

MANUEL DE PRELEVEMENT EN BACTERIOLOGIE

Laboratoire de Biologie Clinique

Centres hospitaliers du groupe JOLIMONT



JLNT-MI-MQ001 version 02
Date d'application : 12/10/2020

Contacts :

- Laboratoire de Microbiologie : 064/234093 ou 4095
- Biologistes responsables du secteur à JOLIMONT : Dr Ciupilan Nélida et Mme Djuidjé Clémence
- Hygiène Hospitalière : Natacha Houdart 064/234938 Julie Deneyer 064/231850
Brigitte Chennevier 067/885219

Rédacteur : C. DJUIDJE YUEMO	Vérificateur : C. DJUIDJE YUEMO	Approbateur : KHUU NGOC DUNG
---------------------------------	------------------------------------	---------------------------------

TABLE DES MATIERES

I. PRINCIPES GENERAUX A APPLIQUER A TOUS LES ECHANTILLONS	5
I.1 Demande d'analyse.....	5
I.2 Méthode de prélèvement	5
I.3 Transport vers le laboratoire.....	5
II. HEMOCULTURES	6
II.1 Hémocultures simples ou classiques	6
II.2 Suspicion d'endocardite infectieuse :	7
II.3 Hémocultures appariées pour le diagnostic d'un dispositif intravasculaire (KT centrale, chambre implantable,...).....	7
III. URINES	9
III.1 Nombre de prélèvements.....	9
III.2 Cause de contamination	9
III.3 Conservation	9
III.4 Prélèvement.....	9
IV. DIAGNOSTIC DES INFECTIONS DU TRACTUS RESPIRATOIRE SUPERIEUR.....	13
IV.1 Pharyngites :	13
IV.2 Laryngites :	13
IV.3 Epiglottites.....	13
IV.4 Sinusites :	13
V. DIAGNOSTIC DES INFECTIONS DU TRACTUS RESPIRATOIRE INFERIEUR	14
V.1 Expectorations	14
V.2 Aspiration Endo-tracheale	14
V.3 Lavage broncho alvéolaire (LBA).....	15
V.4 : autres prélèvements	15
VI. ZONE O.R.L. ET OEIL.....	16

VI.1 Gorge	16
VI.2 Nez.....	16
VI.3 Oreille	16
VI.4 œil.....	17
VII. LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN	18
VII.1 Ponction lombaire	18
VII.2 Drain ventriculo péritonéal	18
VIII. LIQUIDES DE PONCTIONS AUTRE QUE LCR.....	19
VIII.1 Ponction pleurale, articulaire,ascite,.....	19
VIII.2 Ponction péritonéale	19
VIII.3 Ponction de moelle osseuse.....	19
IX. LIQUIDES DE DRAINS.....	20
Drain de Redon.....	20
X. BIOPSIES	21
XI. LESIONS ET SUPPURATIONS CUTANÉES.....	22
XI.1 Plaies infectées (Chirurgicales ou traumatiques).....	22
XI.2 Escarres et ulcères	22
XI.3 Cellulite.....	23
XI.4 Pus,liquides.....	23
XII. TRACTUS URO GENITAL FEMININ.....	24
XII.1 Sécrétions vaginales	24
XII.2 Bartholinite	24
XII.3 Col utérin	24
XII.4 Locchies.....	24
XII.5 Urètre	24
XII.6 Stérilet	24
XIII. TRACTUS URO GENITAL MASCULIN.....	26

Urètre	26
XIV. CATHETERS	27
XIV.1 Prélèvements :	27
XIV.2 Indications de prélèvement :	27
XIV.3 Mode opératoire.....	27
XV. SELLES	28
XV.1 Indications de la demande	28
XV.2 Prélèvement.....	28
XV.3 Recherche de bactéries multi résistantes (ex : BLSE, CPE)	28
XVI. RECHERCHES DE MYCOBACTERIES	29
XVI.1 Remarques importantes	29
XVI.2 Volumes et quantités requis	29
XVI.3 Prélèvement non acceptés par le laboratoire.....	29
XVII. PRELEVEMENTS NEO-NATAUX	30
XVII.1 Principes.....	30
XVII.2 Liquide gastrique.....	30
XVII.3 Prélèvements périphériques	30
XVII.4 Frottis placentaire	30
XVIII. ANNEXES	31
XIX. FICHES PRE ANALYTIQUES.....	35
XX. REFERENCES	52

I. PRINCIPES GENERAUX A APPLIQUER A TOUS LES ECHANTILLONS

Première phase de l'analyse bactériologique, la bonne exécution du prélèvement et le respect des conditions optimales de transport conditionnent tout le déroulement de la technique en aval.

I.1 Demande d'analyse

La demande doit comporter des **données communes** à toutes les demandes de biologie clinique :

- identité du patient : nom, prénom, date de naissance
- identité du prescripteur : nom, prénom, adresse, n° INAMI, signature
- date de la prescription
- date et heure du prélèvement

Elle doit également comporter des **données spécifiques à la bactériologie** :

- nature du prélèvement
- le cas échéant, site anatomique et nature de la lésion
- la méthode de prélèvement employée si elle n'est pas usuelle
- les circonstances épidémiocliniques amenant la demande
- tout traitement antibiotique récent (local ou général)

Ces renseignements permettent d'améliorer la qualité de l'analyse, par exemple, en élargissant la recherche vers certaines espèces pathogènes à priori inhabituelles dans un contexte standard.

I.2 Méthode de prélèvement

Les précautions universelles s'appliquent bien évidemment à la réalisation des prélèvements bactériologiques.

En outre, les prélèvements pour la microbiologie doivent être effectués dans les meilleures conditions d'asepsie possibles.

Il est capital de récolter une quantité suffisante d'échantillon avant la mise en route de toute antibiothérapie.

Ne jamais utiliser de fixateur de type formol ou liquide Bouin.

Ne jamais congeler l'échantillon : la congélation diminue drastiquement le taux de positivité de la culture.

I.3 Transport vers le laboratoire

Toutes les propriétés utiles à l'analyse doivent être conservées jusqu'au moment de l'analyse.

C'est pourquoi il est si important d'adresser le prélèvement dûment identifié le plus rapidement possible au laboratoire (idéalement endéans les deux heures qui suivent le

prélèvement). Tout retard de mise en culture favorise la multiplication de contaminants et diminue les chances d'isoler un pathogène fragile.

II. HEMOCULTURES

II.1 Hémocultures simples ou classiques

Le sang est normalement stérile. L'hémoculture permet de faire le diagnostic d'une bactériémie ou d'une fongémie. Ces dernières sont définies par la présence de bactéries ou de champignons dans le sang.

1. Quand prélever une hémoculture ?

2. Devant tout symptôme clinique et de préférence avant tout antibiothérapie

- Devant toute fièvre prolongée et inexplicée, surtout si elle est accompagnée de signes cliniques de sepsis
- A tout moment, indépendamment d'un pic fébrile, à distance de l'administration d'antibiotiques ou antifongiques.
- La survenue de frissons, de marbrures ou de sueur
- Une hypothermie
- Suspicion d'endocardite
- Tout trouble de coagulation sanguine, tel un purpura.
- Lors de chocs non expliqués
- Indications médicales particulières : signes cliniques ou biologiques de sepsis, avant une antibiothérapie....

3. Combien en prélever ?

- Deux à trois paires de flacons (aérobie/anaérobie)
- **Il est inutile de prélever plus de 3 paires par jour (24h), cela n'apporte aucune valeur ajoutée.**

Le prélèvement par ponction unique des 4 à 6 flacons est à privilégier car réduit sensiblement le risque de contamination et donc de faux positifs. Pas d'hémoculture de suivi si le patient reste fébrile après le résultat initial pendant 72 heures. Si bactériémie à gram positif, prévoir un contrôle d'hémoculture (1 paire) toutes les 48 heures jusqu'à négativation.

4. Comment prélever des hémocultures simples (ou classiques)?

- Hygiène des mains !!
- Repérage du point de ponction

- Enlever le capuchon du flacon et désinfecter le bouchon de caoutchouc avec un tampon imbibé de chlorhexidine alcoolique 0.5 %.
- Désinfecter le site de ponction avec un tampon imbibé de chlorhexidine alcoolique 0.5% de manière concentrique par rapport au site de ponction et répéter ce geste une deuxième fois. Temps de contact entre chlorhexidine alcoolique 0.5% : 30 secondes.
- Ne pas souffler mais laisser sécher naturellement.
- Ne pas toucher à nouveau le site de ponction.
- Enfiler des gants à usage unique
- Effectuer le prélèvement par ponction veineuse.
- Connecter le flacon via l'Holder, prélever 10 à 15 ml pour chaque flacon chez le patient adulte. Pour un enfant de moins de 36kg, un volume de 5 ml est suffisant.
- **Remarques :**
 1. Maintenir l'asepsie rigoureuse durant tout le prélèvement
 2. Pour les prélèvements au niveau d'un robinet, bien désinfecter l'orifice
 3. Attention aux manipulations via une seringue : maintenir l'asepsie (éviter de parler, tousser... lors du prélèvement pour éviter les contaminations secondaires du flacon)
 4. **En cas de prélèvements multiples, commencer par l'hémoculture**
 5. **Les flacons doivent arriver au laboratoire dans les 3 heures, ne jamais placer les flacons au frigo ni avant ni après le prélèvement.**

☞ TERMINER LA TECHNIQUE PAR L'HYGIENE DES MAINS

II.2 Suspicion d'endocardite infectieuse :

Prélever 3 paires d'hémocultures sur 24h par ponction veineuse périphérique, espacées d'une heure minimum, de préférence avant tout antibiothérapie. Et préciser sur la demande qu'il y a une suspicion d'endocardite.

