

INFECTIONS OCULAIRES TRAUMATIQUES ET IATROGENES: PRELEVEMENTS ET ROLE DU LABORATOIRE

Pierrette MELIN*

RESUME

Parmi les différentes causes responsables des inflammations oculaires, les microorganismes jouent un rôle important tant dans les affections aiguës que chroniques de l'oeil. Afin d'assurer le meilleur traitement des infections sévères, un bon diagnostic microbiologique est nécessaire. Les indications et les techniques d'investigation sont déterminées par le site infecté, la sévérité du processus et la connaissance des agents responsables probables. L'inoculation directe du matériel prélevé par l'ophtalmologue sur les milieux de culture est le plus souvent recommandée.

Cette revue décrit les microorganismes associés aux différentes infections de l'oeil, les procédures de prélèvement, de traitement et de transport des échantillons.

SUMMARY

Ocular inflammations may be due to a variety of diseases, and microorganisms play a major role in both acute and chronic eye diseases. Treatment of serious infections needs a good microbiological diagnostic. The indications and techniques for investigations are determined by the site of infection, severity of the process, and knowledge of the likely responsible organisms. Immediate inoculation of specimens on culture media in the examining room is often recommended.

This article describes organisms associated with ocular infections, and is designed to assist ophthalmologists in the collection, processing and transport of specimens.

.....

* Microbiologie Médicale, C.H.U. de Liège,
B-23, Sart Tilman
B-4000 Liège.

Bull. Soc. belge Ophtalmol., 260, 27-32, 1996.

MOTS CLES

Infections oculaires, Cultures oculaires, Conjonctivite, Kératite, Endophtalmie

KEY WORDS

Ocular infections, Ocular cultures, Conjunctivitis, Keratitis, Endophtalmitis

INTRODUCTION

L'oeil et ses annexes sont prédisposés aux infections par une grande variété d'agents microbiens: bactéries, virus, champignons ou parasites. Afin d'assurer le meilleur traitement des infections oculaires sévères, un bon diagnostic microbiologique est le plus souvent nécessaire. Par contre, l'utilité des cultures préopératoires pour la recherche de germes pathogènes est plutôt controversée.

Les objectifs principaux du laboratoire de microbiologie sont d'aider le clinicien à préciser son diagnostic en l'informant sur la présence ou l'absence d'agents microbiens probablement impliqués dans le processus infectieux. Afin de permettre au clinicien de choisir ou d'adapter un traitement, un profil de sensibilité aux agents antimicrobiens accompagnera l'identification des germes significatifs isolés. Les résultats pertinents doivent toujours être transmis sans délai, même incomplets: par exemple, présence d'éléments mycéliens à l'examen direct, c'est-à-dire le jour de l'examen, sans attendre la mise en évidence en culture quelques jours plus tard, ou l'identification précise, parfois après plusieurs semaines.

PRELEVEMENT ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

Afin de garantir la qualité et l'efficacité des examens microbiologiques, rien n'est plus important que le choix du site à prélever, de la procédure de prélèvement et des conditions de transport jusqu'au laboratoire. Les indications et les techniques d'investigation sont déterminées par le site infecté, par la sévérité du processus et par la connaissance de l'agent responsable probable. Les petites quantités de matériel prélevables ainsi qu'une certaine activité antimicrobienne des anesthésiques locaux utilisés en ophtalmologie vont exiger des procédures spéciales pour le prélèvement, le transport et le traitement des échantillons. C'est pourquoi l'inoculation directe des milieux de culture par l'ophtalmologue, en salle d'examen, en salle d'opération ou au lit du malade, est de loin préférable au transport du matériel vers le laboratoire. Il existe d'excellents systèmes de trans-

port, mais il doivent toujours être une solution alternative et non de premier choix.

Quel que soit le site infecté, un écouvillonnage de conjonctive devrait toujours être obtenu, et devrait toujours précéder et accompagner tout prélèvement obtenu par une technique plus invasive ou plus agressive (curetage de conjonctive, de cornée ou prélèvement de liquide intra-oculaire). De même lors d'une conjonctivite unilatérale, des prélèvements des 2 yeux sont souhaitables. Cet écouvillonnage de conjonctive sert de contrôle et permet d'établir la flore contaminante naturellement présente.

MATERIEL ET MILIEUX DE CULTURE

Dans le cadre d'une collaboration, le laboratoire de microbiologie doit assurer un approvisionnement régulier en milieux de culture prêts à l'emploi et doit fournir les procédures à suivre pour les différentes situations.

MATERIEL DE PRELEVEMENT

Curette ophtalmique.
Ecouvillons en coton, en polyester, ou en alginate calcique.
Aiguille et seringue.
Système de transport pour germes aérobies, pour anaérobies, pour virus,...

ANESTHESIQUE LOCAL

Idéalement une solution de Proparacaine HCl (0,5%): le moins antimicrobien, mais non disponible en Belgique.

