

Auteur	LALI Salah Eddine	30-09-21
Approbateur	LALI Salah Eddine	04-10-21
Valideur	CINO AURELIE	05-10-21

Récolte et transport des échantillons pour analyse bactériologique (Version : Septembre 2015)

Table des matières

1	Con	sidérations générales	5
	1.1	Considérations générales de prélèvement	5
	1.2	Considérations générales de transport	5
	1.3	Points importants pour l'ensemble des prélèvements	5
2	Hén	10cultures	6
	2.1	Définition	6
	2.2	Indications	
	2.3	Prélèvement	
	2.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	
	2.5	Délai de réponse	9
3	Disp	oositifs intra-vasculaires	
	3.1	Définition	. <i>10</i>
	3.2	Indications	. <i>10</i>
	3.3	Prélèvement	
	3.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	
	3.5	Délai de réponse	
4		antillons du système nerveux central (SNC)	
	4.1	Définition	
	4.2	Indication	
	4.3	Prélèvement	
	4.4	Intérêt clinique- Interprétation des résultats	
	4.5	Délai de réponse	
5	•	ème gastro-intestinal	
	5.1	Selles Erreur! Signet non déf	
	5.1.1		
	5.1.2		
	5.1.3		
	5.1.4	1 1	
	5.1.5	1	
	5.2	Lavage duodénal Erreur! Signet non déf	
	5.2.1		
	5.2.2		
	5.2.3		
	5.2.4	1 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
,	5.2.5	r	
6	•	ème respiratoire	
	6.1 6.1.1	Expectorations, aspirations et lavages Définition	
	6.1.1		
	6.1.3		
	6.1.4		
	6.1.5	* *	
	6.2	Frottis de gorge	
	621		. 19 10
	n , i		

	6.2.2	2 Indication	19
	6.2.3	3 Prélèvement	20
	6.2.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	20
	6.2.5	5 Délai de réponse	20
	<i>6.3</i>	Prélèvement bouche-langue	21
	6.3.1	l Définition	21
	6.3.2	2 Indications	21
	6.3.3	Prélèvement	21
	6.3.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	21
	6.3.5	Délai de réponse	21
	6.4	Frottis de nez	21
	6.4.1	Définition	21
	6.4.2	2 Indications	21
	6.4.3	Prélèvement	22
	6.4.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	22
	6.4.5	5 Délai de réponse	22
	6.5	Aspiration naso-pharyngée Erreur! Signet no	on défini
	6.5.1	Définition	22
	6.5.2	2 Indications	22
	6.5.3	Prélèvement	22
	6.5.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	23
	6.5.5	5 Délai de réponse	24
	6.6	Ponction ou aspiration sinusale	24
	6.6.1	Définition	24
	6.6.2	2 Indications	24
	6.6.3	Prélèvement	24
	6.6.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	24
	6.6.5	5 Délai de réponse	24
	<i>6.7</i>	Liquide de tympanocentèse	25
	6.7.1	Définition	25
	6.7.2	2 Indications	25
	6.7.3	3 Prélèvement	25
	6.7.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	2 <i>e</i>
	6.7.5	5 Délai de réponse	2 <i>e</i>
	<i>6.8</i>	Frottis d'oreille	25
	6.7.1	l Définition	25
	6.7.2	2 Indications	25
	6.7.3	3 Prélèvement	25
	6.7.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	2 <i>e</i>
	6.7.5	5 Délai de réponse	2 <i>e</i>
7	Liqu	uides corporels stériles (sauf LCR, urines et sang)	27
	7.1	Définition	27
	7.2	Indications	27
	7.3	Prélèvement	27
	7.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	
	7.5	Délai de réponse	
8		èvement de peau et tissus sous-cutanés	
	8.1	Définition	
	8.2	Indications	
	8.3	Prélèvement	29

8.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	
8.5	Délai de réponse	
9 Uri	ines	
9.1	Définition	
9.2	Indications	
9.3	Prélèvement	
9.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	33
9.5	Délai de réponse	
10 Tra	actus uro-génital chez la femme	
10.1	Définition	
10.2	Indications	34
10.3	Prélèvement	34
10.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	
10.5	Délai de réponse	
11 Tra	actus uro-génital chez l'homme	
11.1	Définition	
11.2	Indications	
11.3	Prélèvement	
11.4	Intérêt clinique-Interprétation des résultats	
11.5	Délai de réponse	
12 An	nexes	33

Considérations générales

Tout prélèvement doit être considéré comme <u>potentiellement infecté</u> Veuillez respecter les précautions universelles (précautions standards)

Considérations générales de prélèvement

- Récolter l'échantillon avant tout traitement antibiotique si possible.
- Récolter en contaminant le moins possible par la flore commensale, de façon à ce que l'échantillon soit le plus représentatif du site collecté.
- Récolter en utilisant du matériel stérile et une technique d'asepsie correcte afin d'éviter l'introduction de micro-organismes dans les techniques invasives.
- Si l'échantillon doit être collecté à travers une peau intacte, commencer par désinfecter la peau soit à la Chlorhexidine alcool 2% ou avec de l'Isobetadine dermique ou alcoolique[®].
- Récolter une quantité suffisante d'échantillon. Une quantité insuffisante peut donner lieu à un résultat faussement négatif.
- Préciser la nature de l'échantillon et/ou le site de récolte le plus correctement possible afin de permettre la sélection des milieux de cultures les plus appropriés.
- Identifier clairement l'échantillon avec le nom du patient, la date et l'heure de prélèvement.
- Remplir une demande d'analyse par échantillon.

