

# Les prélèvements en bactériologie

● Y. Piémont\*, C. Rieder\*, I. Mahoudeau\*, J.M. Rousée\*, S. de Martino\*

**RÉSUMÉ.** La réalisation d'un examen de bactériologie utile dépend étroitement de la qualité de la prescription et des conditions techniques de recueil et de transport de l'échantillon biologique. Dès l'étape de prescription, le clinicien doit savoir lui-même, et faire savoir au biologiste, le but précis de l'analyse demandée et, en particulier, si cette analyse est à visée diagnostique ou épidémiologique. Pour une analyse à but diagnostique, les échantillons utiles sont habituellement ceux obtenus de manière invasive, ainsi que tous ceux pour lesquels on recherche des bactéries nommément désignées. Il importe de savoir distinguer a priori les échantillons biologiques qui ont une bonne valeur diagnostique de ceux d'interprétation difficile, donc de médiocre valeur diagnostique. Pour une analyse à but épidémiologique, les échantillons utiles sont ceux provenant du revêtement superficiel ou d'aspirations trachéales par exemple, à condition que les bactéries à rechercher soient bien spécifiées et qu'une méthodologie stricte soit utilisée. La distinction entre ces deux grands types d'échantillons biologiques conditionne non seulement le mode de réalisation du prélèvement, mais aussi la technique d'analyse microbiologique à utiliser et l'interprétation des résultats.

La réalisation technique du prélèvement et son transport sont souvent complexes et nécessitent de se référer à un guide technique détaillé, édité par le laboratoire d'analyse. De plus, des renseignements administratifs et cliniques ainsi que des données sur les circonstances présidant au prélèvement sont absolument nécessaires pour réaliser une analyse bactériologique de qualité, car de ces renseignements et de la question clairement posée par le clinicien dépend étroitement la stratégie d'analyse utilisée par le bactériologiste.

L'étape de prescription et celle du prélèvement représentent donc deux points critiques qui conditionnent fortement la qualité de l'analyse bactériologique.

**Mots-clés :** Bactériologie - Prescription - Prélèvement - Diagnostic - Épidémiologie.

La réalisation proprement dite d'un examen bactériologique est précédée d'une phase préanalytique qui comporte plusieurs étapes séquentielles :

- la prescription de l'analyse ;
- le geste appelé "prélèvement", destiné à obtenir un échantillon biologique ;
- le conditionnement et le transport de l'échantillon vers le laboratoire d'analyse ;
- le contrôle de la qualité de l'échantillon à l'arrivée au laboratoire d'analyse ;

## PRESCRIPTION DE L'ANALYSE

L'étape de prescription d'une analyse en microbiologie est peu abordée dans la littérature, excepté dans la publication récente du *Référentiel en Microbiologie [REMIC] (3)* réalisée sous l'égide de la Société Française de Microbiologie. On considère implicitement qu'il s'agit d'un acte intellectuel répondant à des règles simples. Le microbiologiste n'est généralement pas associé à cette prescription. En d'autres termes, il ignore fréquemment l'objectif réel de l'analyse. D'un autre côté, il n'est pas exceptionnel que le prescripteur n'ait pas une idée assez pré-

cise de l'information que peut lui apporter réellement l'analyse bactériologique, bien souvent du fait de l'absence de formation spécifique et d'habitudes personnelles de prescription.

L'important, autant pour le clinicien que pour le bactériologiste, est de définir l'objectif de l'analyse, de savoir ce qu'il en attend précisément et d'en avertir très clairement le microbiologiste. En particulier, une question est cruciale pour la réalisation de l'analyse par le bactériologiste : "s'agit-il d'un prélèvement à visée diagnostique ou à visée épidémiologique ?".

En effet, lorsque l'objectif de l'analyse est bien cerné, il va influencer sur la façon dont va être réalisé le prélèvement, sur le type de demande à effectuer vis-à-vis du laboratoire, sur la technique d'analyse microbiologique à mettre en œuvre et sur l'utilisation du résultat fourni par le laboratoire.

## Prélèvements à visée diagnostique

Par définition, ces prélèvements sont ceux destinés à établir le diagnostic étiologique d'une infection suspectée cliniquement. Il s'agit de la majorité des prélèvements adressés à un laboratoire de bactériologie. Même si un prélèvement est réalisé, conditionné et transporté dans des conditions techniques de bonne qualité (voir "Réalisation technique du prélèvement à visée diagnostique"), il sera qualifié de "mauvais" si son utilité diagnostique est faible. Ainsi, de façon manichéenne, il

\* Institut de bactériologie et hôpitaux universitaires de Strasbourg, 67000 Strasbourg.

existe des “bons” et des “mauvais” échantillons biologiques du point de vue de leur utilité diagnostique. Ils sont définis ainsi dès le stade de la prescription, avant toute étape technique de prélèvement.