II.3 Hémocultures appariées pour le diagnostic d'un dispositif intravasculaire (KT centrale, chambre implantable,...)

REMARQUES

Pour que ce prélèvement soit effectué, il faut qu'il y ait une suspicion clinique de septicémie liée au cathéter de voie centrale (il s'agit donc d'une décision médicale).

MODE OPERATOIRE :

- Hygiène des mains et port de gants à usage unique
- Remplissage des 4 flacons avec un **volume de sang identique (de 8 à 10 ml/flacon) comme suit :**

- Prélever UNE hémoculture (*chez les adultes, DEUX FLACONS ! !!*) par le cathéter suspecté
- Marquer sur chaque flacon le site de prélèvement : **KT**
- Immédiatement après, prélever UNE hémoculture (*chez les adultes, DEUX FLACONS ! !!*) par une ponction veineuse périphérique (qui peut être un cathéter périphérique ou artériel aux soins intensifs)
- Marquer sur chaque flacon le site de prélèvement : **PER**
- Imprimer les bons de demande adéquats : **Faire sortir les demandes adéquates par le système informatique :**
Choisir BACTERIOLOGIE
Choisir HEMOCULTURES
Choisir HEMOCULTURES APPARIEES POUR INFECTION CATHETER
Suivre les indications données par les écrans suivants
- Placer chaque paire de flacons dans un sac en plastique avec le bon de demande correspondant et envoyer au laboratoire comme d'habitude

AVERTISSEMENT :

- Si les flacons ne portent pas d'indication, le prélèvement sera considéré comme une hémoculture simple et aucune interprétation ne pourra être donnée.
- **Il faut OBLIGATOIREMENT indiquer sur chaque flacon le code qui permet de savoir où il a été prélevé : KT et PER.**

ATTENTION à ne rien indiquer sur le code-barres du flacon !!!

Si les flacons ne portent pas d'indication, le prélèvement sera considéré comme une hémoculture simple et aucune interprétation ne pourra être donnée.

Diagnostic des infections disséminées à Mycobactéries, chez le patient immunodéprimé : 2 à 4 flacons Myco/F Lytic (bouchon rouge) par jour sur plusieurs jours. Ce type de flacons se trouve au laboratoire de Microbiologie.

Hémoculture pédiatrique : Les flacons aérobies pédiatriques (Peds, bouchon rose) sont destinés au diagnostic des bactériémies chez les nouveau-nés et les enfants : une seule HC. Le volume du sang prélevé doit être adapté au poids de l'enfant (de 1 à 5 ml).

III. URINES

III.1 Nombre de prélèvements

Chez les patients *symptomatiques*, un échantillon est généralement suffisant pour le diagnostic.

En cas de *suspicion de tuberculose* rénale, 3 échantillons consécutifs seront nécessaires (1 échantillon par jour).

Quantité nécessaire : un minimum de 10 ml est indispensable. La quantité minimale pour la recherche de BK (Bacille de Koch) est de 40 ml.

III.2 Cause de contamination

Bien que l'urine soit normalement stérile ou soit colonisée de manière transitoire par de petites quantités de bactéries, la contamination des urines par des bactéries normalement présentes dans l'urètre ou dans la région péri-urétrale peut causer la prolifération de ces bactéries qui seront à l'origine d'erreurs d'interprétation des cultures.

C'est pourquoi chez tous les patients mais en particulier chez les femmes, il existe un risque important de contamination par la flore périnéale. Comme le laboratoire effectue une numération des germes, il est capital que le prélèvement soit effectué avec le plus grand soin pour que l'échantillon soit parfaitement représentatif du contenu de la vessie.

C'est pourquoi le laboratoire doit être informé de la technique de prélèvement pour tenir compte d'une contamination possible.

III.3 Conservation

L'urine conservée à température ambiante est le siège d'une croissance bactérienne à la fois des pathogènes et des contaminants.

En effet, beaucoup d'espèces de bactéries ne survivent pas à un délai prolongé avant la mise en culture. En revanche, des bactéries plus résistantes qui se multiplient rapidement peuvent submerger la culture de bactéries plus lentes. **Il est donc capital que les échantillons envoyés au laboratoire pour culture soient traités le plus rapidement possible à savoir dans les 2 heures qui suivent le prélèvement.**

III.4 Transport.

Afin d'éviter toute prolifération bactérienne, le transport au laboratoire doit se faire en moins de 2h. Au delà de ce délai, les urines doivent être conservées dans des flacons contenant de l'acide borique, agent bactériostatique permettant la conservation des urines à température ambiante pendant 24h. Pour cela il faudrait au minimum, une quantité urinaire de 5 à 10 ml afin d'éviter un effet bactéricide de l'acide borique.

III.4 Prélèvement

1.1 URINES EMISES PAR VOIE NATURELLE

1° TOUJOURS prélever la **1^{ère} urine du matin** parce que c'est à ce moment que l'urine est la plus concentrée. En effet, l'excrétion des germes et de diverses substances chimiques varie au cours de la journée.

2° TOUJOURS effectuer la **toilette soigneuse** de tout le périnée chez la femme et du gland chez l'homme : se laver hygiéniquement les mains puis nettoyer la région génitale (méat urinaire et région génitale de l'avant vers l'arrière) à l'aide d'une eau savonnée ou d'une **compresse stérile** imbibée de chlorexidine alcoolique 0.5% et rinçage soigneux à l'eau.

- chez un **patient autonome**, cette toilette sera effectuée par lui-même : faire respecter le plus soigneusement possible par le patient les consignes de toilette avant le prélèvement

- chez le **patient alité** elle sera effectuée par le soignant

3° l'urine sera ensuite récoltée :

- chez le **patient autonome** : à la toilette, directement dans le récipient stérile, en appliquant, si possible, la technique du « mi-jet » :

prélever l'échantillon après qu'une partie de l'urine ait été émise. La première fraction du jet élimine la plupart des contaminants de l'urètre. La fin du jet représente la flore de la vessie.

- chez le **patient alité** : dans un godet stérile placé dans la panne ou dans la chaise percée et dont le contenu sera transvasé dans le récipient stérile par le soignant

Les pots disponibles sont soit les pots « classiques » ou les pots avec canules de transfert intégré (voir mode d'emploi en annexe).

4° urine recueillie par cathétérisme (sondage « in/out ») :

Le prélèvement d'urine directement par cathétérisation urétrale est associé à un petit risque de bactériurie parce que la flore urétrale peut être entraînée dans la vessie pendant l'insertion du cathéter.

Il ne peut être réalisé que sur ordre médical et seulement s'il n'y a pas d'autre moyen d'obtenir de l'urine (ex. : patient confus ou incontinent).

5° Remarques :

- **Les urines qui restent à température ambiante sont le siège d'une prolifération bactérienne qui fausse complètement l'interprétation du résultat.**

Il est donc impératif d'amener les prélèvements au laboratoire dans un délai maximum de 2 heures. Si l'urine doit séjourner dans le service, elle sera stockée à 4° pendant un maximum de 4 heures.

- **Ne jamais envoyer pour culture l'extrémité d'une sonde** car d'une part elles sont toujours le siège d'une prolifération bactérienne, et d'autre part en l'enlevant, on entraîne les bactéries toujours présentes dans l'extrémité distale de l'urètre, donc, le résultat de la culture est faussé d'avance.

1.2 URINES PRELEVEES PAR PONCTION SUPRA-PUBIENNE

Cette technique évite la contamination de l'urine par les bactéries du périnée ou de l'urètre. Les cas pour lesquels elle est le plus fréquemment utilisée sont

1. les enfants, pour confirmer des résultats positifs obtenus par un sac adhésif. Cependant il est impératif d'effectuer un nettoyage soigneux de la région périnéale surtout chez les enfants porteurs de langes qui hébergent une flore fécale et cutanée abondante dans toute la région couverte par le linge.
2. chez les patients avec lésion de la moelle épinière
3. les patients pour qui il n'a pas été possible d'obtenir un prélèvement de bonne qualité par aucune autre technique.
4. le diagnostic des infections urinaires par germes anaérobies

1.3 URINES PRELEVEES PAR UN MATERIEL IMPLANTE

Remarque :

1. Les patients porteurs de sondes à demeure sont généralement colonisés après 48 à 72 heures par de multiples germes.
Traiter, en routine, des échantillons d'urine de patients porteurs de sondes à demeure n'a donc pas ou peu de valeur sauf à titre épidémiologique puisqu'un grand nombre de pathogènes potentiels sont communément isolés chez ces patients.
2. Il ne faut jamais déconnecter la sonde du sac pour prélever l'urine ni envoyer le contenu du sac pour culture.

1.3.1 Sonde vésicale à demeure avec collecteur et opercule de prélèvement

Clamper 30 minutes.

Désinfecter l'opercule.

Piquer avec une aiguille sous-cutanée montée sur une seringue de 10ml.

Injecter le contenu de la seringue dans le récipient stérile.