Considérations générales de transport

- Transporter tous les prélèvements le plus rapidement au laboratoire :
 - o Afin de permettre la survie et l'isolement des germes responsables de l'infection et de prévenir la multiplication des germes commensaux.
 - o Afin d'éviter le contact prolongé de l'échantillon avec certains anesthésiques de contact qui peuvent avoir une activité antibactérienne.
- Si le transport ne peut se faire immédiatement :

Garder tous les prélèvements au frigo (2-8°C) au maximum pour le jour suivant, **excepté** :

- o Les hémocultures : garder à température ambiante
- o Si suspicion de gonocoque : garder à température ambiante
- Ne pas mettre le LCR au frigo, sauf si seulement une chimie et/ou une culture virale et/ou une PCR est demandée.
- Toujours envoyer *les seringues* protégées par des petits bouchons stériles (à commander au magasin stérile), et *jamais* avec *l'aiguille*.

Les données du transport et des délais d'acheminement des prélèvements se retrouvent dans les références suivantes : Le REMIC : SFM 6^e édition 2019 et le Clinical Microbiology Procedures Handbook : ASM press Third Edition 2007.

Points importants pour l'ensemble des prélèvements

- Toujours bien vérifier l'herméticité du contenant utilisé : AVANT son utilisation et APRES y avoir déposé le prélèvement ainsi que la date de péremption.
- Identifier correctement le contenant, nom, prénom, date, service + bon correctement identifié et rempli.
- La protection des prélèvements doit se faire dans un sac en plastique refermable hermétiquement. Introduire la demande dans la poche extérieure de celui-ci.
- Absence de souillures à l'extérieur des contenants (le cas échéant : désinfection avant transport).
- Acheminement le plus rapidement possible.

Hémocultures

Définition

On définit une hémoculture (HC) comme étant le sang d'un patient prélevé par ponction généralement au niveau d'une veine et inoculé dans des flacons destinés spécifiquement à cet usage.

Elle a l'intérêt de mettre en évidence des bactéries, mycobactéries, des champignons et des levures dans le sang. L'hémoculture constitue un prélèvement de première importance dans tous les cas d'infections graves. Elle sera judicieusement complétée par des prélèvements sur le(s) site(s) supposé(s) être à l'origine de l'infection : prélèvements d'urines, d'expectorations, de plaie, etc.

Indications

Pour rappel : l'hémoculture se pratique sur PRESCRIPTION MEDICALE.

- Pyrexie ≥ à 38°C (les patients âgés sont souvent apyrétiques).
- Hypothermie < 36°C.
- Leucocytose > 10.000/mm³
- Hypotension grave sans explication évidente ou altération de l'état général du patient même sans température.
- Refaire les HC en cas de pyrexie persistante 72h après le début d'un traitement antibiotique supposé correct.

Le diagnostic étiologique d'une bactériémie ou d'une fongémie constitue la principale indication d'une hémoculture. L'hyperthermie (> 38,5°C), l'hypothermie (< 36,5°C) et les frissons en constituent les principaux signes évocateurs. L'hypotension inexpliquée et certaines marbrures musculo-cutanées (traduisant une souffrance tissulaire) peuvent aussi évoquer un sepsis sévère même en l'absence de fièvre.

A côté de cette indication principale, le contrôle de la négativation en cours de traitement d'une endocardite infectieuse déjà diagnostiquée constitue la deuxième indication d'une hémoculture.

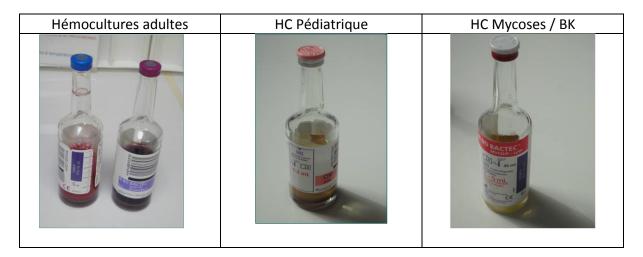
Prélèvement

Généralités

Ces prélèvements sont effectués de préférence :

- Avant l'instauration du traitement antibiotique (AB). Si le patient est déjà sous AB, le noter sur la demande.
- Si possible au moment de la montée de température. Ne pas prélever par un cathéter en place. S'il n'y a pas d'autres possibilités, le noter sur la demande.

Si possible, il faut prélever 3 paires d'hémocultures par 3 ponctions veineuses différentes à intervalle de 10 à 20 minutes. Ne pas faire plus de 3 paires d'HC par 24h (n'apporte pas plus d'informations). Par contre une seule paire peut empêcher de détecter une bactériémie significative.



Le résultat de l'analyse de l'HC est directement lié à la qualité des prélèvements. Les facteurs les plus importants à respecter sont :

- Le nombre de flacons prélevés (3 paires) (99% de détection d'une septicémie vs 90% avec 2 paires et 70 à 80 % avec une paire).
- La quantité de sang prélevée par flacon (influence directement le rendement du résultat).
- L'asepsie de la peau du site de prélèvement, des mains du préleveur et la stérilité du matériel utilisé ainsi que le respect de la procédure (éviter les contaminations des flacons).

Dans le cas d'un bilan, prélever toujours les flacons pour hémoculture en premier lieu avant les autres tubes.

