PCR ou de détection d'antigènes.

Coût : CHF 35.- à 45.- par marqueur.

### 3 Culture

La culture est toujours la méthode la plus sensible pour mettre en évidence la plupart des bactéries responsables des infections pulmonaires. De plus, elle est indispensable à la détermination de la sensibilité aux antibiotiques.

Coût : CHF 70.- à 125.- selon résultat, mycobactérie : au moins CHF 125.-

Le tableau 1 indique les différentes méthodes à disposition pour les différents pathogènes.

### REFERENCES

- [1] Saubolle MA and McKellar PP. Laboratory diagnosis of community-acquired lower respiratory tract infection. In Infectious Disease Clinics Of North America, Décembre 2001
- [2] Bille J. Stratégies diagnostiques microbiologiques. In Pathologies Infectieuses en réanimation. Charbonneau P, Praz G, Glauser M, 2002

### PERSONNES DE CONTACT

Lysiane Tissières Lovey, Laborantine-Cheffe bactériologie Tel : 027 603 4880  
E-mail : lysiane.tissieres@consilia-sa.ch

Olivier Péter, Biologiste Chef microbiologie Tel : 027 603 4862  
E-mail : olivier.peter@consilia-sa.ch

Gérard Praz, Médecin-Chef Tel : 027 603 4860  
E-mail : gerard.praz@consilia-sa.ch

### Piquet d'infectiologie 027 603 4800

### DEMANDE D'ANALYSES ET TRANSPORT

CONSILIA Laboratoires et Conseils Médicaux SA  
Tel.: 0848 603 603