Ne jamais envoyer pour culture l'extrémité d'une sonde car :

1° elles sont toujours le siège d'une prolifération bactérienne

2° en l'enlevant, on entraîne les bactéries toujours présentes dans l'extrémité distale de l'urètre, donc le résultat de la culture est faussé d'avance.

1.3.2 Cathéter sus-pubien (Cystofix)

Le problème est qu'il n'y a pas de robinet.

L'idéal est de connecter un collecteur vidangeable avec opercule de prélèvement.

Ensuite la situation est identique à celle qui est décrite au point précédent.

S'il n'est pas possible de connecter un collecteur avec opercule, la culture est à éviter.

Si elle est absolument indispensable, clamper puis procéder comme au point précédent.

1.3.4 Néphrostomie

- Désinfecter le robinet.
- Hygiène des mains
- Prélever via le robinet à l'aide d'une seringue dont on injecte le contenu dans un récipient stérile.
- A nouveau bien désinfecter le robinet avant de reconnecter.
- Hygiène des mains

1.3.5 Urétérostomie (Briker)

- Enlever la poche.
- Hygiène des mains
- Nettoyer et désinfecter la stomie.
- Introduire environ 2cm d'une petite sonde in/out et collecter l'urine dans le récipient stérile.
- Hygiène des mains

1.4 URINES PRELEVEES CHEZ LES ENFANTS

1.4.1 Enfants de plus de 3 ans :

Sous la supervision d'un adulte et après toilette soignée, les enfants de plus de 3 ans sont capables d'uriner dans un récipient. Il ne sera sans doute pas possible de respecter la règle du mi-jet mais son effet sur la qualité du résultat est discuté chez les enfants.

1.4.2 Poche adhésive :

Elle est utilisée chez les bébés et les enfants de moins de 3 ans qui ne sont pas encore capables d'une bonne maîtrise des sphincters.

Si une poche adhésive doit être utilisée, il est impératif de bien nettoyer au préalable la région périnéale, surtout en cas de diarrhée. La poche **ne peut pas rester en place plus de 30 minutes** sinon il faut l'enlever et recommencer avec un risque d'irritation et de douleur. Ce type d'échantillon doit être acheminé rapidement au laboratoire.

1.4.3 Ponction sus-pubienne

Chez les enfants, c'est la méthode de choix pour obtenir un échantillon exempt de toute contamination. Mais c'est un prélèvement difficile à réaliser et douloureux.

1.4.4 Remarques

- Les urines qui restent à température ambiante sont le siège d'une prolifération bactérienne qui fausse complètement l'interprétation du résultat.

Il est donc impératif d'amener les prélèvements au laboratoire dans un délai maximum de 2 heures. Si l'urine doit séjourner dans le service, elle sera stockée à 4° pendant un maximum de 12 heures.

- Ne jamais envoyer pour culture l'extrémité d'une sonde car d'une part

Elles sont toujours le siège d'une prolifération bactérienne, et d'autre part

En l'enlevant, on entraîne les bactéries toujours présentes dans l'extrémité distale de l'urètre, donc, le résultat de la culture est faussé d'avance.

IV. Diagnostic des infections du tractus respiratoire supérieur

Elles sont subdivisées en pharyngites, laryngites, épiglottites et sinusites.

IV.1 Pharyngites :

La majorité des infections est d'origine virale et dans ce cas un prélèvement n'est pas utile. Dans le cas où cela s'avère vraiment nécessaire, veuillez contacter le biologiste.

Bactéries :

le Str. Pyogenes (Gr. A) est le principal agent pathogène bactérien de la pharyngite.

Comment prélever ?

Le prélèvement doit être réalisé avant tout antibiothérapie !!!

- Hygiène des mains.
- Utiliser un abaisse langue afin d'éviter une contamination salivaire , Demander au patient de dire « ah » puis effectuer un frottis de gorge en frottant soit les amygdales soit toute autre lésion suspecte.
- En présence d'un phlegmon, celui-ci doit être ponctionné, et le pus obtenu doit être traité comme une suppuration profonde.
- Hygiène des mains

Transport de l'écouvillon : le plus rapidement possible au laboratoire, ne pas le conserver au frigo.

Remarque : la culture est la méthode de référence pour la détection des Streptocoques pyogenes.

IV.2 Laryngites :

Toujours virale : si un diagnostic est nécessaire, veuillez contacter le biologiste.

IV.3 Epiglottites

Ne pas effectuer de frottis de gorge car le simple attouchement de l'épiglotte enflammée peut précipiter l'obstruction du passage de l'air. L'échantillon de choix est l'hémoculture.

IV.4 Sinusites :

Le prélèvement de choix est une aspiration à l'aiguille des sinus après décontamination de la cavité nasale. Ne pas utiliser d'écouvillon. Aucun autre prélèvement n'est recommandé.

V. Diagnostic des infections du tractus respiratoire inférieur

V.1 Expectations

L'expectoration est un prélèvement rarement contributif et source d'erreur, car très souvent contaminée par de la salive. L'hémoculture, le lavage bronchique ou l'aspiration trans-trachéale sont plus pertinents.

L'origine des sécrétions du tractus respiratoire inférieur est confirmée par un grand nombre de leucocytes et l'absence de cellules épithéliales classification par type :

- type 1 (T1) : <10 polynucléaires (PN) et >25 cellules épithéliales (CES)/champ
- type 2 (T2) : 10-25 PN et > 25 CES/champ
- type 3 (T3) : > 25 PN et > 25 CES/champ
- type 4 (T4) : >25 PN et 10-25 CES/champ
- type 5 (T5) : 10- 25PN et < 10 CES/champ

Les expectorations de type 1 et 2 ne sont pas mises en culture. Le prélèvement qui a la meilleure qualité est le type 5.

Le prélèvement doit être réalisé avant tout traitement antibiotique, à jeun le matin au réveil, à la suite d'un effort de toux spontané ou induit par la kiné.

Il doit être transporté rapidement au laboratoire (dans les 2h)

Si ce n'est pas possible, le garder au frigo mais savoir ce qui risque de se produire :

- lyse des éléments figurés
- prolifération des germes à croissance facile
- mort des germes plus fragiles (dont les principaux pathogènes recherchés)
- modification de l'examen direct (discordance possible avec culture)

En cas de pneumopathie grave, il est indispensable de compléter par des hémocultures. Celles-ci peuvent être complétées par la recherche d'antigène légionella ou pneumocoque dans les urines.

Un prélèvement unique mais correctement exécuté peut suffire pour le diagnostic de pneumonie.

Il n'existe aucun intérêt de rechercher des germes anaérobies sauf si prélèvement distal par brossage protégé.

V.2 Aspiration Endo-tracheale

ASPIRATION PAR LE TUBE TRACHEAL :

Il y a toujours une colonisation microbienne spontanée donc cet examen présente plus d'**intérêt épidémiologique que diagnostique.**

ASPIRATION D'UNE CANULE DE TRACHEOTOMIE :

Le prélèvement doit être réalisé de manière soigneuse car il est facilement contaminé par la flore oro-pharyngée conduisant à des résultats non pertinents.

En outre, les trachéotomies devenant fréquemment colonisées par des Gram (-), la présence de ces organismes dans une culture ne donne aucun renseignement quant à l'étiologie d'une éventuelle pneumonie.

De ce fait, aucune réelle signification ne peut être attribuée à la présence d'un grand nombre de germes ou de l'association d'un germe avec un phénomène inflammatoire.

V.3 Lavage broncho alvéolaire (LBA)

Le prélèvement est réalisé sous fibroscope par un médecin habilité. Il consiste à instiller des échantillons de sérum physiologique (4 à 6 x 50 ml) afin d'en récupérer une bonne partie.

Le liquide est recueilli dans un pot stérile et **doit être acheminé immédiatement au laboratoire.**

V.4 : autres prélèvements

Les urines fraîchement émises, recueilli dans un flacon avec ou sans conservateur peuvent être adressées rapidement au laboratoire pour la recherche de l'antigène pneumoniae et de Legionella pneumophila de type 1

Les hémocultures : positives que dans 5 à 14 % de cas sont surtout indiquées pour les pneumonies suffisamment graves avec hospitalisation du patient

VI. ZONE O.R.L. et OEIL

VI.1 Gorge

PRECAUTIONS

Effectuer le prélèvement chez un malade exempt de traitement antibiotique général ou antiseptique local récent.

Utiliser un écouvillon avec milieu de transport.

PRELEVEMENT

- Hygiène des mains
- Déprimer la langue à l'aide d'un abaisse-langue.
- Prélever à l'aide d'un écouvillon au niveau du pharynx, des amygdales ou toute autre région enflammée en évitant soigneusement, la langue, les joues, la luette ou les lèvres.

VI.2 Nez

REMARQUES

Le frottis de nez tel qu'il est pratiqué couramment est supposé être réalisé uniquement pour la recherche du portage de MRSA et traité comme tel au laboratoire de bactériologie.

Si un frottis doit être réalisé pour identifier les germes responsables d'un processus infectieux situé dans les fosses nasales ou le rhino-pharynx, on précisera qu'il s'agit d'un « *Frottis de pus nasal ou naso-pharyngé* » ce qui permettra d'orienter la culture vers d'autres germes que le MRSA.