Le nombre de paires d'HC et l'intervalle entre leurs prélèvements diffèrent en fonction de la pathologie:

• Septicémie aigüe

o Prélever 2 ou 3 paires à des sites différents avant de commencer le traitement.

• Endocardite

- o Aiguë : prélever 3 paires d'hémocultures réparties sur 1-2 heures puis commencer le traitement
- o Subaiguë : prélever 3 paires d'hémocultures au jour 1. Si elles restent négatives au jour 2, en prélever 3 de plus.
- O Sous traitement antimicrobien depuis 1-2 semaines avant l'admission : prélever 2 paires d'hémocultures par jour pendant les 3 jours suivants.
- o Systématiquement, prévenir le laboratoire pour augmenter la durée d'incubation.

• Fièvre d'origine inconnue

o Prélever 2-3 paires d'hémocultures à intervalle de 20 minutes. Si négatives le jour suivant, recommencer.

• Fongémie ou suspicion de BK

o Prélever un ou deux flacons MycoF/Lytic à des temps différents.

Version: 006 du 05-10-21 Page **7** sur **39**

Technique de prélèvement

- 1. Absence de bijoux. Hygiène des mains.
- 2. Nettoyer et désinfecter à l'aide d'un spray détergent désinfectant type Surfa'Safe® le plateau du chariot de soins sur lequel on rassemble le matériel nécessaire pour 3 prélèvements à effectuer à intervalle de 10 à 20 min. Le garrot et le Holder® sont aussi désinfectés.
- 3. Préparation du matériel pour un prélèvement :
 - a. 1 paire de gants stériles
 - b. 1 set pansement standard
 - c. 1 flacon de solution hydroalcoolique pour la désinfection des mains
 - d. 1 flacon d'antiseptique en solution alcoolique (chlorhexidine ou isobétadine)
 - e. 1 garrot désinfecté
 - f. Les flacons d'hémoculture aérobie et anaérobie (vérifier la date de péremption, l'absence de fissure, de contamination, de turbidité ou de décoloration du milieu)
 - g. Un container à aiguilles
 - h. Le matériel nécessaire pour prélever :
 - i. soit un système papillon
 - ii. **soit** une seringue de 20 cc et deux aiguilles : une pour prélever, l'autre pour injecter dans les flacons.

Le patient est averti du prélèvement et du choix du site. Vérifier l'état de propreté de la peau. Installer confortablement le patient, placer une protection sous l'avant-bras choisi.

- 4. Préparation du set :
 - a. Ouverture du champ
 - b. Ajouter l'antiseptique dans le blister
 - c. Disposer à l'aide de la pince la paire de gants et le matériel choisi.
- 5. Décapsuler les flacons d'hémoculture. Mettre le garrot et repérer la veine.
- 6. Désinfecter à la pince le septum des flacons d'hémoculture avec l'antiseptique alcoolique.
- 7. Désinfecter la zone de ponction à l'aide de l'antiseptique alcoolique.
- 8. Se désinfecter les mains à la solution hydroalcoolique type Sterillium®.
- 9. Enfiler les gants stériles. Ponctionner la veine :
 - a. Avec le système papillon : Prélever 8 à 10 ml par flacon.
 - b. Avec la seringue : prélever +/- 20 ml de sang.
- 10. Desserrer le garrot.
- 11. Retirer l'aiguille en apposant un tampon et comprimer.
- 12. Déposer la seringue sur le champ.
- 13. Fixer le tampon
- 14. Si prélèvement à la seringue, CHANGER L'AIGUILLE : ATTENTION RISQUE DE PIQÛRE! Enlever l'aiguille utilisée, l'éliminer immédiatement dans le container sans recapuchonner, adapter la nouvelle aiguille et injecter dans les flacons.
- 15. Si prélèvement à la seringue, injecter dans chaque flacon d'hémoculture la même quantité de sang. Lors du remplissage, commencer par le flacon aérobie, puis le flacon anaérobie.

Flacon BACTEC	PLUS Aerobic / F Anaerobic / F Lytic	Peds PLUS / F	Myco F / Lytic
Volume optimal	8 à 10 ml	1 à 3 ml	3 à 5 ml

16. Etiqueter les flacons. NE PAS écrire ni coller d'étiquette sur le fond du flacon car la lecture du résultat s'effectue par cet endroit, ni sur le code barre du flacon.

- 17. Evacuer le matériel.
- 18. Descendre les flacons et les demandes dès la 3ème série effectuée. Si possible, choisir un autre site de prélèvement à chaque prélèvement.

ATTENTION: Lors de prélèvement de sang par un cathéter ou chambre implantable ou Isolator[®], il est important de le stipuler sur la demande et sur les prélèvements.

Analyses à cocher

• Hémoculture correspondante (aérobie, anaérobie, pédiatrique ou mycobactérie/mycose)

Transport et conservation

- Plus tôt le flacon est acheminé vers le laboratoire, plus tôt il est introduit dans le système et au plus tôt la lecture commence. Le délai optimal d'acheminement de l'échantillon est de moins que 4 heures.
- Le transport se fait à température ambiante, **jamais à 4**°C.

Intérêt clinique - Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats d'une hémoculture positive se base sur un certain nombre de critères tels que : la nature du germe isolé, la fréquence d'isolement du même germe si réputé contaminant (ex. *Staphylocoque blanc*), sur plus d'une hémoculture effectuées à des moments différents ou sur deux prélèvements effectués à deux endroits différents.

