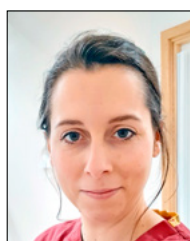


SUR LES LIEUX D'UN CAS INFECTIOLOGIQUE

ENQUÊTE DIAGNOSTIQUE : RÉFLEXIONS À PROPOS DES INDICATIONS ET LIMITES DES ANALYSES MICROBIOLOGIQUES COURANTES

Nina Schöbi, Andrea Duppenhaler

Traducteur : Rudolf Schlaepfer



Nina Schöbi

Andrea Duppenhaler

Les moyens diagnostiques en infectiologie ont connu ces dernières années une expansion grâce notamment aux moyens de détection de la génétique moléculaire. Les différentes analyses ont leur place dans le diagnostic d'une maladie infectieuse, si elles sont effectuées avec la bonne question au bon moment. Tout résultat positif n'est par contre pas nécessairement cliniquement significatif ou un indice diagnostique fiable. Les limites de l'analyse en question doivent être prises en considération lors de l'évaluation d'un résultat.

À l'aide du cas clinique d'une patiente avec une « fièvre sans foyer » nous souhaitons discuter les avantages et désavantages de méthodes diagnostiques infectiologiques fréquentes.

<https://doi.org/10.35190/Paediatria.f.2023.1.1>

Vignette clinique

> Fillette d'une année et demie en bonne santé jusqu'à la maladie actuelle, ayant bénéficié de toutes les vaccinations (y compris contre la varicelle). Première consultation il y a quatre jours avec de discrets symptômes respiratoires (rhume, toux). Malgré un traitement antipyrétique surviennent quatre à cinq pics fébriles jusqu'à 40 °C par jour. Pas de signes cliniques mis à part un pharynx légèrement hyperémié. On suppose une virose, aucune investigation complémentaire n'est entreprise. Lors du contrôle 48 heures plus tard la fillette est toujours fébrile sans autres symptômes. L'état général est stable, sans néanmoins s'améliorer. Vu l'état fébrile depuis maintenant 6 jours et un tympan hyperémié, on débute une antibiothérapie par amoxicilline (25 mg/kg 2x/j). La CRP mesure à ce moment 50 mg/l. Nouveau contrôle le 8^{ème} jour : toujours deux à trois pics fébriles à 39 °C par jour, l'état général s'est un

peu amélioré, les deux tympans sont légèrement hyperémiés. CRP 30 mg/ml.

- > **Bilan intermédiaire : état fébrile depuis 8 jours chez un enfant jusque là en bonne santé, sans indices cliniques et sans réponse au traitement antibiotique par voie orale, des paramètres inflammatoires peu élevés et pas de foyer évident expliquant la fièvre.**
- > **S'imposent maintenant une évaluation anamnétique et clinique approfondie et éventuellement aussi des investigations complémentaires, par analogie à la situation d'un état fébrile sans foyer. Des diagnostics différentiels d'origine non infectieuse (p. ex. des maladies inflammatoires non-infectieuses ou néoplasiques) doivent toujours être considérées mais ne font pas l'objet de cette présentation.**
- > **L'anamnèse élargie ne révèle pas d'exposition spécifique avant le début de la maladie : la famille et la fillette ne consomment pas de produits laitiers crus ni de volaille et personne dans la famille n'a été malade. Elle fréquente 3 jours par semaine une crèche, où il y a quelques semaines avaient été enregistrés des cas de maladie pied-main-bouche. La famille a un chien, pas d'autres contacts avec des animaux. Le seul séjour à l'étranger a été une visite chez la famille en Espagne il y a deux mois. L'anamnèse familiale ne révèle pas de maladies inflammatoires non-infectieuses.**

La condition essentielle pour l'indication et l'interprétation des analyses biologiques est de clarifier si on peut présumer que la personne est immunocompétente. Pour cela suffit en général une bonne anamnèse personnelle et familiale ; une analyse immunologique

Correspondance:
nina.schoebi@insel.ch

Formation continue

dans le cadre d'une première évaluation est réservée à des situations spécifiques.