PRELEVEMENT

- Hygiène des mains
- Insérer l'écouvillon avec précaution jusqu'à 1cm dans chaque narine.
- Ecouvillonner le septum en tournant l'écouvillon sur lui-même.
- Laisser 10 secondes en place puis retirer.
- Hygiène des mains

VI.3 Oreille

OTITE EXTERNE

- Hygiène des mains.
- Après élimination des croûtes et autres débris du conduit auditif externe (CAE), recueillir les sérosités à l'aide d'un écouvillon.
- Hygiène des mains.

OTITE MOYENNE AIGUË

L'écouvillonnage doit être proscrit parce qu'il entraîne automatiquement des germes du conduit auditif externe qui rendent difficile l'interprétation de la culture.

Le seul cas où un écouvillon peut être utilisé est celui où le tympan s'est auto-perforé et que le liquide s'écoule dans le CAE.

La méthode de choix est la tympanocentèse surtout chez l'enfant. On prélève dans les deux oreilles en cas d'otite bilatérale.

Après le prélèvement, la seringue bouchée. L'aiguille DOIT être retirée.
Le prélèvement doit être adressé dans les 2 heures au laboratoire

VI.4 œil

Les prélèvements doivent être effectués avant tout antibiothérapie locale ou générale. En cas de diagnostic par PCR, il faut porter des gants sans talc et éliminer la fluorescéine et l'oxybuprocaine éventuellement présent par lavage avec du sérum physiologique stérile car sont des inhibiteurs de PCR.

Conjonctivite

Prélever du pus ou de la sérosité avec un écouvillon au niveau du cul-de-sac lacrymal ou de l'angle interne.

Blépharite

Prélever des croûtes palpébrales et un ou deux cils à l'aide d'une pince stérile.

Orgelet

Après incision, prélever du pus à l'aide d'un écouvillon.

Dacryocystite

Recueillir du pus avec un écouvillon au niveau des points palpébraux après pression sur les sacs lacrymaux.

Ulcère de cornée

Prélever à l'écouvillon après anesthésie locale.

Prélèvements intra-oculaires ou péri-orbitaires

On parle ici de prélèvements per-opératoire. Ils doivent être acheminés dans l'heure qui suit au laboratoire.

VII. LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN

Un examen microbiologique est pratiqué dans le cadre de différentes infections impliquant le système nerveux central : méningite, ventriculite, méningo encéphalites, abcès, empyèmes. Ces infections engagent souvent le pronostic vital du patient.

VII.1 Ponction lombaire

- Respecter des conditions d'asepsie rigoureuse notamment l'hygiène des mains.
- Recueillir le LCR dans 3 tubes coniques stériles à bouchon jaune vissé et **les numérotés 1 à 3**
- La quantité totale nécessaire pour les analyses de routine (chimie, hématologie, bactériologie) est de 2 à 5ml chez l'adulte et 2ml chez l'enfant
- Si des paramètres supplémentaires sont souhaités (BK, Borrelia,...) il est nécessaire de se référer aux informations mentionnées dans Xperthiscare en dessous de chaque analyse demandée.
- Amener le prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire

VII.2 Drain ventriculo péritonéal

- Hygiène des mains
- Prélever le liquide au niveau de l'embout en latex du robinet de vidange proximal après désinfection et manipulation soignée
- Ne pas prélever à partir du sachet de collecte
- **S'il existe une déviation interne, prélever au niveau lombaire ou, à défaut, au niveau du réservoir**
- Hygiène des mains
- Mentionner sur le bon de demande qu'il s'agit d'un liquide de drain VP et non de LCR.
- Amener immédiatement au laboratoire.

VIII. LIQUIDES DE PONCTIONS AUTRE QUE LCR

VIII.1 Ponction pleurale, articulaire, ascite,...

- Respecter une asepsie stricte de la peau :
peau désinfectée « chirurgicalement », gants stériles, champ opératoire, hygiène des mains
- **Privilégier l'utilisation des flacons d'hémocultures en cas de transport retardé ou s'il n'y a que très peu de liquide. Encoder comme un liquide.**
- En dehors des renseignements habituels, indiquer les circonstances cliniques qui ont motivé l'examen.

VIII.2 Ponction péritonéale

- Recueillie par ponction franche ou lors d'une laparoscopie.
- Même si très peu de liquide, utiliser des flacons à hémoculture mais ne pas étiqueter comme hémoculture mais comme ponction.
- Ne pas utiliser d'écouvillon qui ne permet pas la recherche de germes anaérobies.

REMARQUE GENERALE VALABLE POUR TOUTES LES PONCTIONS CITEES CI-DESSUS

Si un examen direct est demandé, envoyer aussi la seringue débarrassée de l'aiguille et munie d'un bouchon adéquat

VIII.3 Ponction de moelle osseuse

L'intérêt de ce prélèvement est de rechercher une Mycobactérie.

Acheminer le prélèvement tel quel dans la seringue **et surtout ne pas l'introduire dans un flacon d'hémoculture classique.**

IX. LIQUIDES DE DRAINS

Il existe peu de données fiables sur l'intérêt de la mise en culture des liquides de drains, excepté pour l'analyse d'un liquide de drain de redon dans le suivi post opératoire de la chirurgie septique.

REMARQUES IMPORTANTES

- Hygiène des mains
- Il est également très important de noter l'origine anatomique du liquide afin de mieux interpréter les résultats de la culture.
- **Il est inutile d'envoyer des fragments de drains : ils ne seront pas mis en culture.**

Drain de Redon

Envoyer le flacon tel quel au laboratoire.

X. BIOPSIES

La même procédure s'applique pour toute biopsie quel que soit le site de prélèvement.

- Hygiène des mains
- Déposer le fragment dans un flacon stérile.
- Ajouter quelques gouttes d'eau physiologique stérile sans excès car trop de liquide diminue la sensibilité de la culture.
- Si le fragment est de taille suffisante (au moins 1cm³, on peut le conserver entre deux compresses de gaze humidifiées et stériles. Ne pas mettre dans une compresse un fragment de très petite taille qui va se perdre dans les mailles du tissu et ne pourra pas être récupéré.
- Pour la recherche de mycoses, prélever un fragment au centre **ET** à la périphérie de la lésion.
- Hygiène des mains
- Envoyer au laboratoire dans un délai de 15 minutes.

XI. LESIONS ET SUPPURATIONS CUTANÉES

XI.1 Plaies infectées (Chirurgicales ou traumatiques)

- Il est capital d'éliminer toute cause de contamination par la flore cutanée environnante.
- Hygiène des mains
- Nettoyer et éliminer les croûtes superficielles à l'aide d'une compresse stérile imbibée d'eau stérile.
- Désinfecter les bords et la surface cutanée aux abords de la plaie
- Enfiler des gants non stériles
- En respectant l'asepsie, faire sourdre le pus du fond de la plaie et le récolter avec un écouvillon.
- Si le volume de sécrétions est suffisant ou s'il existe une collection de pus sous-cutané, prélever le liquide à la seringue plutôt qu'à l'écouvillon.
- Hygiène des mains
- Pour que la culture puisse être correctement interprétée il est nécessaire de mentionner le plus possible de précisions sur le type d'infection et la localisation. Faut de quoi, aucun antibiogramme ne sera réalisé. **Pour la prescription électronique, aller dans l'onglet Microbiologie puis cocher PONCTION-PLAIE-ABCES. Ensuite, suivant la nature du prélèvement, cocher le point adéquat (collection liquidienne, liquide d'abcès, frottis de plaie, etc...)**

XI.2 Escarres et ulcères

REMARQUES IMPORTANTES

Il n'est pas recommandé de pratiquer de prélèvement par frottis dans les plaies chroniques telles qu'ulcères ou escarres.

En effet, elles sont toujours le siège d'une colonisation bactérienne polymorphe à partie de la flore cutanée.

Et, s'il y a toujours colonisation, il n'y a pas nécessairement toujours une infection.

On ne pratiquera un frottis pour ce genre de site que

- **pour raison épidémiologique telle que la recherche de portage de MRSA**
- **parce qu'il y a des signes cliniques locaux (cellulite) ou généraux (température) et qu'un traitement antibiotique par voie générale doit être instauré**

MODE OPERATOIRE

- Hygiène des mains
- laver soigneusement la plaie au sérum physiologique
- éliminer de toute trace de crème ou autre produit désinfectant
- pratiquer un écouvillonnage très profondément sous le bord de l'ulcère pour être bien certain de ne pas contaminer l'écouvillon par la flore cutanée résiduelle.
- si possible, préférer l'aspiration du liquide de suppuration à l'aide d'une seringue.
- Hygiène des mains

XI.3 Cellulite

Il faut désinfecter le site, puis à l'aide d'une seringue et d'une aiguille fine stérile, injecter dans la lésion un peu de sérum physiologique stérile et réaspirer le maximum. Compléter ensuite avec 1 ml de sérum physiologique en rinçant la seringue pour éviter toute dessiccation du prélèvement et boucher stérilement

L'autre possibilité est la réalisation d'une biopsie de la lésion qu'il faut ensuite placer au fond d'un flacon stérile.

XI.4 Pus, liquides

PRINCIPES

Le prélèvement doit être dans des conditions rigoureuses d'asepsie pour éviter toute contamination.

En particulier, il est impératif de désinfecter correctement la peau à travers laquelle on va effectuer le prélèvement.