On divise les germes en trois catégories :

- Un groupe de germes considérés à plus de 90 % comme des pathogènes quasi constants (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et les entérobactéries, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*).
- Un groupe de germes considérés à plus de 90 % comme des contaminants quasi constants (*Corynebacterium sp*, *Bacillus sp*—sauf *B. anthracis*—, *Propionibacterium acnes*, et *Micrococcus spp*.).
- Un groupe de germes qui peuvent être considérés comme contaminants ou comme pathogènes suivant le contexte et dont les Staphylocoques coagulase négative constituent les exemples les plus fréquents.

En dehors de cette liste, la signification de tout autre germe isolé d'une hémoculture positive prélevée dans les conditions strictes décrites plus haut, dépend de chaque situation clinique particulière.

Délai de réponse

Résultat provisoire : minimum 24 h après positivité

Réalisée 24h/24h Résultat négatif après :

Flacon BACTEC	PLUS Aerobic / F Anaerobic / F Lytic	Peds PLUS / F	Myco F / Lytic
Délai de réponse	5 jours	5 jours	42 jours Recherche orientée de : Levures : 7 jours Champignons : 30 jours Mycobactéries : 42 jours

Version: 006 du 05-10-21 Page **9** sur **39**

Dispositifs intra-vasculaires (cathéter, chambre implantable)

Définition

La mise en place d'un cathéter peut répondre à plusieurs besoins :

- Assurer un abord vasculaire pour l'administration aisée de médicaments, de solutés et de nutrition parentérale.
- Permettre la mesure des paramètres hémodynamiques.
- Accéder au site anatomique dans certaines pratiques interventionnelles sur le système circulatoire.

Indications

- Signes locaux (rougeur, gonflement, induration, douleur à la palpation,...)
- Signes généraux (t°, altération de l'état général, leucocytose)

PAS de mise en culture systématique des cathéters en fin de traitement par perfusion en l'absence de signes locaux ou généraux suggérant la présence d'une infection.

En cas de suspicion d'infection de cathéter intraveineux central ou périphérique: Si présence de pus, observer le site d'insertion du cathéter.

Prélèvement

Les cathéters sont une source fréquente d'infection chez les patients hospitalisés. Il existe deux façons de connaître le statut d'un cathéter, soit en envoyant l'extrémité au moment où on le retire, soit en cultivant du sang prélevé par ce cathéter. Cette dernière technique est utilisée dans les cas où le cathéter est suspecté d'être la cause d'une fièvre d'origine indéterminée mais étant la seule voie d'accès son retrait serait problématique.

Retrait du cathéter

Technique de prélèvement

• Si nécessaire, faire un frottis Eswab par écouvillonnage du point de ponction.



- Désinfecter soigneusement la peau avec un antiseptique en solution alcoolique.
- Laisser sécher, puis retirer le cathéter.
- Couper stérilement l'extrémité distale (± 5 cm) qui se trouvait dans la veine et la déposer dans un pot ou un tube bactériologiquement propre et l'acheminer au laboratoire.

Version : 006 du 05-10-21 Page **10** sur **39**





Analyses à cocher

- !!! Préciser la nature exacte du cathéter et son origine (par exemple : cathéter dialyse, cathéter central, cathéter périphérique,...)
- Culture aérobie, antibiogramme éventuel
- Préciser la nature et le site du cathéter sur la demande
- Si le patient est pyrétique à $\geq 38^{\circ}$ C, ne pas oublier de prélever des hémocultures

Prélèvement de petites hémocultures Isolator® sur cathéter laissé en place

Technique de prélèvement

• Prendre 2 Isolator®



- Prélever un isolator® sur le cathéter à investiguer et un deuxième sur un autre site périphérique. (NB: peuvent être prélevées par système Vacutainer)
- Bien préciser sur les flacons le site de prélèvement.
- Au minimum, une paire d'hémoculture doit accompagner les prélèvements d'Isolator. Une hémoculture prélevée dans les précédentes 24h peut être acceptée.

Analyses à cocher

• Isolator® et la voie de prélèvement (deux demandes d'analyse)

Transport et conservation

- Le transport se fait à température ambiante, jamais à 4°C.
- L'échantillon doit être traité dans les 16 h suivant sa collecte

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

Interprétation des résultats de culture de cathéters

Version: 006 du 05-10-21 Page 11 sur 39

Les très bonnes valeurs prédictives négatives de ces méthodes en font de bons outils pour exclure un état infectieux impliquant le dispositif intra-vasculaire.

La culture d'1 cathéter selon la technique de Maki est positive si l'on observe > 15 colonies sur la boîte (la technique de Maki consiste à rouler le cathéter sur la boîte).

Interprétation des résultats sur Isolator®

Si la culture quantitative prélevée par le cathéter ramène 3 fois plus de germes que par la culture en périphérie, on peut supposer que le cathéter est infecté.

Délai de réponse

- Culture négative répondue dans les 48 à 72 h.
- Résultat provisoire : minimum 24 h

Echantillons du système nerveux central (SNC)

Définition

Un examen microbiologique est pratiqué dans le cadre de différentes infections impliquant le SNC. Ces infections peuvent survenir dans un cadre communautaire ou nosocomial. Elles engagent souvent le pronostic vital du patient. L'examen microbiologique repose essentiellement sur l'examen du LCR.