Pour objectiver un état inflammatoire nous disposons de différents marqueurs inflammatoires, auxquels on a généralement recours dans un premier temps lors d'un état fébrile ; il s'agit le plus souvent de la protéine C-réactive (CRP) et de la vitesse de sédimentation (VS). L'interleukine-6 (IL-6) – produite par des macrophages et des monocytes – est la responsable principale de l'augmentation de la CRP dans les cellule hépatiques ; c'est également un paramètre inflammatoire qui peut être dosé dans la plasma. Le dosage de l'IL-6 n'est pourtant pas courant et réservé à des situations particulières, et pratiqué surtout en néonatalogie. Dans la population saine la CRP mesure en général <3 mg/l, les valeurs >100 mg/l sont dans 80% des cas d'origine infectieuse et majoritairement, mais pas exclusivement, bactérienne. Il faut considérer que la CRP augmente avec une certaine latence, en général 6 à 12 heures après le début de la maladie. La VS est un marqueur indirect de l'inflammation et reflète la viscosité plasmatique, conditionnée essentiellement par le fibrinogène, également une protéine de la phase inflammatoire aiguë, mais aussi par d'autres protéines de phase aiguë ainsi que les immunoglobulines. La VS est en outre conditionnée par des facteurs « externes », et est souvent élevée à cause d'une anémie. Lors de dosages répétés de la VS il faut prendre en considération une certaine inertie, des modifications significatives, surtout à la baisse, n'intervenant qu'après plusieurs jours. Des dosages répétés sont donc raisonnables à intervalles p. ex. hebdomadaires. Tant la CRP que la VS ne sont ni spécifiques d'une infection, des taux élevés étant observés aussi lors de maladies inflammatoires auto-immunes, des traumatismes ou néoplasies p. ex., ni permettent-elles de différencier de manière fiable entre une infection bactérienne, virale ou parasitaire. Plus spécifique que la CRP pour la différenciation entre une réaction inflammatoire infectieuse (surtout bactérienne) et non-infectieuse semble être la procalcitonine. Dans une méta-analyse systématique de 2012 on décrit une spécificité jusqu'à 90% pour la détection d'une infection bactérienne chez des patients avec une maladie auto-immune³⁾. Physiologiquement la procalcitonine est produite dans des cellules neuroendocrines thyroïdiennes et n'est pas détectée dans le sang. Lors d'une inflammation systémique due à des bactéries, sa synthèse est induite dans pratiquement tous les tissus et elle devient détectable dans le sang ; des taux >5 ng/l sont généralement considérés pathologiques. Néanmoins un état de choc, une intervention chirurgicale, une insuffisance rénale chronique et d'autres pathologies peuvent également engendrer une production de procalcitonine. Une augmentation peut intervenir déjà après 2 à 4 heures, le point culminant étant atteint après 24 à 48 heures. Pour l'évaluation d'un état fébrile on a souvent recours à la formule sanguine, néanmoins le nombre de leucocytes, neutrophiles et lymphocytes est sujet à d'importantes variations et dépend de nombreux facteurs non-infectieux. La déviation gauche souvent citée est elle-aussi peu spécifique pour une infection.

Aucun paramètre inflammatoire n'est donc le meilleur, tous présentent des avantages et désavantages, aucun n'est spécifique pour une infection. Malgré cela les paramètres inflammatoires peuvent être utiles combinés ou dosés de manière répétée.

> Chez notre patiente on trouve les taux suivants : CRP max. 88 mg/l, diminuant ensuite à 22 mg/l, VS 36 mm/h, procalcitonine 1,11 ng/ml, fibrinogène 1,62 g/l, leucocytes, neutrophiles et lymphocytes normaux.