En fonction du volume de liquide disponible, on recueillera le prélèvement

- sur un écouvillon (très petites quantités) à éviter si possible
- à la seringue à tuberculine (petits volumes)
- à la seringue habituelle (plus grands volumes)

Il n'y a aucun intérêt à aspirer plus de 5ml.

Il est recommandé d'injecter le liquide prélevé dans des flacons à hémocultures immédiatement après le prélèvement de manière à éviter la perte de bactéries fragiles. Eviter le frottis d'un écoulement fistulisé parce que les bactéries présentes à l'orifice de la fistule sont souvent différentes de celles qui sont réellement à l'origine de l'infection.

XII. TRACTUS URO GENITAL FEMININ

XII.1 Sécrétions vaginales

- Specimen prélevé lors d'un examen gynécologique (écouvillon avec bouchon bleu)
- Utiliser un spécimen sans lubrifiant (si possible)
- Prélever à l'aide d'un écouvillon stérile au niveau du cul de sac postérieur ou à un endroit où les sécrétions sont abondantes
- Garder à température ambiante et envoyer au laboratoire le plus rapidement possible
- Pour la recherche de Streptocoque Beta hémolytique du groupe B, frotter le vagin et l'anus avec le même écouvillon.

XII.2 Bartholinite

- Hygiène des mains
- Désinfecter le site de ponction
- Prélever avec une seringue et une aiguille de façon aseptique.
- Transport : soit dans la seringue (si acheminement rapide) après avoir expulsé les bulles d'air, soit injecter dans flacons d'hémocultures.
- Si ponction difficile, effectuer un frottis avec les écouvillons classiques (bouchon bleu).

XII.3 Col utérin

- Hygiène des mains
- Si possible, utiliser un speculum sans lubrifiant
- A l'aide d'un écouvillon, retirer l'excès de sécrétions au niveau vaginal
- Prélever au niveau du col à l'aide du kit Multicollect Abbot.

XII.4 Locchies

- Prélèvement effectué dans le cadre d'une infection post partum
- Prélever les sécrétions à l'aide d'un écouvillon stérile
- Envoyer à température ambiante le plus vite possible au laboratoire.

XII.5 Urètre

- Prélèvement effectué essentiellement pour la recherche de N.Gonorrhoeae et C.Trachomatis.
- Faire le prélèvement au moins 1h après la première miction
- Masser l'urètre contre la paroi du pubis pour tenter d'obtenir un écoulement purulent
- Effectuer le prélèvement à l'aide du kit Multicollect Abbot

XII.6 Stérilet

- Prélèvement utile si suspicion endométrite et s'il faut enlever le stérilet
- Retirer le stérilet de façon aseptique
- Déposer dans un pot stérile

- Garder à température ambiante et envoyer au laboratoire le plus rapidement possible (max 2h)

REMARQUES

- La recherche de N.Gonorrhoeae et C.Trachomatis (par Biologie Moléculaire) peut également être effectué sur des urines :
- Pour cela le patient ne doit pas avoir uriné depuis 1h
- Recueillir 20 à 30 cc d'urine dans un pot à urine classique
- Utiliser le kit Multicollect Abbot
- Dévisser le tube de transport (en prenant garde de pas renverser le tampon) et à l'aide de la pipette, transférez y l'urine.

XIII. TRACTUS URO GENITAL MASCULIN

Urètre

- Prélèvement effectué essentiellement pour la recherche de N.Gonorrhoeae et C.Trachomatis.
- Faire le prélèvement au moins 1h après la première miction
- Masser la portion ventrale du pénis pour tenter d'obtenir un écoulement purulent
- Effectuer le prélèvement à l'aide du kit Multicollect Abbot

REMARQUES

- La recherche de N.Gonorrhoeae et C.Trachomatis (par Biologie Moléculaire) peut également être effectué sur des urines :
- Pour cela le patient ne doit pas avoir uriné depuis 1h
- Recueillir 20 à 30 cc d'urine dans un pot à urine classique
- Utiliser le kit Multicollect Abbott
- Dévisser le tube de transport (en prenant garde de pas renverser le tampon) et à l'aide de la pipette, transférez y l'urine.

XIV. CATHETERS

XIV.1 Prélèvements :

Sont uniquement acceptés :

- cathéter de voie centrale
- cathéter périphérique
- cathéter ombilical
- sonde de Swan-Ganz

XIV.2 Indications de prélèvement :

Il est recommandé de n'envoyer pour mise en culture que les cathéters dont l'ablation est justifiée par des signes locaux ou généraux d'infection.

Il est donc inutile d'envoyer un cathéter qui est retiré définitivement parce que le malade va bien.

XIV.3 Mode opératoire

- Préparer un flacon stérile du type "pot à urines".
- Hygiène des mains
- Désinfecter la peau autour de l'orifice d'entrée.
- Enlever le cathéter et **couper le fragment distal à une longueur de 4 à 5 cm.**
- Laisser tomber ce fragment dans le pot puis refermer soigneusement celui-ci.
- Envoyer rapidement au laboratoire pour éviter la dessiccation du prélèvement.
- Si l'orifice d'entrée démontre des signes d'infection **ET** un écoulement suspect, on peut également pratiquer un frottis de cet écoulement.

Ne jamais perdre de vue que les manipulations effectuées lors du prélèvement peuvent être à l'origine de contaminations diverses dont l'interprétation erronée pourrait induire un traitement inadéquat.

XV. SELLES

XV.1 Indications de la demande

Il n'y a aucun intérêt à demander la recherche d'entéropathogènes (coproculture simple) chez des patients hospitalisés depuis plus de 3 jours. Il en va de même pour les parasites.

La recherche de *Cl. difficile* est indiquée chez un patient hospitalisé ou récemment hospitalisé ou en cas de diarrhée survenant pendant ou après une antibiothérapie. **Seule des selles diarrhéiques seront analysées !**

Ne pas demander l'analyse plus de 3 fois à raison d'un prélèvement par 24h.

La recherche d'*E. Coli entéro-hémorragiques (EHEC)* en cas de diarrhée sanguinolente avec syndrome hémolytique et urémique (SHU) est effectuée uniquement par PCR sur selles ou écouvillon rectal.

Pour être sûr de retrouver des parasites qui ne sont éliminés que de manière intermittente et en quantités fluctuantes, examiner un minimum de 3 échantillons sur une période de 7 à 10 jours.

XV.2 Prélèvement

Les selles sont recueillies dès leur émission dans un récipient propre. Un échantillon (muco-purulent ou sanglant, si possible) du volume d'une noix est prélevé à l'aide d'une spatule ou d'un flacon cuillère puis transféré dans un récipient hermétique.

Un écouvillonnage rectal peut s'avérer utile notamment chez le nourrisson mais il faut s'assurer que le sphincter ano-rectal a été franchi et que l'écouvillon ramène des selles.

Toutefois ce prélèvement ne convient pas pour la recherche de la toxine de *Cl. difficile* ni pour la recherche de parasites.

Il est inutile d'envoyer au laboratoire des selles souillées par l'urine ou recueillies sur du papier de toilette (effet inhibiteur sur certains germes).

Les échantillons qui ne peuvent être envoyés immédiatement doivent être conservés à 4°. Les échantillons desséchés ne peuvent pas être acceptés.

XV.3 Recherche de bactéries multi résistantes (ex : BLSE, CPE)

Les hautes autorités sanitaires belges et internationales recommandent actuellement (au vue de l'épidémiologie mondiale), la détection des bactéries multirésistantes, notamment les BLSE (Beta lactamases à spectre élargie) et les CPE (carbapénémase).

La stratégie de dépistage dans un hôpital est définie par l'équipe d'Hygiène Hospitalière et le laboratoire de Microbiologie. Les patients hospitalisés dans les services à haut risque tel que les soins intensifs sont dépistés 2 x par semaines par frottis rectal. Les unités non à risque n'effectueront un dépistage par frottis rectal qu'après une décision prise par l'équipe d'Hygiène Hospitalière.

Prélèvement : insérer l'écouvillon au niveau de l'anus et frotter la muqueuse de tel sorte que l'écouvillon soit en contact avec les matières fécales.

XVI. RECHERCHES DE MYCOBACTERIES

XVI.1 Remarques importantes

- Ne pas utiliser d'écouvillons pour prélever
- Utiliser un pot stérile, sans fixateur.
- **Ne pas mettre de biopsie sur une gaze**
- Mettre le prélèvement au frigo si celui-ci ne peut arriver en moins d'1h au laboratoire
- Les fragments ou les biopsies peuvent être recouverts d'une **petite quantité** de sérum physiologique.
- Ne pas utiliser de collecte de 24h

XVI.2 Volumes et quantités requis

- Expectorations ou aspirations endotrachéales : 5 ml
- LBA, lavages bronchiques : 5ml
- Tubage gastrique : 5 à 10 ml
- Urine : 40 ml (urine du matin)
- Liquides biologiques (pleurale, péritonéale,...) : 15 ml
- LCR : 2 ml
- Moelle osseuse : 2 ml

XVI.3 Prélèvement non acceptés par le laboratoire

- collecte de 24h
- écouvillons
- prélèvement dans liquide de Bouin ou tout autre fixateur
- Selles

XVII. PRELEVEMENTS NEO-NATAUX

XVII.1 Principes

En cas de suspicion de contamination d'un nouveau-né par des *Str.agalactiae* (groupe B) présents dans la filière génitale, on effectue divers prélèvements immédiatement après la naissance.