Indication

- Méningites et ventriculites
- Encéphalites et méningo-encéphalites
- Suppurations intra-crâniennes (abcès, thrombophlébites septiques)

Prélèvements

LCR – Liquide céphalo-rachidien

Technique de prélèvement

LCR par ponction lombaire

- Nettoyer le point de ponction avec un antiseptique afin de prévenir l'introduction d'une infection.
- Introduire l'aiguille avec le stylet au niveau de l'interspace L3-L4, L4-L5 ou L5-S1.
- Quand l'espace sous-arachnoïdien est atteint, retirer le stylet.
- Récolter lentement le LCR dans <u>des tubes à ponction bactériologiquement propres</u>. Prélever si possible 3 tubes différents (ou plus si quantité suffisante) : pour hématologie, chimie et microbiologie.



Ne pas oublier de numéroter les tubes car ceux-ci sont distribués en fonction (ex : le dernier tube est réservé à l'hématologie).

Remarques:

- Envoyer tous les tubes prélevés : le laboratoire dispatchera en fonction des analyses demandées.
- Certaines analyses envoyées en sous-traitance nécessitent le prélèvement dans un tube adapté disponible en neurologie (tube à bouchon bleu clair, sans polypropylène). C'est le cas notamment des protéines TAU et Bêta-Amyloide.

Prélever un volume suffisant : 1 ml pour chimie, 0,5-1 ml pour hémato.

Pour la microbiologie les volumes suggérés sont les suivants :

- 1 ml pour la culture bactérienne
- 2 ml pour la recherche de mycobactéries

LCR par réservoir d'Omaya

- Désinfecter le site de récolte du réservoir avant le prélèvement.
- Envoyer les tubes en nombre et quantité comme décrit ci-dessus.

Analyses à cocher

- Numération et formule
- Gram et culture aérobie
- Culture anaérobie en cas de traumatisme ou après neurochirurgie
- Analyses chimiques : glucose, protéines, lactates.

Transport des échantillons

- Envoyer le LCR au laboratoire le plus vite possible.
- Ne pas mettre le LCR au frigo, sauf si seulement une chimie, une culture virale et/ou une PCR est demandée.

Prélèvement d'un abcès cérébral

Analyses à cocher

Au niveau « Ponctions » : préciser la localisation

- Gram
- Culture aérobie et anaérobie (+ levures et champignons si nécessaire)

Transport des échantillons

• Envoyer la seringue au laboratoire après avoir remplacé l'aiguille par un petit bouchon stérile.

Intérêt clinique- Interprétation des résultats

LCR

Le LCR normal ne contient pas de micro-organismes vivants, ni leurs composants. Tout résultat microbiologique positif doit donc être *à priori* considéré comme témoin d'une infection.

Abcès cérébral

Contrairement aux méningites primitives, les abcès cérébraux peuvent être pluri-microbiens, avec présence de bactéries anaérobies.

Délai de réponse

Si négatif : 1 semaineExamen direct Gram : 24 h

• Résultat provisoire : minimum 24 h

Système gastro-intestinal

Selles

Définition

Les selles ou matières fécales sont les résidus de la digestion.

L'examen de ces selles (examen coprologique) est d'une grande utilité en pathologie digestive.

Indications

- Diarrhée dans un contexte épidémique : crèche, intoxication alimentaire.
- Diarrhée associée à de la fièvre / à des troubles de l'état général

Remarque : si épisode aigu de diarrhée : 2 ou 3 prélèvements peuvent être nécessaires.

Prélèvement

Technique de prélèvement

Les selles sont recueillies dans un récipient propre. Une noix de selles est placée dans <u>un pot</u> <u>bactériologiquement propre</u> à l'aide d'une spatule puis la selle sera prélevée à 3 endroits différents avec un <u>Fécal Swab</u>. On prendra de préférence un fragment muqueux ou sanglant.



Ne pas utiliser de papier toilette pour récolter les selles. Le papier peut être imprégné de sels de baryum qui sont des inhibiteurs pour les germes pathogènes.

Remarque : Obtention de l'échantillon pour recherche de parasites

Une recherche correcte de parasites doit se faire sur 2 à 3 échantillons de selles prélevées à des moments (jours) différents. S'il y a forte suspicion de parasites, contacter le biologiste. Le patient doit éviter certains aliments (pêches, poires...) qui peuvent rendre le diagnostic plus difficile ou donner lieu à la présence d'œufs en transit dans les selles.

Eviter de prélever des selles chez un patient après avoir utilisé du barium, des antibiotiques, l'huile minérale, du bismuth, des agents anti-malariques et des préparations anti-diarrhéiques non absorbables. Ces substances gênent ou empêchent la détection des protozoaires intestinaux. Eviter la contamination par l'eau et les urines.

Analyses à cocher

- Signaler tout renseignement clinique comme par exemple : retour d'un pays étranger, fièvre, prise d'antibiotiques.
- Culture et antibiogramme des germes entéropathogènes
- Recherche d'adenovirus et/ou rotavirus uniquement chez les enfants de moins de deux ans.
- Recherche de l'antigène Clostridium difficile toxinogène (> à 2 ans)
 - O Seulement si le patient a reçu des antibiotiques dans les 15 jours précédents
 - O Si un épisode de *Clostridium difficile* est connu par le passé
 - Chez les patients hospitalisés depuis plus de 48 h : demander uniquement culture et/ou toxines *Clostridium* (pas de culture classique).
- Recherche de l'antigène *Clostridium difficile* toxinogène (**enfants < à 2 ans**)
 - o L'analyse est facturée aux alentours de 25 euros

Transport et conservation

Le prélèvement doit être immédiatement acheminé au labo afin d'éviter la dessiccation et la prolifération des bactéries commensales. Garder les selles prélevées au frigo à 4°C.