LAMES ET SOLUTIONS FIXANTES

Lame de verre avec une extrémité dépolie pour l'identification de l'échantillon.
Solutions fixantes: *Méthanol 95%*, pour coloration de Gram, ou Giemsa, ... et *Acétone glaciale*, pour colorations en immunofluorescence.

MILIEUX DE CULTURE

Milieux de culture standards (gélose au sang, gélose "chocolat", ...). Ils se conservent en général 2 à 4 semaines à 4°C.

Milieux spéciaux sur demande (recherche de mycobactéries, d'anaérobies, de champignons, ...).

Tab. 1

Diagnostic clinique	Origine des prélèvements	Méthodes	Agents étiologiques	
			Les plus fréquents	Les plus rares ou associés à un contexte clinique particulier
Conjonctivite	<ul style="list-style-type: none"> - Conjonctive - Cui de sac - (Bords des paupières si blépharocconjunctivite) <p>!! les 2 yeux !!</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Prélèvement avec écouvillon humidifié et mise en culture 2. 1 à 2 gouttes d'anesthésique local 3. Curetage et mise en culture 4. Frottis 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Haemophilus influenzae</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus pneumoniae</i> - <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 	<p>Patients immunocompromis</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Enterobacteriaceae</i> <p>Nouveautés</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus pyogenes A</i> - <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Chlamydia trachomatis</i> - <i>Herpes simplex virus</i> <p>Autres causes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Anaérobies - Fungi - <i>Chlamydia trachomatis</i>
Kératite	<ul style="list-style-type: none"> - Conjonctive - Cornée: bord progressant de l'ulcère 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Prélèvement de la conjonctive avec écouvillon humidifié et mise en culture 2. Curetages: 3 à 5 par cornée, et mise en culture 3. Frottis cornée: plusieurs lames si possible 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus pneumoniae</i> - <i>Moraxella</i> spp - <i>Staphylococcus coagulase négative</i> - <i>Streptococcus viridans</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Enterobacteriaceae</i> - <i>Neisseria gonorrhoeae</i> - <i>Neisseria meningitidis</i> - <i>Haemophilus influenzae</i> - <i>Mycobacterium chelonae/fortuitum</i> <ul style="list-style-type: none"> - Fungi - Anaérobies - Virus <p>Associés aux lentilles de contact</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Bacillus</i> spp - <i>Serratia</i> spp - <i>Acanthamoeba</i> spp

Diagnostic clinique	Origine des prélèvements	Méthodes	Agents étiologiques	Les plus rares ou associés à un contexte clinique particulier
Endophtalmie	- Conjonctive - Liquide vitré - Matériel de l'abcès	1. Prélèvement avec écouvillon humidifié et mise en culture 2. Aspiration du liquide vitré ou paracentèse de la chambre antérieure 3. Mise en culture directe si petit volume collecté; 1 à 2 gouttes par milieu	- Bactéries aérobies et anaérobies - <i>Mycobactéries</i> - Fungi - Virus - Protozoaires - Autres parasites	
Cellulite préseptale	- Drainage de l'abcès	1. Désinfection de la peau avec alcool + iodophore 2. Aspirer la plaie à l'aiguille, si la plaie est ouverte, sinon inciser la plaie 3. Mise en culture 4. Préparation des frottis 5. Milieu de transport pour anaérobies.	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus pyogenes</i> A - Autres streptocoques - <i>Haemophilus influenzae</i>	Blessure par corps étranger contaminé - <i>Clostridium</i> spp ± Germes aérobies Causes exceptionnelles - <i>Pseudomonas</i> spp - Autres bacilles à Gram négatif
Cellulite orbitaire	Idem + hémocultures	1 à 5 - idem 6. Prélèvement d'hémocultures	Post-chirurgical - <i>Staphylococcus aureus</i> Traumatisme - Infection mixte à germes aérobies et anaérobies Extension de panophtalmie - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus pneumoniae</i> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Extension d'infection paranasale - <i>Haemophilus influenzae</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus pyogenes</i> A - <i>Streptococcus pneumoniae</i> - Bacilles à Gram négatif	- Fungi - Mycobactéries
Dacryoadénite	- Décharge purulente	1. Ecouvillonnage des décharges purulentes Pas d'aspiration à l'aiguille.	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus pyogenes</i> A - <i>Streptococcus pneumoniae</i>	
Dacryocystite	- Conjonctive - Sac Lacrymal	1. Prélèvement de conjonctive 2. Presser le canal lacrymal et prélever l'exsudat pour culture et frottis. Ou prélever l'exsudat à l'aiguille + seringue et envoi du matériel.	- <i>Streptococcus pneumoniae</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus pyogenes</i> A - <i>Haemophilus influenzae</i>	

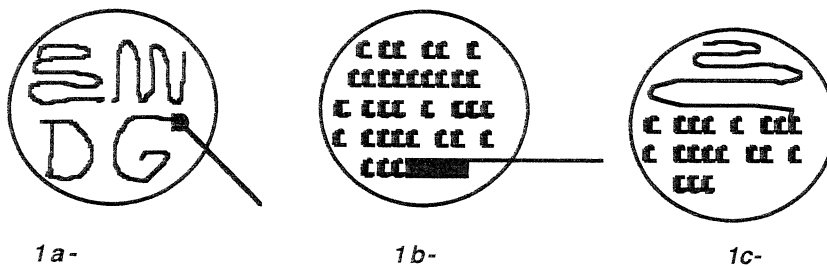


Fig 1. Schémas pour la mise en culture sur milieu solide du matériel prélevé à l'écouvillon ou à l'aide d'une curette ophtalmique. 1a - Ecouvillonnages bilatéraux de conjonctives et paupières; 1b - matériel obtenu par curetage; 1c - Ecouvillonnage et curetage.