Respect hygiène des mains

XVII.2 Liquide gastrique

Aspiration par sonde gastrique

XVII.3 Prélèvements périphériques

Utiliser **UN seul écouvillon pour frotter 2 à 3 sites cutanés ou orificiels** : oreille, anus, pli de l'aîne, narine, ombilic

XVII.4 Frottis placentaire

Utiliser **UN seul écouvillon pour racler la surface du placenta** (face maternelle et face fœtale).

XVIII. ANNEXES

Pot propre : pour le prélèvement d'urines, expectorations,...



Pot avec canule intégré : usage réservé uniquement aux urines



Ecouvillon avec milieu de transport (bouchon bleu)



Hémocultures



Flacon aérobie



Flacon pédiatrique



Flacon anaérobie

LCR



Selles

Pot avec cuillerette



Fragments, Biopsie

Pot stérile, exemple :



Kit Abbot Multicollect : recherche N.Gonorrhoeae et C.Trachomatis



Kit Microtrak : recherche HERPES



FICHE TECHNIQUE TUBES BD VACUTAINER POUR LES PRELEVEMENTS URINAIRES

1) Tube pour le sédiment et examen microscopique (bouchon beige)



2) Tube pour la culture urinaire (bactériologie)

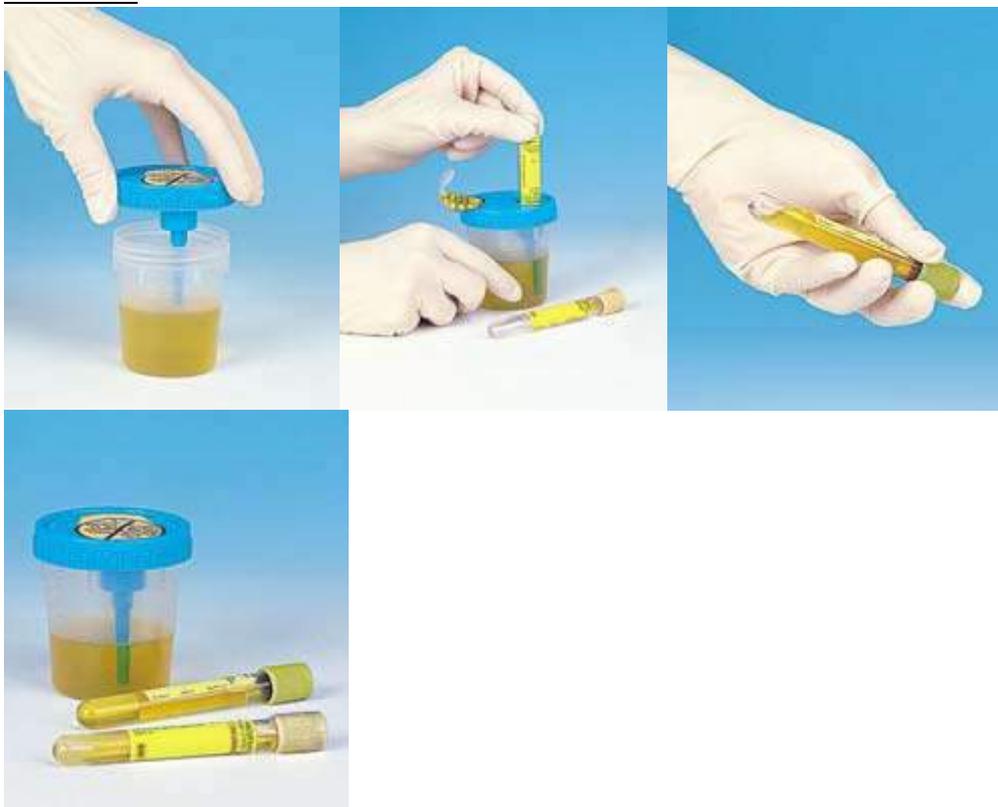


3) Comment transférer l'urine du pot vers le tube ? :

- Première possibilité : vous avez un pot avec canule intégré et vous effectuez le transfert comme il est indiqué ci-dessous (schéma A) :

- a) D'abord fermer le pot à urine
- b) Tirer la languette qui se trouve sur l'orifice
- c) Insérer le 1^{er} tube dans la canule (toujours commencer par le tube sans additif) et attendre que le remplissage se fasse sous vide.
- d) Retirer le tube et l'envoyer au laboratoire

Schéma A



- Deuxième possibilité : vous avez un pot « normal », c'est-à-dire sans canule de transfert intégrée (schéma B) :
 - a) Ouvrir le pot
 - b) Prendre une canule de transfert individuelle et la tremper dans le pot
 - c) Introduire le tube dans la canule, le remplissage se fait automatiquement par effet de pression.

Schéma B



XIX. FICHES PRE ANALYTIQUES

PRELEVEMENTS URINAIRES

Matériel de prélèvement	
Prélèvement	<p>Urines émises par voie naturelle : idéalement la première urine du matin, effectuer une toilette intime au préalable. Après lavage hygiénique des mains, nettoyer la région génitale (méat urinaire et région vulvaire d'avant en arrière) à l'aide d'une eau savonnée ou d'une ouate imbibée de chlorhexidine et rincage soigneux. Eliminer le premier jet puis recueillir le restant dans le pot en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur de celui-ci. Fermer hermétiquement le pot, bien l'identifier et le porter au laboratoire. Pour les cas particuliers (sonde,...)</p> <p>Prélèvement chez l'enfant : utiliser un sac collecteur uniquement lorsque l'enfant n'est pas entraîné à aller à la toilette. Nettoyer préalablement la région périnéale. La poche ne peut pas rester en place plus de 30 minutes.</p> <p>Pour les cas particuliers, se référer au Manuel de Prélèvement Bactériologie page 8-11.</p>
Conservation et acheminement au laboratoire	<p>Transférer les urines dans les tubes secs pour chimie et sédiments urinaires et dans le tube à bouchon vert contenant l'acide borique pour la culture. Transmettre rapidement au laboratoire. A défaut, garder maximum 2 h à température ambiante et max 4h à 4°C (au frigo)</p>
Quantité requise	<p>Minimum 10ml. Si recherche de mycobactéries : 40 ml (3 échantillons consécutifs : 1/jour)</p>
Réalisé en urgence	<p>Oui</p>
Délai de réalisation	<p>J+1 : Identification pour certains germes (ex : E.Coli) J+2 : culture : identification bactérienne + antibiogramme si nécessaire</p>
Remarques	<p>Préciser le mode de prélèvement lors de la prescription : urine émise par voie naturelle ou par sondage. Les pots arrivés au laboratoire mal fermés et en train de fuir ne seront pas traités. Ne jamais envoyer pour culture le bout d'une sonde urinaire</p>

EXPECTORATIONS

Matériel de prélèvement	
Prélèvement	Le prélèvement doit être réalisé avant tout traitement antibiotique, à jeun le matin au réveil, à la suite d'un effort de toux spontané ou induit par la kiné.
Conservation et acheminement au laboratoire	Le plus rapidement possible (dans les 2h) ou le garder au frigo en attendant sachant que l'interprétation du résultat risque d'être faussé.
Renseignements à fournir	Traitement en cours, pathologie clinique sous-jacente
Réalisé en urgence	Non
Délai de réalisation	J0 ou J+1 : Examen direct J+2 : culture : identification bactérienne + antibiogramme si nécessaire
Remarques	Les prélèvements de type salivaire (peu ou pas de polynucléaires à l'examen direct et de nombreux cellules épithéliales) correspondant au type 1 (T1) et au type 2 (T2) ne seront pas mis en culture. En cas de pneumopathie grave, il est indispensable de compléter par des hémocultures, la recherche d'antigène pneumocoque et Legionella (dans les urines).

FROTTIS DE GORGE

Matériel de prélèvement	 <p>Ecouvillon avec milieu de transport</p>
Prélèvement	Hygiène des mains Déprimer la langue à l'aide d'un abaisse-langue. Prélever à l'aide d'un écouvillon au niveau du pharynx, des amygdales ou toute autre région enflammée en évitant soigneusement, la langue, les joues, la luette ou les lèvres. En cas d'abcès tonsillaire, il est préférable d'effectuer une ponction.
Conservation et acheminement au laboratoire	Le plus rapidement possible, garder à température ambiante, ne pas mettre au frigo
Analyse réalisé	Dépistage MRSA Culture classique et antibiogramme chez le patient ambulatant : recherche essentiellement de streptocoque beta hémolytique.
Réalisé en urgence	Non
Délai de réalisation	J+2 : culture : identification bactérienne + antibiogramme si nécessaire J+1 pour dépistage dans le cadre de recherche MRSA
Remarques	<i>Les laryngites</i> sont quasiment toutes d'origine virale, si un diagnostic est nécessaire, veuillez contactez le biologiste. <i>Epiglottite</i> : ne jamais effectuer de frottis de gorge car risque d'aggravation de l'obstruction du passage aérien

Lavage broncho alvéolaire (LBA)