Pour les prélèvements à visée diagnostique, un échantillon biologique sera considéré comme **bon** si le clinicien peut **affirmer d’avance** que le résultat de l’analyse a de fortes chances d’influer de façon décisive sur la conduite thérapeutique, comme l’institution, le maintien ou l’abandon d’une thérapeutique. Ces échantillons qualifiés de “bons” sont ceux obtenus avec un risque de contamination nul ou très faible à partir de localisations normalement stériles (liquides internes, échantillons peropératoires, par exemple). Il s’agit le plus souvent d’échantillons obtenus par des techniques invasives de prélèvement.

À l’inverse, un échantillon biologique sera considéré comme **médiocre** si le clinicien peut **affirmer d’avance** que cet échantillon a de fortes chances de contenir plusieurs espèces bactériennes. C’est le cas des échantillons obtenus le plus souvent de manière non invasive, c’est-à-dire à partir de la peau, d’une plaie superficielle et de muqueuses. Dans ces conditions, il sera hasardeux d’imputer à l’une de ces bactéries la responsabilité des manifestations pathologiques observées. Il est également tout à fait possible que le pathogène réel ne soit aucune des bactéries obtenues par culture.

Ces échantillons qualifiés de “médiocres” sont donc potentiellement générateurs de traitements antibiotiques inappropriés et parfois abusifs. Si ces prélèvements sont les seuls envisageables chez un patient, il faut se poser la question de savoir s’il y a réellement lieu de les effectuer.

● **Les “bons” échantillons dans le cadre d’une analyse à visée diagnostique.** Sur la base des principes énoncés ci-dessus, on considère habituellement comme de “bons échantillons” le sang pour hémoculture, le liquide céphalorachidien, les liquides internes normalement stériles, le contenu et la coque d’abcès obtenus par ponction, le pus d’oreille moyenne, les biopsies, le liquide de lavage broncho-alvéolaire, le brossage bronchique protégé, les échantillons profonds (biopsie, écouvillonnage) prélevés au cours d’une intervention chirurgicale non septique, les échantillons recueillis plus généralement après piquûre au travers de la peau ou de muqueuse saines et préalablement désinfectées, les urines obtenues chez un patient non sondé et collectées au milieu du jet après nettoyage soigneux de la région adjacente au méat urinaire, les échantillons, quels qu’ils soient, destinés à la recherche de bactéries nommément désignées. C’est, par exemple, le cas des selles pour la recherche de bactéries entéropathogènes.

En ce qui concerne les écouvillonnages de peau, de plaie ou de muqueuses, ils ne représentent des échantillons de bonne qualité que pour la recherche de bactéries nommément désignées et considérées comme des pathogènes : *Chlamydia trachomatis*, gonocoques, *Gardnerella vaginalis*, streptocoques des groupes A et B, *Haemophilus influenzae*, pneumocoques, pour

ne citer que quelques exemples. Dans ce cas, le but de l’examen bactériologique est de rechercher quelques espèces bactériennes considérées comme potentiellement pathogènes au sein de la flore souvent complexe qui colonise la peau, les plaies et les muqueuses. Il s’agit là d’une démarche analytique voisine de celle utilisée pour la mise en évidence de bactéries pathogènes dans les coprocultures ou les expectorations.

L’écouvillonnage à visée diagnostique peut aussi rendre des services dans des cas particuliers :

– Soit pour le recueil et le transport d’échantillons biologiques de qualité, mais présents sous un faible volume chez le patient. C’est le cas des frottais peropératoires (par exemple sur biomatériel implanté) dans des sites qui devraient normalement être stériles. C’est aussi le cas du pus d’oreille moyenne préalablement aspiré stérilement au moyen d’une canule.

– Soit pour la détection d’infection vraie sur une escarre ou un ulcère superficiel. Dans ce cas, la flore superficielle, toujours présente, doit être soigneusement éliminée. Les bactéries responsables de l’infection seront celles qui existent au sein des tissus profonds et qui sont obtenues par analyse de la sérosité issue du fond de la plaie, ou par culture d’une biopsie de ces tissus. Les autres bactéries présentes dans cette ulcération doivent être considérées comme des contaminants d’origine exogène.