Intérêt clinique- Interprétation des résultats

Le diagnostic de diarrhée à *Clostridium difficile* repose sur la mise en évidence génome du germe et du gène codant pour la toxine B car seules les souches toxigènes sont pathogènes.

Chez un patient diarrhéique, la mise en évidence d'une bactérie réputée pathogène (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia spp.*) dans une coproculture doit être considérée à *priori* comme pathologique et conduire éventuellement à la réalisation d'un antibiogramme. Toutefois, il existe des porteurs sains de *Salmonella spp.* et toutes les salmonelloses ne doivent pas conduire à la prescription d'antibiotique.

Délai de réponse

- Les selles ne présentant pas de germes pathogènes sont répondues après 48 à 72 h.
- La recherche de *Clostridium difficile* toxinogène, la recherche de rotavirus, d'adénovirus, de parasites et de sang dans les selles sont répondues en 24 h (analyse non réalisée le weekend et jours fériés).

Lavage duodénal

Définition

Le lavage duodénal est effectué au cours d'une endoscopie. Au niveau duodénal, le liquide est prélevé par aspiration douce.

Indications

Recherche de Giardia sp., Ascaris sp. et Strongyloides stercoralis

Prélèvement

Technique de prélèvement

Introduire une sonde par la bouche jusqu'au duodénum (3^{ème} partie)

Analyses à cocher

Recherche de parasites

Intérêt clinique- Interprétation des résultats

La recherche de parasite doit être négative. Dans le cas contraire, considérer le résultat comme pathologique.

<u>Délai de réponse</u>

Dans les 24 h si négatif.

Système respiratoire Expectorations, aspirations et lavages

Définition

Expectoration

Produits d'expulsion des produits formés dans les voies respiratoires. Aussi appelées crachats.

Aspiration

L'aspiration des sécrétions broncho-pulmonaires par la sonde d'intubation est une méthode alternative lorsque les méthodes invasives sont contre-indiquées. Ce prélèvement ne nécessite pas de fibroscopie et se fait à l'aveugle. Le risque de contamination par la flore salivaire est important.

Lavage broncho-alvéolaire

Le prélèvement, réalisé sous fibroscopie, se compose de deux fractions : une fraction bronchique (50 ml) et une fraction alvéolaire (150-200 ml). Cet examen a notamment été préconisé chez les patients immunodéprimés chez lesquels la réponse inflammatoire avec recrutement de polynucléaire est absente.

Indications

- En association aux hémocultures quand suspicion d'une septicémie d'origine respiratoire.
- Chaque fois que la clinique suppose une pathologie (bronchite infectée, pneumonies, cancer, hémoptysie, tuberculose, ...).
- Pour contrôler l'efficacité d'un traitement. <u>Ex</u> : la tuberculose.
- S'il y a suspicion de :
 - o Corynebacterium diphteriae
 - o Arcanobacterium haemolyticum
 - o Bordetella pertussis
 - Actinomycoses
 - o Nocardia
 - o Legionella spp (uniquement sur LBA)

Le médecin doit contacter le laboratoire de bactériologie avant la récolte de l'échantillon car des techniques et/ou des milieux spéciaux sont nécessaires.

NB: La recherche de l'antigène Legionella pneumophila du serogroupe 1 dans les urines est plus sensible que la recherche dans les expectorations.

Prélèvement

On évitera dans toute la mesure du possible la contamination par la salive ou les sécrétions des voies respiratoires supérieures. L'expectoration et l'aspiration ne seront mis en culture que s'ils sont de bonne qualité (c'est-à-dire T4, T5 ou T6 selon la classification de Bartlett).

Recherche BK:

L'expectoration doit être prélevée de préférence dans de bonnes conditions (tôt le matin) pendant 3 jours consécutifs.

N.B: la culture BK peut être demandée <u>en même temps</u> que la culture aérobie sur un même échantillon, mais 1 ml est nécessaire pour la culture ordinaire et au moins 2,5 ml pour la culture BK. Si la quantité requise n'est pas atteinte, le laboratoire donnera la préférence à la culture ordinaire.

Technique de prélèvement

Expectoration spontanée

- Si possible, recueil le matin au réveil après avoir rincé abondamment la bouche avec de l'eau.
- Expliquer au patient qu'il ne doit pas expectorer de la salive dans le pot.
- Récolter l'expectoration dans un pot à bouchon vissé, bactériologiquement propre.



Aspiration endotrachéale

• Aspirer l'échantillon avec un piège à expectorations stérile.