Matériel de prélèvement	
Prélèvement	Réalisé par les médecins spécialistes adéquats
Conservation et acheminement au laboratoire	Acheminer immédiatement au laboratoire
Renseignements à fournir	Renseignement clinique si recherche particulière : germe à croissance lente (contacter également le microbiologiste).
Réalisé en urgence	Oui
Délai de réalisation	J0 : Examen direct J+2 ou J+3 : culture : identification bactérienne + antibiogramme si nécessaire
Remarques	

HEMOCULTURES SIMPLES

Matériel de prélèvement	 <p style="text-align: center;">Flacon aérobie Flacon anaérobie Flacon pédiatrique</p>
Prélèvement	<ul style="list-style-type: none"> • Hygiène des mains • Repérage du point de ponction • Enlever le capuchon du flacon et désinfecter le bouchon de caoutchouc avec un tampon imbibé de chlorhexidine alcoolique 0.5 %. • Désinfecter le site de ponction avec un tampon imbibé de chlorhexidine alcoolique 0.5% de manière concentrique par rapport au site de ponction et répéter ce geste une deuxième fois. Temps de contact entre chlorhexidine alcoolique 0.5% : 30 secondes. • Ne pas souffler mais laisser sécher naturellement. • Ne pas toucher à nouveau le site de ponction. • Enfiler des gants à usage unique • Effectuer le prélèvement par ponction veineuse. • Connecter le flacon via l'Holder, prélever 10 à 15 ml pour chaque flacon chez le patient adulte. Pour un enfant de moins de 36kg, un volume de 5 ml est suffisant <p>Deux paires de flacons (aéro/ana) chez le patient adulte et 1 flacon pédiatrique chez l'enfant.</p>
Conservation et acheminement au laboratoire	<p>Le plus rapidement possible. Toujours garder les flacons à température ambiante, jamais au frigo. Les garder maximum 12h dans le service.</p>
Délai de réalisation	<p>Si absence de germe, le prélèvement sera définitivement répondu négatif après 5 jours</p>
Remarques	<p>Il est inutile de prélever plus de 3 paires d'hémocultures par jour (pas de valeur ajoutée).</p> <p>Si suspicion d'endocardite : prélever 3 paires (espace d'au moins 1h entre chaque paire) sur 24h</p>

HEMOCULTURES APPARIEES POUR LE DIAGNOSTIC D'UNE SEPTICEMIE LIE AU CATHETER

Matériel de prélèvement	<div style="text-align: center;">  <p>Flacon aérobie Flacon anaérobie</p> </div>
Prélèvement	<ul style="list-style-type: none"> • Hygiène des mains et port de gants à usage unique • Prélever UNE hémoculture (<i>chez les adultes, DEUX FLACONS !!</i>) par le cathéter suspecté • Marquer sur chaque flacon le site de prélèvement : KT • Immédiatement après, prélever UNE hémoculture (<i>chez les adultes, DEUX FLACONS !!</i>) par une ponction veineuse périphérique (qui peut être un cathéter périphérique ou artériel aux soins intensifs) • Marquer sur chaque flacon le site de prélèvement : PER • Imprimer les bons de demande adéquats : Faire sortir les demandes adéquates par le système informatique : Choisir BACTERIOLOGIE Choisir HEMOCULTURES Choisir HEMOCULTURES <u>APPARIEES</u> POUR INFECTION CATHETER Suivre les indications données par les écrans suivants <p>Placer chaque paire de flacons dans un sac en plastique avec le bon de demande correspondant et envoyer au laboratoire comme d'habitude</p>
Remarques	<ul style="list-style-type: none"> • Si les flacons ne portent pas d'indication, le prélèvement sera considéré comme une hémoculture simple et aucune interprétation ne pourra être donnée. • Il faut <u>OBLIGATOIREMENT</u> indiquer sur chaque flacon le code qui permet de savoir où il a été prélevé : KT et PER. <u>ATTENTION</u> à ne rien indiquer sur le code-barres du flacon !!! <p style="text-align: center;">Si les flacons ne portent pas d'indication, le prélèvement sera considéré comme une <u>hémoculture simple</u> et aucune interprétation ne pourra être donnée.</p>

LCR (Liquide céphalo rachidien)

Matériel de prélèvement	Tube stérile 
Prélèvement	La ponction lombaire est réalisée en respectant une asepsie de type chirurgical. Le LCR est successivement recueilli dans 3 tubes stériles sans gel ni anticoagulant numérotés 1,2 et 3. La quantité totale nécessaire est de 2 à 5 ml chez l'adulte et idéalement 2 ml chez l'enfant. Pour des analyses supplémentaires (ex : Mycobactéries, virus,...) Se referer aux informations indiquées dans expertiscare pour chaque analyse demandée.
Conservation et acheminement au laboratoire	Le garder à température ambiante puis l'acheminer sans délai au laboratoire.
Renseignements à fournir	Renseignements cliniques : immunodépression, ...
Réalisé en urgence	Oui (examen direct, culture et recherche d'antigène Pneumocoque.
Délai de réalisation	J0 : Examen direct J+2 : identification + antibiogramme
Remarques	Antigène Pneumocoque peut être réalisé sur LCR Antigène Cryptococcus Neoformans réalisé à la demande si contexte immunodépression (réalisé en heures ouvrables en semaine, samedi matin et dimanche matin).

SELLES

Matériel de prélèvement	 <p>Pot stérile avec spatule</p>
Prélèvement	Si possible avant le début de l'antibiothérapie. Prélever les selles et les transférer dans le pot stérile à l'aide d'une spatule ou de la cuillerette attachée au bouchon du flacon. Privilégier les parties muco-purulentes ou séro sanglantes s'il y en a, <u>éviter qu'il y ait contamination avec de l'urine, de l'eau ou du papier toilette.</u>
Conservation et acheminement au laboratoire	Dans un délai de maximum 2h au labo si conservé à température ambiante. Sinon mettre la selle au frigo et la transférer au labo dans délai de maximum 12h.
Analyses réalisées	<ul style="list-style-type: none">• Recherche de toxine Clostridium, antigène Norovirus, antigène Rotavirus et Adenovirus (chez l'enfant <2 ans)• Culture• Recherche de parasite• Pour la recherche d'Escherischia oli entéro hémorragique (EHEC) en cas de SHU, veuillez contacter le biologiste.
Réalisé en urgence	Non
Délai de réalisation	J0 ou J+1 : toxine Clostridium, Antigène Rotavirus et Adenovirus et Norovirus J+2 à J+3 : identification + antibiogramme éventuel
Remarques	La recherche de toxine Clostridium et d'antigène ne se fera que sur des selles liquides ! Dans le cadre d'une recherche de parasite, il est conseillé de recueillir des selles 3 jours de suite.

FRAGMENTS-BIOPSIES TISSULAIRES

Matériel de prélèvement	 <p>Pot stérile, exemple :</p>
Prélèvement	<p>Prélèvement effectué en respectant une asepsie de type chirurgicale.</p> <ul style="list-style-type: none">• Déposer le fragment dans un flacon stérile sans conservateur.• Ajouter quelques gouttes d'eau physiologique stérile sans excès car trop de liquide diminue la sensibilité de la culture.• Si le fragment est de taille suffisante , au moins 1cm³, on peut le conserver entre deux compresses de gaze humidifiées et stériles (sauf si recherche de BK,ne pas mettre dans compresse). Ne pas mettre dans une compresse un fragment de très petite taille qui va se perdre dans les mailles du tissu et ne pourra pas être récupéré.• Pour la recherche de mycoses, prélever un fragment au centre ET à la périphérie de la lésion.• Hygiène des mains
Conservation et acheminement au laboratoire	Le plus rapidement possible.
Remarques	

DISPOSITIFS INTRAVASCULAIRES (Cathéters, chambres implantables...)

Matériel de prélèvement	 <p>Pot But : documenter l'implication d'un dispositif intra vasculaire dans un état septique.</p>
Prélèvement	<p>Il est recommandé de n'envoyer pour mise en culture que les cathéters dont l'ablation est justifiée par des signes locaux ou généraux d'infection. Il est donc inutile d'envoyer un cathéter qui est retiré définitivement parce que le malade va bien. <i>Prélèvements effectués sans enlever le matériel</i> : voir fiche sur les hémocultures appariées <i>Prélèvements effectués avec ablation du matériel</i> : procéder stérilement au retrait du cathéter. Couper stérilement les 5 cm de l'extrémité distale. Les placer dans un pot stérile.</p>
Conservation et acheminement au laboratoire	<p>Le plus rapidement possible.</p>
Renseignements à fournir	<p>Préciser la nature du cathéter (KT voie centrale, KT dialyse, KT fémorale, etc...)</p>
Délai de réponse	<p>24 à 48h.</p>
Remarques	<p>Les cathéters de plus de 5 cm de longueur ne seront pas acceptés pour la mise en culture au laboratoire</p>

Liquides de ponction (pleural, ascite, péricardique, pus, etc...) sauf LCR

Matériel de prélèvement	
Prélèvement	<ul style="list-style-type: none"> • Respecter une asepsie stricte de la peau : peau désinfectée « chirurgicalement », gants stériles, champ opératoire, hygiène des mains • Même si on ne recueille que très peu de liquide, utiliser des flacons à hémoculture, ne pas étiqueter comme hémoculture mais comme ponction. • Si un examen direct est demandé, envoyer aussi la seringue débarassée de son aiguille (après avoir expulsé les bulles d'air) et refermé avec un bouchon. • <u>En cas de ponction de moelle osseuse</u>, les seules germes recherchés sont les mycobactéries. Injecter le liquide dans un tube hépariné et l'acheminer IMMEDIATEMENT au laboratoire
Conservation et acheminement au laboratoire	Le plus rapidement possible. Garder à température ambiante.
Renseignements à fournir	Nature du liquide et site de ponction.
Délai de réponse	1 à 5j