● **Les échantillons considérés comme “médiocres” dans le cadre d’une analyse à visée diagnostique.** On considère habituellement comme de “médiocres” échantillons ceux qui contiennent presque toujours naturellement une flore bactérienne et pour lesquels aucune précision n’est fournie quant à la nature précise des espèces bactériennes recherchées. Il s’agit :

– des expectorations, particulièrement chez un patient ayant des antécédents pneumologiques ;

– des biomatériaux traversant la peau comme les tuyaux de redons, les mèches, les lames (à l’exception des cathéters vasculaires) ;

– de la plupart des échantillons obtenus après simple écouvillonnage de peau, de muqueuse, de plaie ou d’ulcération, si aucune précision n’est fournie quant aux bactéries spécifiquement recherchées.

● **Cas particuliers.** Dans des situations cliniques particulières (les nouveau-nés, les brûlés et les patients neutropéniques), des écouvillonnages sans précision sur la nature des bactéries recherchées représentent un indicateur utile pour le diagnostic d’infection. Les données à prendre en considération (**tableau I**) sont la nature de la bactérie colonisatrice, et éventuellement le niveau de colonisation.

**En conclusion,** la qualité d’une prescription à visée diagnostique dépend en premier lieu du choix de l’échantillon à analyser. Cela signifie que le clinicien doit connaître a priori les limites de l’information médicale que lui apportent les résultats fournis par le laboratoire d’analyse pour chaque type d’échantillon biologique.

Face à un syndrome infectieux, de nombreux prélèvements sont souvent effectués pour connaître soit le ou les organe(s)

Situation clinique	Type de prélèvement	Intérêt
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Suspicion d'infection néonatale</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Prélèvements pluri-orificiels multiples, cutanés ou gastriques réalisés dans les douze premières heures suivant la naissance</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Détection d'une colonisation généralisée, témoin d'une infection systémique. Importance de certaines bactéries à haut risque (<i>Streptococcus agalactiae</i>, <i>Escherichia coli</i>, de type capsulaire K1, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Haemophilus influenzae</i> et <i>Haemophilus haemolyticus</i>) ou de la détection d'une autre espèce bactérienne dans le liquide gastrique et de deux autres prélèvements au moins</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Patients neutropéniques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Prélèvements de muqueuses par écouvillonnage</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ La présence de bactéries aérobies strictes comme des <i>Pseudomonas</i>, de <i>Enterobacter</i> spp, de <i>Klebsiella</i>, de <i>Serratia</i> ou d'une colonisation importante des muqueuses (&gt;10<sup>7</sup>/ml) peut être le témoin d'une infection systémique</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Patients brûlés</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Prélèvements des zones lésées par écouvillonnage, ou, mieux, par biopsie, pour suivre l'évolution de la quantité de bactéries et de leur nature</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ L'augmentation du nombre de bactéries par écouvillonnage ou biopsie [<math>&gt; 10^6</math>/g par biopsie] (<i>I</i>) est souvent associée à un sepsis. Leur diminution est corrélée avec l'amélioration clinique N.B. <i>Tous les auteurs ne s'accordent pas sur ce point, notamment en raison de la répartition hétérogène de la flore bactérienne dans les zones brûlées</i></li> </ul>

**Tableau I. Écouvillonnages à visée diagnostique sans précision sur les bactéries à rechercher.**

atteint(s), soit la porte d'entrée de l'infection. Lors de l'interprétation des résultats, il faudra privilégier les données obtenues à partir des "bons" échantillons, et considérer avec beaucoup de prudence et de circonspection celles issues d'échantillons de moindre qualité. C'est pourquoi des prélèvements de type invasif, donnant souvent les meilleurs échantillons, devront être réalisés dès le départ chaque fois que cela sera possible. Si seuls des prélèvements de peau, de plaie superficielle ou de muqueuse sont réalisables, le résultat de leur analyse devra être interprété avec prudence, à moins d'y avoir mis en évidence des bactéries pathogènes spécifiques attendues.

Bien sûr, la qualité technique d'exécution de tous les prélèvements devra aussi être irréprochable.