LBA

- Passer le bronchoscope par voie nasale ou orale si le patient n'est pas intubé ou à travers le tube endotrachéal s'il est intubé.
- Bloquer l'extrémité du bronchoscope dans une bronche segmentaire (lavage bronchique) ou dans une bronche sous-segmentaire (lavage broncho alvéolaire).
- Récolte des échantillons
 - o Lavage bronchique et broncho alvéolaire
 - Injecter du sérum physiologique non bactériostatique (par aliquotes de 5-20 ml) avec une seringue par le canal à biopsie de l'endoscope.
 - Aspirer lentement le sérum physiologique dans un pot stérile avant d'injecter une nouvelle aliquote.
 - Garder les aliquotes récoltés dans des pots séparés.
 - Mélanger ensuite celles provenant d'un même site de récolte. Si des sites différents ont été prélevés, voir si c'est utile de les mélanger.
 - o Biopsie pulmonaire
 - Envoyer au laboratoire dans un récipient bactériologiquement propre qui contient une petite quantité de sérum physiologique non bactériostatique.

Analyses à cocher

- Examen direct (GRAM), culture aérobie (BK si nécessaire), antibiogramme.
- Renseigner si le patient reçoit des antibiotiques et immunosuppression.
- Culture levures : ne doit pas être systématique car les levures ne sont que rarement responsable d'infections respiratoires.
- Culture champignon : si suspicion d'aspergillose respiratoire chez les patients immunodéprimés

Version : 006 du 05-10-21 Page **18** sur **39**

• La culture anaérobie n'est pas réalisée en routine sur ces prélèvements respiratoires, sauf cas particulier.

Transport et conservation

L'expectoration doit être acheminée dans l'heure qui suit le prélèvement au labo avec un délai maximum de 3 ou 4 heures et être conservée au frigo, cela afin d'éviter la prolifération de germes non significatifs et la perte de germes pathogènes non résistants à t° ordinaire. Il n'est pas nécessaire (inutile) d'envoyer plus d'une bonne expectoration/jour.

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

- Gram:
 - o primordial pour un traitement empirique dans des unités à risque (USI, oncologie,...) et permet de déterminer la qualité de l'expectoration.
 - o Comme dit ci-dessus, seules les expectorations de classe T4, T5 et T6, selon la classification de Bartlett, seront mises en culture.
- Culture aérobie :
 - o Les résultats doivent être confrontés à la clinique du patient. Les agents pathogènes les plus fréquents sont : S. pneumoniae, H. influenzae, Enterobacter spp. et P. aeruginosa.
 - !!! des cultures significatives peuvent être le résultat d'une simple colonisation ne nécessitant donc pas de traitement antibiotique. Les micro-organismes pouvant être présents à l'état commensal sont : S. pneumoniae, H. influenzae, S. aureus.
 - Certaines bactéries sont considérées comme d'origine « salivaire » : les Staphylocoques coagulase négative, les Streptocoques α-hémolytiques autres que S. pneumoniae, les corynéformes, les Haemophilus autres qu'influenzae et les Neisseria spp. commensales.

Délai de réponse

- Résultat négatif : 48 h, sauf pour la recherche de champignon qui est d'une semaine
- BK : résultat négatif → min 8 semaines.
- Gram: 24 h

Frottis de gorge

Définition

On procède à l'écouvillonnage des amygdales ou, en leur absence, des piliers du voile du palais.

Indication

La principale indication du prélèvement de gorge est l'angine aiguë bactérienne.

Prélèvement

Technique de prélèvement

• Ils sont réalisés à l'aide d'un écouvillon <u>Eswab</u> muni d'un milieu de transport (bouchon rose).



- Ne pas réaliser de frottis de gorge si l'épiglotte est enflammée car risques sérieux d'obstruction respiratoire.
- Il convient de faire rincer la bouche du patient et d'utiliser un abaisse-langue pour éviter toute contamination salivaire.
- Les zones à prélever sont les amygdales et les piliers du voile du palais.

Analyses à cocher sur le bon de commande

- Gram
- Frottis gorge.
- Culture, antibiogramme.
- Antigène strepto A si nécessaire.

Transport et conservation

• Transport à température ambiante

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

Streptococcus pyogenes (Streptococcus du groupe A) est le principal agent étiologique des angines bactériennes aiguës. Les autres germes dont la causalité est fort discutée sont les Streptocoques du groupe C et G, ainsi que l'Arcanobacterium haemolyticum.

La liste des bactéries habituellement considérées comme pathogènes figure dans le Tableau ci-dessous.

Principales bactéries à rechercher au cours des infections pharyngées		
Contexte	Principaux objectifs	
angine aiguë, scarlatine ou dépistage	Isolement de <i>Streptococcus pyogenes</i> (groupe A), des streptocoques β-hémolytiques des groupes C et G	
angine ulcéro-nécrotique	Mise en évidence par microscopie uniquement de l'association fuso-spirochétienne caractéristique de l'angine de Vincent	

<u>Délai de réponse</u>

• Résultat négatif : 48 h

• Gram 24 h

• Résultat de l'antigène Streptocoque du groupe A : 24 h

Version : 006 du 05-10-21 Page **20** sur **39**

Prélèvement bouche-langue

Définition

Ecouvillonnage bouche-langue.

Indications

Prélèvements réalisés afin d'établir le diagnostic de candidose.

<u>Prélèvement</u>

Technique de prélèvement

- Rincer la bouche avec du sérum physiologique.
- Essuyer la lésion avec une gaze stérile
- Frotter la lésion avec un écouvillon ou un <u>Eswab</u> et envoyer dans un milieu de transport.



Analyses à cocher

Culture mycose.

Transport et conservation

Le prélèvement doit être acheminé dans les 2 h. Si cela n'est pas possible, il doit être conservé à 4°C.

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

Un résultat positif permet de confirmer une suspicion de candidose buccale.