TRACTUS UROGENITAL FEMININ

Matériel de prélèvement	 <ol style="list-style-type: none"> 1) Ecouvillon avec milieu de transport (bouchon bleu) : recherche Trichomonas et frottis vaginal 2) Kit Abbott Multicollect Specimen : recherche N.Gonorrhoeae et C.Trachomatis par PCR 3) Kit Microtrak HSV1/HSV2 : recherche Herpès
Prélèvement	<ul style="list-style-type: none"> • Sécrétions vaginales : si possible utiliser un spéculum sans lubrifiant, prélever avec un écouvillon stérile au niveau du cul de sac postérieur ou à un endroit où les sécrétions sont abondantes. Pour la recherche du Streptocoque B, frotter le vagin et l’anus avec le même écouvillon. • Glande de Bartholin : désinfecter le site et prélever par ponction. Expulser l’air puis retirer l’aiguille avant d’envoyer la seringue si le transport est rapide. Alternativement, injecter le liquide dans un flacon d’hémoculture ou effectuer un frottis du pus à l’aide d’un écouvillon et l’envoyer au laboratoire. • Col utérin : utiliser spéculum sans lubrifiant si possible. A l’aide d’un écouvillon, retirer l’excès de sécrétions au niveau vaginal et du col puis prélever à l’aide du kit Abott Multicollect Specimen pour la recherche de N. Gonorrhoea et C.Trachomatis. • Urètre : prélèvement surtout pour la recherche de N. Gonorrhoea et C.Trachomatis. Prélever au moins 1h après la dernière miction.Utiliser le kit Multicollect Abbot.
Conservation et acheminement au laboratoire	<p>Le plus rapidement possible à température ambiante (Maximum 2h). Les écouvillons avec écouvillons de transport doivent être envoyés au maximum dans un délai de 12h au laboratoire.</p>
Délai de réponse	<p>Culture : 48 à 72h Herpès : 24h. Réalisé tous les jours sauf le week end. PCR : 3 jours à 1 semaine</p>
Remarques	<p>La PCR Chlamydia Trachomatis et Neisseria Gonorreha peut aussi s’effectuer sur urine : Prélever 20-30 ml d’urine (s’assure que le patient n’a pas uriné depuis au moins 1 h). Transférer l’urine à l’aide d’une pipette dans le milieu de transport.</p>

TRACTUS GENITAL MASCULIN

Matériel de prélèvement	
Prélèvement	<p>Urètre : prélèvement surtout pour la recherche de N. Gonorrhoea et C.Trachomatis. Hygiène des mains. Masser l'urètre contre la paroi du pubis pour tenter de provoquer un écoulement purulent. Prélever au moins 1h après la dernière miction. Utiliser le kit Multicollect Abbot.</p>
Conservation et acheminement au laboratoire	<p>Le plus rapidement possible à température ambiante (Maximum 2h). Les écouvillons avec écouvillons de transport doivent être envoyés au maximum dans un délai de 12h au laboratoire.</p>
Délai de réponse	<p>Culture : 48 à 72h Herpès : 24h. Réalisé tous les jours sauf le weekend. PCR : 3 jours à 1 semaine</p>
Remarques	<p>La PCR Chlamydia Trachomatis et Neisseria Gonorrhoea peut aussi s'effectuer sur urine :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pour cela le patient ne doit pas avoir uriné depuis 1h • Recueillir 20 à 30 cc d'urine dans un pot à urine classique • Utiliser le kit Multicollect Abbot • Dévisser le tube de transport (en prenant garde de pas renverser le tempon) et à l'aide de la pipette, transférez y l'urine.

FROTTIS DE PLAIE,PUS

Matériel de prélèvement	
Prélèvement	<ul style="list-style-type: none">• Plaie superficielle : Hygiène des mains. Prélever avec un écouvillon classique (bouchon bleu), éventuellement imbiber l'écouvillon de sérum physiologique au préalable.• Erysipèle, cellulite : Hygiène des mains. Désinfecter le site puis si possible injecter dans la lésion un peu de sérum physiologique à l'aide d'une seringue et d'une aiguille fine stérile (ex : seringue à tuberculine) puis ré aspirer au maximum. Envoyer au labo la seringue recouverte d'un bouchon. Autre possibilité : faire une biopsie et mettre dans un pot stérile.• Ulcération, escarre : prélever seulement si signes d'infections locaux et/ou généraux : nettoyer la plaie, désinfecter avec solution hydro alcoolique, laisser sécher puis rincer au sérum phy ensuite réaliser une biopsie ou cureter la lésion puis placer dans un pot stérile.
Conservation et acheminement au laboratoire	Le plus rapidement possible, garder maximum 2h à température ambiante, sauf si utilisation d'un milieu de transport.
Délai de réalisation	J+2 : identification et antibiogramme
Remarques	<p>Les frottis d'escarre sont à bannir car ils reflètent souvent la colonisation bactérienne qui est souvent massive.</p> <p>Si suspicion d'infection, préférer une aspiration à l'aiguille ou une biopsie à un frottis.</p>

FROTTIS RECTAL

Matériel de prélèvement	
Prélèvement	Hygiène des mains. Passer l'écouvillon 2 à 3 cm à l'intérieur du sphincter anal et faire une rotation lente de celui-ci. Un frottis en marge anal peut être suffisant mais l'écouvillon doit être visuellement chargé de selles.
Conservation et acheminement au laboratoire	Le plus rapidement possible, garder à température ambiante
Renseignements à fournir	Transfert d'un pays étranger
Réalisé en urgence	Non
Délai de réalisation	J+1 : suspicion ou pas de croissance de bacille gram négatif multirésistant J+2ou J+3 : identification bactérienne + antibiogramme
Remarques	<u>Hormis les unités à risque (Soins intensifs), ces prélèvements ne peuvent être effectués que sous la recommandation de l'équipe d'Hygiène hospitalière.</u>

PRELEVEMENTS : NEZ/SINUS/BOUCHE

Matériel de prélèvement	
Prélèvement	<ul style="list-style-type: none"> • Pour la recherche de portage bactérien : frotter l'écouvillon au niveau de la partie antérieure des 2 fosses nasales (<u>avec un seul écouvillon</u>) : recherche MRSA uniquement • Aspiration naso pharyngé : pour la recherche des virus respiratoires (RSV, Influenza, Adenovirus) : injecter quelques millilitres de sérum physiologique par une narine puis recueillir immédiatement les sécrétions dans un flacon stérile. Pour la recherche de coqueluche également. • Otite externe : prélever les sécrétions à l'aide d'un écouvillon • Liquide de l'oreille moyenne : Hygiène des mains. Ponctionner le liquide de façon stérile. • Sinusite : le prélèvement de choix est une ponction de sinus (effectué par un ORL). • Bouche : recherche de levure essentiellement. Rincer la bouche avant de frotter avec un écouvillon.
Conservation et acheminement au laboratoire	Prélèvement naso pharyngés : acheminer le plus rapidement possible au laboratoire, sinon garder au frigo (max 2h).
Réalisé en urgence	Oui pour la recherche des virus respiratoires
Délai de réalisation	<ul style="list-style-type: none"> • Le jour même (antigène RSV, Influenza, Adénovirus) • Portage MRSA : J+1 à J+2 • Culture pour frottis ou pus : J+ 2
Remarques	

RECHERCHE DE MYCOBACTERIES

Matériel de prélèvement	Pot stérile
Prélèvement	<ul style="list-style-type: none">• Ne pas utiliser d'écouvillons pour prélever• Utiliser un pot stérile, sans fixateur.• Ne pas mettre de biopsie sur une gaze• Mettre le prélèvement au frigo si celui-ci ne peut arriver en moins d'1h au laboratoire• Les fragments ou les biopsies peuvent être recouverts d'une <u>petite quantité</u> de sérum physiologique.• Ne pas utiliser de collecte de 24h
Volume et quantité requis	<ul style="list-style-type: none">• Expectorations ou aspirations endotrachéales : 5 ml• LBA, lavages bronchiques : 5ml• Tubage gastrique : 5 à 10 ml• Urine : 40 ml (urine du matin)• Liquides biologiques (pleurale, péritonéale, ...) : 15 ml• LCR : 2 ml• Moelle osseuse : 2 ml
Délai de réalisation	Examen direct : J+1. Les examens directs ne sont pas effectués le week-end. La culture est définitivement répondu négative après 42 jours.
Remarques	Les prélèvements suivant ne seront pas acceptés : <ul style="list-style-type: none">• volume d'échantillon trop faible• collecte de 24h• écouvillons• prélèvement dans liquide de Bouin ou tout autre fixateur• selles

XX. REFERENCES

Les prélèvements bactériologiques au quotidien
M. Marcolin au nom du Collège de Bactériologie, de Virologie et d'Hygiène des
Hôpitaux généraux de France
Edition Medicom – 2000

A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology
J. Michael Miller
ASM Press 1999

European Manual of Clinical Microbiology
1st edition 2012