### Prélèvements à visée épidémiologique

À côté des prélèvements à visée diagnostique, les prélèvements à visée épidémiologique sont par définition ceux destinés à détecter la colonisation de patients par des bactéries potentiellement dangereuses, en raison de leur virulence particulière, ou de leur multirésistance aux antibiotiques, ou de leur résistance à un antibiotique habituellement utilisé pour leur éradication. Ces bactéries sont susceptibles de causer une réelle infection chez le patient lui-même (ou chez son entourage), particulièrement lorsqu'il est fragilisé, et ces infections seront difficiles à éradiquer.

Ces prélèvements à visée épidémiologique ont pour but :

- D'effectuer une épidémiologie descriptive dans une unité de soins. Cette démarche est destinée à connaître l'écologie bactérienne, c'est-à-dire la nature des bactéries habituellement colonisatrices, et leur résistance aux antibiotiques au sein d'un

service donné. Cela permet de redéfinir régulièrement les traitements antibiotiques probabilistes de première intention administrés aux patients avant l'obtention des résultats bactériologiques.

- De réaliser des enquêtes ponctuelles pour apprécier la colonisation de patients par des bactéries nommément désignées. Ces bactéries sont soit celles qui sont connues pour être fréquemment multirésistantes dans un hôpital donné, soit celles qui sont détectées lors d'enquêtes d'épidémiologie descriptive, soit celles qui apparaissent avec une fréquence apparemment accrue lors de prélèvements à visée diagnostique.

La détection de ces bactéries colonisatrices potentiellement dangereuses doit être réalisée dans le cadre strict d'une méthodologie définie avant le commencement de l'enquête épidémiologique. Des recommandations dans ce sens sont éditées par certains C-CLIN (2).

Une très bonne coordination doit exister entre cliniciens et bactériologistes-hygiénistes pour réaliser ces prélèvements de type épidémiologique. Parmi les questions à poser, citons : quelles bactéries sont-elles concernées par la surveillance ? Quels patients seront-ils examinés ? Quelle sera la périodicité des prélèvements ? Quelle sera la durée de l'enquête ? Quel matériel de prélèvement utilisera-t-on ?

Dans cette optique, les prélèvements considérés comme bons sont ceux résultant d'écouvillonnages des sièges de colonisation rapide (peau, muqueuse, plaie, ulcération). Les bactéries spécifiquement recherchées doivent être mentionnées sur la demande d'examen, en précisant qu'il s'agit de prélèvements à visée épidémiologique.

Dans tous les cas, la détection de bactéries préoccupantes d'un point de vue épidémiologique n'est qu'une information passive. Elle doit être suivie de mesures **actives**, qui sont de deux ordres :

- Dans le cas d'une épidémiologie descriptive, la réévaluation des traitements probabilistes.
- Dans le cas d'une enquête destinée à la mise en évidence d'une bactérie nommément désignée, la mise en œuvre des mesures actives d'hygiène : isolement des patients ou contrôle de la procédure de lavage des mains. L'efficacité de ces mesures d'hygiène active est vérifiée par le suivi microbiologique tant des patients colonisés que de ceux non encore colonisés. Afin de pouvoir comparer valablement les données bactériologiques obtenues avant et après la mise en place de ces mesures d'hygiène active, il faut encore insister sur l'importance d'une méthodologie précise de prélèvement (2). Ce prérequis est nécessaire pour que les analyses soient réalisées de façon à répondre au mieux aux attentes du clinicien en termes d'exploration de l'écologie microbienne.

### Pourquoi distinguer les prélèvements à visée diagnostique de ceux à visée épidémiologique ?

La différence entre prélèvements à visée diagnostique et à visée épidémiologique pour la recherche d'une bactérie nommément désignée est résumée dans le **tableau II**. Cette distinction conditionne la prescription, le mode de réalisation du prélèvement, la technique d'analyse microbiologique à utiliser et l'interprétation des résultats.

La distinction entre les prélèvements à visée diagnostique et ceux destinés à réaliser une épidémiologie descriptive peut être moins nette. Cependant, ces deux types de prélèvements doivent être clairement distingués, et la façon de réaliser l'analyse des échantillons destinés à l'épidémiologie descriptive doit être définie d'un commun accord entre cliniciens et biologistes.