Le standard or du diagnostic infectiologique est la mise en évidence du germe par la culture. Cela permet l'identification du germe et pour les bactéries des tests de résistance et donc une antibiothérapie ciblée. Les hémocultures, qui mettent en évidence une bactériémie, jouent un rôle important. Les infections invasives sont associées à une bactériémie d'une manière variable : rare (<10%) : infection urinaire ; régulièrement (20–<50%) : pneumonie sévère, sepsis ; fréquemment (≥50%) : choc septique, arthrite septique, ostéomyélite, méningite. Chez les patients avec une infection endovasculaire, par exemple une endocardite ou l'infection d'un implant, le diagnostic est posé par la recherche en continu d'une bactériémie, indépendamment d'un état fébrile. Si l'indication à des hémocultures est donnée, de manière optimale on devrait prélever deux à trois hémocultures (aérobies et anaérobies) par ponction veineuse et si possible avant le début de l'antibiothérapie. Chez les patient-e-s porteurs-euses d'un cathéter central permanent, des hémocultures seront prélevées, en même temps que par ponction veineuse, aussi à partir du cathéter afin de faire le diagnostic différentiel important d'infection du cathéter. On ne prélèvera par contre pas d'hémocultures depuis un cathéter périphérique, le risque de contamination étant élevé. Outre le fait que toutes les infections ne comportent pas le même risque de bactériémie, le volume inoculé est le facteur décisif. En principe on devrait prélever autant de sang que possible. Si le prélèvement contient moins de 10 ml, on inoculera d'abord le flacon aérobie resp. un flacon spécifiquement pédiatrique. Le volume de sang recommandé dépend du poids corporel. Pour les enfants de <12,8 kg sont souhaitables 4 ml (nous n'abordons pas la situation du nouveau-né), pour les enfants de >12,8 kg 10 ml de sang²⁾. Avec de plus petits volumes le risque de résultats faux-négatifs augmente. Pour des questions particulières, champignons (p. ex. *Cryptococcus* sp.) ou bactéries aux conditions de croissance exigeantes, peut s'avérer utile l'emploi d'hémocultures Isolator, en utilisant un dispositif de prélèvement Vacutainer. Outre les résultats faux-négatifs, lors d'hémocultures positives il faut toujours envisager une possible contamination par une technique de prélèvement imparfaite. En règle générale plus rapidement la culture est positive et plus intense la croissance, plus grande est la probabilité qu'il s'agisse effectivement d'une bactériémie. On portera un regard critique sur une croissance ne devenant visible qu'après 24 heures, notamment s'il s'agit de germes typiques de la flore cutanée. Ce laps de temps doit éventuellement être prolongé lorsqu'il s'agit de

germes rares ou spécifiques, ou si le/la patient-e a reçu un traitement antimicrobien avant le prélèvement. Le moment du prélèvement est de moindre importance, plusieurs études³⁾ ont montré que souvent la bactériémie est continue et que, si un taux de détection optimal existe, il se situe immédiatement avant la montée de la fièvre. Ce moment ne pouvant être anticipé, les hémocultures devraient être prélevées avant le début du traitement et si possible au début de la montée de la fièvre. Il n'est pas justifié de renoncer, lorsque l'indication est donnée, au prélèvement d'une hémoculture parce qu'il n'y a pas de fièvre.

> Chez notre patiente trois hémocultures pédiatriques ont été prélevées, sans croissance de germes.