METHODES DE PRELEVEMENT ET DE MISE EN CULTURE

PREPARATION DES FROTTIS

En appliquant un mouvement circulaire à l'écouvillon ou à la curette, le matériel prélevé est étalé sur une surface arrondie (1 × 1 à 2 cm) d'une lame de verre. Ensuite le frottis est fixé dans du méthanol à 95% pendant 5 à 10 minutes pour les colorations de bactéries ou de fungi, ou à l'acétone glaciale pour les colorations en immunofluorescence pour la recherche de *Chlamydia* ou de virus. Les lames sont identifiées.

MISE EN CULTURE

Les écouvillonnages de conjonctives et de paupières droites et gauches peuvent être cultivés sur une même boîte de milieu. Ce milieu est ensemencé comme si on dessinait ou écrivait à l'aide des écouvillons respectifs sur la gélose. Voir figure 1a)

Après instillation de 1 à 2 gouttes d'anesthésique local, le site infectieux (ulcération et suppuration) est gratté avec une curette ophtalmique, par petits coups fermes et appliqués dans une seule direction. Le matériel ainsi prélevé est inoculé sur les milieux de culture par empreintes successives (voir figure 1b).

Une autre combinaison écouvillonnage/curetage est possible sur un même milieu de culture (voir figure 1c).

De multiples curetages sont recommandés, car la profondeur, l'extension et la présence de germes viables peuvent varier.

Pour les liquides intraoculaires, le prélèvement est fait à l'aiguille et à la seringue. Les milieux

appropriés sont directement ensemencés, et/ou l'échantillon est directement transmis au laboratoire dans un système de transport pour anaérobies ou dans une seringue bouchée dont l'air a été expulsé.

REMARQUES

Au moins un milieu de culture "tout germe" est ensemencé avant la préparation d'un frottis. Les milieux inoculés et les frottis préparés doivent être envoyés immédiatement au laboratoire.

Les écouvillonnages et les prélèvements pour recherche de virus ou de *Chlamydia* sont réalisés avant d'instiller l'anesthésique local. Pour la recherche de *Chlamydia* par mise en culture, les écouvillons en alginate calcique doivent être utilisés; et, pour la recherche des virus par mise en culture, ce sont des écouvillons en Dacron ou en coton sur manche non en bois qui doivent être utilisés.

INFECTIONS OCULAIRES ET EXAMENS DE LABORATOIRE

Remarques préliminaires:

1. Ne pas utiliser le terme "oeil" pour désigner un prélèvement, mais spécifier la nature de cet échantillon, par exemple, prélèvement de conjonctive, de cornée, de vitrée,...

Spécifier aussi oeil droit ou gauche.

2. Idéalement une paire de prélèvements est toujours nécessaire: un pour la culture et un pour l'examen microscopique direct.

Dans le tableau I sont repris les agents étiologiques, les prélèvements à effectuer ainsi que les méthodes recommandées dans les principales situations cliniques infectieuses: conjonc-

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pyogenes* A
- *Haemophilus influenzae*

1. Prélèvement de conjonctive
2. Presser le canal lacrymal et prélever l'exsudat pour culture et frottis.
Ou prélever l'exsudat à l'aiguille + seringue et envoi du matériel.

- Conjonctive
- Sac Lacrymal

Dacryocystite

tivite, kératite, endophtalmie, cellulite préseptale, cellulite orbitaire, dacryodénite et dacryocystite.

REFERENCES

BAUM, J. – Infections of the Eye. *Clinical Infectious Diseases*. 1996, 21, 479-488.

FLANDROIS, J.P. et Coll. – L'examen bactériologique des prélèvements oculaires dans *Bactériologie Médicale pratique*. MEDSI.

ISENBERG, H.D. (ed.) – *Clinical Microbiology Procedures handbook*, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1992.

JONES, D.B., LIESEGANG, T.J. and ROBINSON, N.M. – *Cumitech 13 - Laboratory Diagnosis of Ocular Infections*. Coordinating ed., J.a. Washington II. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1981.

MILLER, J.M. – *A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1996, 73-76.

ZAMBARDI, G. et FRENEY, J. – Prélèvements en bactériologie clinique: Examen bactériologique au cours des infections de l'oeil dans *Manuel de Bactériologie Clinique*, 1992, Vol. 1, Elsevier, Paris.