**Tableau II.** Différences entre prélèvements à visée diagnostique et à visée épidémiologique.

Prélèvement à visée diagnostique	Prélèvement à visée épidémiologique
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Échantillons :</b> ceux sans contamination externe ; également les écouvillons de peau, plaie, muqueuse, mais uniquement pour des bactéries nommément désignées</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Échantillons :</b> les écouvillons de peau, plaie, muqueuses, les expectorations et biomatériaux traversant la surface cutanée si la bactérie recherchée est bien précisée</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Utilisation de nombreux <b>milieux</b> de culture pour élargir le spectre des bactéries recherchées</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Utilisation d'un <b>milieu</b> sélectionnant la bactérie recherchée</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Antibiogramme :</b> oui, tester plusieurs antibiotiques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Antibiogramme :</b> nombre limité de molécules choisies à tester</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Détection d'<b>une seule colonie :</b> pas forcément le témoin d'une infection</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Détection d'<b>une seule colonie</b> de la bactérie spécifique : significatif</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Utilisation</b> du résultat pour influencer sur l'antibiothérapie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Utilisation</b> du résultat pour prévenir la dissémination bactérienne</li> </ul>

### Comment améliorer la prescription des examens de microbiologie ?

● **Un guide conceptuel.** Un guide concis pour la **prescription** des examens biologiques pourrait être un outil qui s'ajouterait au nécessaire **guide technique** sur la façon de réaliser ces analyses, afin d'optimiser l'ensemble du processus préanalytique.

Ce guide devrait insister sur deux points.

✓ Préciser la question à laquelle correspond la demande d'analyse bactériologique :

– *s'il s'agit d'un prélèvement à visée diagnostique :* diagnostic d'une infection avec signes de localisation, diagnostic étiologique d'un syndrome infectieux sans signe clinique de localisation, recherche d'une porte d'entrée, choix ou suivi d'un traitement anti-infectieux ;

– *s'il s'agit d'un prélèvement à visée épidémiologique :* épidémiologie descriptive à l'échelle d'un patient ou d'un service, épidémiologie pour la recherche de bactéries nommément désignées.

✓ Préciser l'intérêt diagnostique réel que représentent les types de prélèvements le plus fréquemment réalisés, ce qui permettrait de limiter les examens peu utiles et de concentrer les ressources (limitées) du laboratoire de bactériologie vers les analyses les plus profitables au patient, et, d'autre part, de limiter certaines prescriptions abusives d'antibiotiques.

● **La prescription assistée par ordinateur.** Une autre façon d'améliorer la prescription pourrait découler de la prescription connectée, qui se met actuellement en place dans beaucoup d'hôpitaux. Celle-ci devrait se développer en milieu hospitalier dans les prochaines années. L'ordinateur pourrait fournir une assistance à la prescription d'examens microbiologiques par l'intermédiaire d'une série de questions de type oui/non en fonction de l'examen initialement prévu. Cette procédure aurait l'avantage de fournir au bactériologiste tous les renseignements cliniques qui lui sont nécessaires pour mener à bien son analyse, et qui lui font souvent défaut. Des logiciels à cet effet doivent encore être développés.

**En conclusion,** il est indispensable que le clinicien **formule très clairement**, pour lui-même et pour le microbiologiste, **la question** à laquelle il souhaite obtenir une réponse lorsqu'il envoie un échantillon biologique au laboratoire de bactériologie.

En outre, il importe que le clinicien ait **conscience des limites des informations** fournies par les résultats des examens de microbiologie selon les types d'échantillons adressés au laboratoire dans un but diagnostique. En effet, s'il est facile pour le microbiologiste de cultiver des bactéries, il est, en revanche, plus difficile d'en interpréter la signification, particulièrement si l'examen a été réalisé sur un échantillon naturellement au contact de l'environnement (peau, plaie, muqueuse).

En ce qui concerne le **bactériologiste**, il doit se comporter non en simple prestataire de service, mais en partenaire médical en contact permanent avec les cliniciens. Il lui appartient, par exemple, de faire préciser aux cliniciens le sens de leur demande et d'adapter la technique d'analyse en conséquence.

### RÉALISATION TECHNIQUE DU PRÉLÈVEMENT (À VISÉE DIAGNOSTIQUE)

La réalisation du prélèvement bactériologique a des spécificités particulières qui sont liées :

- à la diversité des échantillons à analyser : liquides biologiques, tissus, écouvillonnages, biomatériaux, produits de l'environnement, aliments... ;
- à l'absence fréquente d'informations sur les bactéries à rechercher dans les échantillons biologiques à visée diagnostique.

Des détails précis sur les conditions de prélèvement sont publiés dans divers ouvrages et, en particulier, dans le REMIC (3).