En plus des hémocultures, les prélèvements dans le tissu supposé être infecté permettent souvent de poser un diagnostic étiologique ; ce n'est néanmoins pas toujours possible en raison de la localisation. Le prélèvement de matériel natif a l'avantage de pouvoir procéder, comme pour le sang, à une culture et dans le cas positif de connaître les antibiorésistances. En présence d'un résultat positif il faut pourtant toujours vérifier si le prélèvement a été effectué de manière stérile et connaître la flore accompagnatrice. Différencier entre contamination et infection peut constituer un défi en présence de germes commensaux intestinaux ou cutanés dans des échantillons d'urine ou d'un abcès cutané. Une monoculture a en principe une plus grande valeur diagnostique que la présence de plusieurs germes. Souvent on n'obtient une croissance bactérienne qu'avant le début d'une antibiothérapie. En absence de croissance, p. ex. lorsqu'un traitement antibiotique a déjà débuté, on peut avoir recours au diagnostic moléculaire (PCR) pour mettre en évidence des germes bactériens ou fongiques. Pour les échantillons contaminés/colonisés sont nécessaires des tests spécifiques, comme par exemple une PCR spécifique pour *Francisella tularensis* dans le frottis d'un ulcère, alors qu'une PCR non spécifique mettrait en évidence la flore cutanée. La PCR a le désavantage de ne permettre souvent qu'une analyse qualitative et pas quantitative (possible surtout à partir d'hémocultures), ce qui peut limiter l'interprétation resp. la sensibilité. De plus il n'est pas possible de déterminer les sérotypes et les résistances des germes courants aux antibiotiques les plus importants ; cela pourrait changer à l'avenir. Il vaut donc la peine de conserver ces échantillons sous forme native, avec la possibilité de s'en servir ultérieurement pour un diagnostic ciblé.

Un méthode diagnostique rapide pour certaines infections virales est la mise en évidence de l'antigène viral par immunofluorescence, par exemple l'herpès simplex, le virus varicelle-zona ou les virus respiratoires du nasopharynx. Le résultat est disponible en quelques heures, le test est comparativement économique mais sa sensibilité est moindre que celle de la PCR et exige un personnel de laboratoire expérimenté. L'analyse par PCR, notamment de sécrétions nasopharyngées, a une sensibilité très élevée mais l'appré-

ciation de la pertinence clinique est plus difficile, car tous les fragments de génome présents dans l'échantillon sont amplifiés et donc signalés positifs, sans qu'il s'agisse nécessairement de cellules infectées par un virus. Il peut s'agir au contraire d'une colonisation ou d'une infection ancienne. Ces analyses occasionnent, surtout si appliquées sur une base large, des coûts importants.

Pour une recherche très large de virus, l'isolation sur des cultures cellulaires peut être la méthode de choix. Cette méthode est néanmoins très chronophage, selon le germe elle dure 7 (virus herpes simplex) voire 14 jours (cytomégalovirus). De plus le transport au laboratoire doit s'effectuer rapidement. L'avantage est de pouvoir diagnostiquer avec précision le virus en question (p. ex. du groupe des entérovirus).

Vignette clinique, suite après le jour 8 :

> Chez notre patiente de 18 mois persistent deux à trois pics fébriles quotidiens jusqu'à 39 °C, l'état général s'est plutôt amélioré. Les examens cliniques répétés révèlent dans la 3^{ème} semaine une hépatosplénomégalie. Les analyses biologiques montrent une bicytopénie croissante, avec une hémoglobine jusqu'à un minimum de 73 g/l et des plaquettes autour des 100 G/l; les autres paramètres sont dans les limites normales, la CRP a régressé spontanément à 6 mg/l. La ponction de moelle osseuse, faite d'une part pour exclure une maladie cancéreuse, d'autre part pour effectuer une PCR pour *Leishmania* sp., permet finalement de poser le diagnostic de leishmaniose viscérale. Outre la PCR spécifique positive pour *Leishmania* sp., l'examen cytologique montre une hémophagocytose. On n'a pas constaté des *Leishmanias* au microscope. La patiente reçoit des stéroïdes systémiques à court terme pour l'hémophagocytose, et de l'amphotéricine B liposomale, traitement spécifique contre la leishmaniose. La fièvre tombe rapidement, l'état général se normalise et l'hépatosplénomégalie régresse. Les anomalies hématologiques se normalisent également peu de temps après le début du traitement. Un premier résultat positif pour les anticorps anti-*Leishmania* était connu au moment de la ponction de moelle qui a confirmé le diagnostic. L'exposition au germe a eu lieu 6 semaines avant le début de la maladie pendant les vacances dans le sud de l'Espagne.