L'objectif du prélèvement (et du conditionnement) est de recueillir des échantillons biologiques ayant conservé jusqu'au moment de leur analyse toutes les propriétés utiles à l'analyse projetée. Ces propriétés sont très diverses :

- conservation de la viabilité des bactéries (celle-ci étant actuellement définie par leur aptitude à croître sur les milieux de culture cellulaires ou axéniques) en cas d'échantillons destinés à la culture ;
- conservation de leur antigénicité en cas d'envoi au laboratoire de lames destinées à l'examen microscopique par immunofluorescence ;
- absence de dégradation de molécules spécifiquement recherchées comme l'ADN en cas d'échantillon destiné à une analyse par amplification génique *in vitro*, comme une **toxine** en cas de recherche spécifique directement dans l'échantillon (toxine de *Clostridium difficile*, par exemple), comme un **antibiotique** dans le cas de sa détection chimique ou fonctionnelle, comme un **anticorps** en cas de dosage sérologique.

#### Réalisation technique des prélèvements

La diversité des sites anatomiques à prélever et des types d'échantillons à analyser rend le prélèvement bactériologique complexe lorsqu'il est à visée diagnostique. Devant cette complexité, un guide des prélèvements microbiologiques (4, 5, 6) doit être mis à la disposition du préleveur pour obtenir des échantillons biologiques de qualité.

De plus, la diversité des bactéries à rechercher rend le prélèvement encore plus complexe.

- Soit il s'agit de rechercher des bactéries, sans aucune précision, et une culture standard sera réalisée ; à titre d'exemple, la culture standard ne permet généralement pas de mettre en évidence les mycobactéries, les *Borrelia*, les *Chlamydia*, les mycoplasmes, les *Treponema* et autres agents de maladies sexuellement transmises, les *Leptospira*, les *Legionella*, les *Coxiella*, les *Rickettsia* ou *Bordetella pertussis*. La recherche de bactéries anaérobies est effectuée selon la nature de l'échantillon biologique, selon la qualité du prélèvement et en cas de demande explicite justifiée.

En fonction de la demande du clinicien, des renseignements cliniques fournis et de l'origine anatomique de l'échantillon, des recherches supplémentaires seront entreprises pour trouver d'autres bactéries potentiellement pathogènes. Même si cette

démarche peut être codifiée a priori par type d'échantillon biologique, les données cliniques sont absolument nécessaires et doivent toujours être fournies et prises en considération.

- Soit il s'agit de rechercher des bactéries nommément désignées comme les anaérobies strictes, les *Chlamydia*, les mycobactéries, les *Legionella* et des bactéries de croissance difficile. Nombre de ces bactéries sont fragiles et requièrent des techniques de prélèvement particulières pour préserver leur aptitude à croître sur des milieux de culture. Là aussi, un guide technique des prélèvements microbiologiques doit être à la disposition du préleveur (4, 5, 6).

Enfin, le volume de l'échantillon et le moment du prélèvement peuvent parfois être importants à prendre en compte.

Certains échantillons sont inutiles pour un examen bactériologique à visée diagnostique : les sondes urinaires, les liquides de colostomie, les tuyaux de redon, les dents, le contenu intestinal et les vomissements.

D'autres échantillons permettent d'obtenir des cultures dont l'interprétation est difficile. Ces prélèvements doivent donc être déconseillés. Il s'agit des lésions buccales superficielles ou gingivales, des escarres, des ulcères variqueux, des lésions gangréneuses superficielles et des abcès périrectaux.

#### Renseignements administratifs et cliniques et données sur les circonstances présidant au prélèvement

De nombreux renseignements sont nécessaires à la réalisation correcte d'une analyse de bactériologie. Ces renseignements et leur intérêt sont résumés dans le **tableau III**.

**En conclusion**, la question posée par le clinicien et la nature des renseignements cliniques et administratifs sont essentiels au bactériologiste pour orienter sa démarche analytique face à un échantillon :

- Quelle bactérie doit-elle être mise en évidence : "toute" bactérie ? Une ou certaines bactérie(s) ? Par conséquent, quels milieux doivent-ils être ensemencés, quelle température, quelle atmosphère, quelle température d'incubation ?
- L'examen microscopique est-il urgent à communiquer ?
- Faut-il réaliser une numération bactérienne ?
- Dans les bactéries qui ont poussé sur les milieux ensemencés, quelles sont celles qui doivent être prises en considération ?
- Jusqu'à quel niveau de précision l'identification bactérienne doit-elle être poussée ?
- Est-il nécessaire de réaliser un antibiogramme ?