> Le taux d'anticorps positif (*Leishmania* spp EIA 43 AE, norme <1) parle, avec l'anamnèse, la clinique et les résultats de laboratoire, clairement en faveur d'une leishmaniose, diagnostic confirmé par la ponction de moelle.

La pertinence de la sérologie dépend du moment du prélèvement. Il s'agit d'un paramètre indirect, qui selon le germe peut ne devenir positif qu'après des jours voire des semaines. On peut donc faire le prélèvement trop tôt, le résultat négatif n'exclut alors

Formation continue

pas l'infection en question mais signifie simplement que le test est *encore* négatif. Ce n'est que par un contrôle après 3 à 4 semaines qu'on obtiendra un taux positif.

Des résultats d'IgG faux positifs sont dus à une transmission passive d'anticorps, p. ex. d'anticorps maternels pendant les premiers mois de vie ou suite à l'administration d'immunoglobulines. Des résultats faux positifs, surtout d'anticorps IgM, peuvent aussi survenir suite à une réaction croisée non spécifique, réactions fréquentes p. ex. dans le cadre d'une infection récente à EBV. Souvent apparaissent aussi des anticorps IgM dits hétérophiles contre CMV, un autre virus herpétique, sans qu'il y ait effectivement une infection à CMV. Ce phénomène est par ailleurs souvent mentionné dans le commentaire du laboratoire.

Une sérologie positive ne permet qu'exceptionnellement de préciser le moment de l'infection ; c'est le cas lorsqu'on réussit à saisir la séroconversion. S'il y a une réponse IgG, le moment de l'infection est en principe plus ancien qu'en présence d'une réaction exclusivement IgM, bien qu'il y ait là aussi des exceptions. Pas toutes les infections récentes se manifestent d'emblée par des IgM, qui peuvent d'autre part persister pendant des années. Utile peut s'avérer la mesure de l'avidité des anticorps, si le dosage est possible. L'avidité décrit la force et précision de liaison des anticorps spécifiques; elle augmente progressivement, par sélection lors de la réplication. Une avidité élevée signifie donc une liaison anticorps-antigène plus solide, ce qui parle en faveur d'une infection plus ancienne.

Du point de vue infectiologique les investigations sérologiques non ciblées sont rarement utiles et donc à éviter. Des investigations sont utiles lorsqu'il est clair, au moment du prélèvement, quelle configura-

tion sérologique correspond au problème diagnostique et quelles conséquences on en tirera. Une sérologie positive ne permet pas de conclusions concernant l'efficacité du traitement ou l'activité de la maladie. Exemple est la sérologie pour la borréliose : des IgG positifs (test de dépistage et immunoblot) lors d'une monoarthrite rendent le diagnostic d'arthrite de Lyme envisageable, sans néanmoins le prouver. Si d'autre part la sérologie est positive chez une personne se plaignant de fatigue, on peut seulement en tirer la conclusion qu'une infection à borrelies a eu lieu par le passé, le lien avec la problématique actuelle étant par contre incertain.

En résumé on peut dire que la plupart des fois il n'existe pas LE paramètre biologique. Plus efficace s'avère :

- une anamnèse détaillée et répétée
- un examen clinique minutieux.

On visera la mise en évidence directe du germe, de préférence par une culture, si possible à partir d'un échantillon infecté.

Il est souvent utile de conserver du matériel natif et des liquides corporels (y. c. du sang) pour un diagnostic séquentiel ou des analyses ultérieures.

Pour la bibliographie, veuillez consulter notre version en ligne de l'article.

Autrices

Dr. med. Nina Schöbi, Pädiatrische Infektiologie, Universitätsklinik für Kinderheilkunde, Inselspital, Universitätsspital, Bern

Dr. med. Andrea Duppenhaler, Pädiatrische Infektiologie, Universitätsklinik für Kinderheilkunde, Inselspital, Universitätsspital, Bern

Les autrices n'ont déclaré aucun lien financier ou personnel en rapport avec cet article.