La précision d'identification des bactéries isolées et la décision de réaliser ou non un antibiogramme résultent souvent d'une décision unilatérale venant du biologiste, lorsque des renseignements cliniques pertinents font défaut.

En retour, le fait de réaliser ou non un antibiogramme peut avoir une influence sur la conduite thérapeutique du demandeur de

Renseignements sur la feuille de demande	Intérêt de ces renseignements
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Données administratives du patient : nom, prénom, sexe, date de naissance, adresse, coordonnées administratives ou hospitalières</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Donner le résultat au bon malade, comparaison de résultats entre eux, remboursement, contrôle interne (exemple : pas de frottis vaginal chez un homme), contrôle de la vraisemblance d'un résultat selon l'âge et le sexe d'un patient, traçabilité</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Nom, qualité et signature du prescripteur et éventuellement du préleveur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Adresser le résultat au prescripteur et avoir des renseignements précis en cas de non-conformité de l'échantillon, traçabilité</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Date et heure exactes du prélèvement et mention d'incidents éventuels lors de celui-ci</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Contrôler le délai d'acheminement au laboratoire, ce qui conditionne la qualité de l'échantillon, traçabilité</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Nature exacte de l'échantillon et type(s) d'analyse demandé(s)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Préciser s'il s'agit de prélèvements à visée diagnostique ou épidémiologique Ces données conditionnent de façon majeure le niveau d'identification des bactéries isolées, la réalisation d'une recherche de bactéries particulières, la réalisation ou non d'un antibiogramme, la facturation des actes d'analyse</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Renseignements cliniques : traitement antibiotique, immunodépression</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Ces données conditionnent également de façon majeure le niveau d'identification des bactéries isolées, la recherche de bactéries particulières, la réalisation ou non d'un antibiogramme</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Notion de voyage en pays exotique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Notion obligatoire en vertu de la circulaire DGS du 24 décembre 1996 concernant les fièvres hémorragiques à virus Ebola au Gabon</li> </ul>

**Tableau III. Intérêt des renseignements nécessaires à la réalisation d'une analyse bactériologique.**

l'examen. Il faut donc veiller à maintenir ou à créer une interaction mutuelle entre prescripteur et réalisateur des examens bactériologiques afin de potentialiser la qualité de la prescription à visée bactériologique.

### MATÉRIEL ET CONDITIONS DE TRANSPORT

Le présent chapitre concerne plus particulièrement les établissements hospitaliers où les prélèvements doivent habituellement être acheminés d'un service clinique vers un laboratoire à l'aide d'un système de coursiers ou de transporteurs automatiques.

Le prélèvement devra avoir été réalisé avec le matériel ad hoc décrit dans le guide technique fourni au préleveur par le laboratoire. Pendant toute la durée du transport, les éléments à analyser devront avoir conservé l'ensemble des qualités nécessaires à l'analyse.

Les échantillons doivent être transportés rapidement selon les recommandations d'un guide technique de prélèvement.

La température de transport est également cruciale. Certains échantillons doivent être transportés à température "ambiante", c'est-à-dire autour de 20-25 °C, d'autres à + 4 °C, d'autres à - 20 °C ou - 70 °C et d'autres enfin, comme les liquides céphalorachidiens, plutôt à 35 °C, selon les indications du guide technique de prélèvement.

Enfin, l'acheminement d'échantillons biologiques par voie postale doit satisfaire aux conditions réglementaires qui sont très strictes, afin d'éviter la contamination de l'environnement et des personnes en cas de bris de l'échantillon biologique transporté.

### ACCUEIL DES ÉCHANTILLONS AU LABORATOIRE ET GESTION DES NON-CONFORMITÉS

À l'arrivée au laboratoire, les échantillons biologiques doivent être vérifiés. Les non-conformités éventuelles doivent être détectées et un traitement spécifique doit leur être appliqué. Ces non-conformités sont nombreuses en raison des contraintes multiples qui pèsent sur l'obtention d'échantillons de qualité.

Toute constatation de non-conformité doit figurer sur le compte-rendu de résultat. Certaines non-conformités peuvent entraîner le refus de réaliser l'analyse microbiologique. La façon dont une non-conformité a été gérée doit être précisée par écrit sur la réponse fournie au prescripteur. La date, l'heure et les interlocuteurs ayant contribué à régler le problème doivent également être mentionnés.

### CONCLUSION

La phase préanalytique en bactériologie est complexe. Les réflexions présentées dans cet article peuvent aider les biologistes à gérer la qualité de cette phase selon les dispositions légales du "Guide de Bonne Exécution des Analyses Médicales" (GBEA). L'amélioration de la qualité des échantillons passe par la communication entre préleveurs et biologistes. La diffusion auprès des cliniciens d'une formation spécifique et de documents techniques et en vue de la prescription est un des moyens de favoriser cette interpénétration des savoirs. On peut légitimement se demander si le "certificat de préleveur" ne devrait pas dépasser les simples notions qui concernent le sang capillaire et veineux afin d'intégrer les données complexes propres à la bactériologie ou, plus généralement, à la microbiologie. Dans les services cliniques, la façon de prescrire et

de réaliser un prélèvement pour analyse bactériologique devrait faire l'objet d'une communication particulière, gérée en commun par les microbiologistes et les cliniciens. ■

## R É F É R E N C E S B I B L I O G R A P H I Q U E S

1. Bharadwaj R., Joshi B.N. Phadke S.A. Assessment of burn wound sepsis by swab, full thickness biopsy culture and blood culture : a comparative study. *Burns Incl Therm Inj* 1983 ; 10 : 124-6.
2. Brückner G., Beaucaire G., Bouvet E. Fiches de recommandations : maîtrise de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. C-CLIN Paris-Nord,

ISBN:2-910844-04-8, Institut biomédical des Cordeliers, 15, rue de l'École-de-Médecine, Paris, 1998.

3. Groupe REMIC de la Société Française de Microbiologie. *Le REMIC : référentiel en microbiologie médicale (bactériologie et mycologie)*, 1<sup>re</sup> édition, 2M2-Édition et Communication, Montmorency, France, 1998.

4. Isenberg H.D. *Clinical microbiology procedures handbook*. Vol. 1 et 2, Isenberg H.D. ed. American Society for Microbiology, Washington DC, 1994.

5. Miller J.M. *A guide to specimen management in clinical microbiology*. Second edition, American Society for Microbiology, Washington DC, 1999.

6. Piemont Y., Ghnassia J.C. *Analyses de bactériologie et de virologie*. In : *Échantillons biologiques : phase préanalytique et prélèvements en biologie médicale*, J.C. Ghnassia ed., pp.183-227, collection Option Bio, éditions Elsevier, Paris, 1998.

# FMC

### I. Parmi les propositions suivantes, trois sont exactes. Lesquelles ?

- a. la prescription d'un examen bactériologique est un acte pour lequel une formation particulière est nécessaire
- b. il est possible de distinguer a priori quels sont les prélèvements utiles à réaliser de ceux qui le sont peu ou pas du tout
- c. toute donnée bactériologique fournie après culture d'un échantillon biologique est utile au clinicien
- d. il est inutile de différencier dès l'étape de prescription les prélèvements destinés au diagnostic d'infections cliniquement suspectées de ceux à visée épidémiologique
- e. chaque prélèvement bactériologique doit être réalisé en vue d'un objectif précis, et non pour accumuler des données utiles à tout hasard

### II. Quelles sont les trois propositions exactes ?

*Les prélèvements de peau, de plaie, de muqueuses, d'expectoration ou d'aspirations trachéales :*

- a. sont toujours utiles car du fait de la variété des bactéries isolées et de leurs antibiogrammes respectifs ainsi disponibles, un traitement antibiotique adapté peut être prescrit à l'occasion d'une poussée fébrile
- b. sont destinés aux prélèvements à visée épidémiologique

- c. sont inutiles pour les prélèvements à visée épidémiologique
- d. ne doivent être utilisés que pour rechercher un nombre restreint d'espèces bactériennes
- e. sont de bons indicateurs d'infection systémique chez les nouveau-nés

### III. Quelles sont les réponses exactes ?

*La réalisation d'un prélèvement bactériologique présente des difficultés qui sont dues à :*

- a. la variété des sites anatomiques à prélever
- b. la variété de l'origine des échantillons à analyser : homme, animaux, environnement, aliment
- c. la variété des espèces bactériennes pour lesquelles il faut assurer le maintien des propriétés nécessaires à l'analyse (vitalité, acides nucléiques, antigènes, anticorps)
- d. la nécessaire adéquation entre le matériel de prélèvement et la façon dont le laboratoire réalise techniquement l'analyse bactériologique
- e. l'ignorance où se trouve habituellement le préleveur des espèces bactériennes présentes dans l'échantillon prélevé, et donc des conditions optimales de prélèvement, de conditionnement et de transport

Voir réponses page 53