Délai de réponse

Au minimum 48h pour un résultat négatif

Frottis de nez

Définition

Ecouvillonnage des deux narines

Indications

- Recherche de portage *Staphylococcus aureus* avant une chirurgie cardiothoracique ou de chirurgie avec implant (orthopédique,...)
- Recherche de portage de Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline
- Prélèvement de fosses nasales dans le bilan d'une staphylococcie

Prélèvement

Technique de prélèvement

- Introduire l'écouvillon <u>Eswab</u> dans les fosses nasales antérieures
- Tourner l'écouvillon sur la muqueuse nasale
- Répéter avec le même écouvillon dans l'autre narine
- Préciser si c'est une recherche de MRSA (Staphylocoque doré Oxacilline résistant) ou de Staphylocoque doré avant chirurgie (uniquement cardiaque ou orthopédique).

Analyse à cocher

- Dépistage MRSA
- Recherche de S. aureus en chirurgie cardiaque ou orthopédique

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

- Recherche de S. aureus résistant à la méthicilline (MRSA)
- Mise en évidence de Staphylococcus aureus

Fréquence de réalisation

Réalisée 7J/7J

Délai de réponse

Au minimum 48h pour un résultat négatif

Frottis profond naso-pharyngé

Définition

Frottis réalisée par le clinicien au niveau du naso-pharynx -

<u>Indications</u>

Recherche de RSV, de virus de la grippe, de coqueluche et/ou autres germes respiratoires.

<u>Prélèvement</u>

Technique de prélèvement

- Frottis:
 - o Pour la recherche de coqueluche : prélever un Eswab fin (tube à bouchon orange)



 Pour la recherche de grippe ou autres germes respiratoires par une technique moléculaire : prélever un frottis nasopharyngé sur un <u>tube UTM (Eswab bouchon</u> <u>rouge</u>) ou frottis équivalent (avec ou sans produit déactivant les virus).

Version : 006 du 05-10-21 Page **22** sur **39**



- o Etapes de prélèvement d'un frottis nasopharyngé :
 - Placer la tête du patient en hyperextension.
 - Introduire doucement le frottis et le laisser 20 à 30 sec sur place.
 - Avec un mouvement rapide, retirer l'écouvillon.
 - Avec le même écouvillon, procéder de la même façon sur l'autre narine.
 - Placer le frottis dans le tube avec le milieu de transport liquide (ne pas vider le tube).
 - Fermer le tube de transport et envoyer rapidement au laboratoire.



Ne pas faire des frottis de nez ou des frottis de gorge !!! Le test est très peu sensible sur ce type de prélèvement.

Analyses à cocher

Au niveau de « voies respiratoires »

- Recherche RSV, Influenza virus, SRAS-CoV-2, Panel repiratoire voies superieures.
- Recherche Influenza
- Recherche de la coqueluche : attention : l'analyse est remboursée dans certaines conditions seulement et si la prescription est faite par un pédiatre.

Transport et conservation

Acheminer l'échantillon au laboratoire aussi vite que possible. Si cela n'est pas possible, conserver l'échantillon entre 2 et 8°C.

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

Mise en évidence RSV, virus *Influenza*, de la coqueluche, SRAS-CoV-2 et d'autres pathogènes respiratoires.

Fréquence de réalisation

La recherche de RSV et Influenza est réalisée :

- Les jours ouvrables de 08h00 à 17h00
- Les WE et jours fériés de 08h00 à 12h00

Délai de réponse

La recherche de coqueluche est envoyée au laboratoire de référence si la PCR est positive : 24h — 1 semaine

Ponction ou aspiration sinusale

Définition

Ponction ou aspiration réalisée par le clinicien

Indications

Sinusites, parfois rhino-pharyngites

Prélèvement

Technique de prélèvement

- Le médecin aspire avec une seringue les sinus maxillaires, frontaux ou autres
- Le prélèvement est envoyé dans la seringue fermée par un petit bouchon stérile



Analyses à cocher

Au niveau « Pus ORL » : préciser la localisation

- Gram
- Culture aérobie, anaérobie
- Culture levures et champignons si nécessaire

Transport et conservation

Envoyer le prélèvement dans une <u>seringue fermée</u> par un petit bouchon stérile le plus rapidement possible.

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

Permet d'identifier le pathogène à l'origine de la sinusite aiguë ou chronique

Délai de réponse

• Résultat négatif : 48 h

• Résultat provisoire : 24 h

Liquide de tympanocentèse

<u>Définition</u>

Pus auriculaire prélevé par aspiration

Indications

- Otite moyenne aiguë de l'enfant et de l'adulte
- Otite moyenne récidivante

Prélèvement

Technique de prélèvement

- Nettoyer le canal externe
- Le médecin aspire à la seringue à travers le tympan. Le liquide est envoyé dans un pot bactériologiquement propre ou dans la seringue fermée par un petit bouchon stérile.



• Si le tympan est perforé, on récolte l'exsudat avec un Eswab bouchon orange.



• Le prélèvement est envoyé au laboratoire le plus vite possible.

Analyses à cocher

Au niveau de « Ponction » : préciser la localisation

- Gram
- Culture aérobie, anaérobie
- Culture levures et champignons si nécessaire

Transport et conservation

Envoyer le prélèvement dans un pot stérile ou une seringue fermée par un petit bouchon stérile le plus rapidement possible.

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

Dans le cas d'un pus prélevé par paracentèse, il n'y a pas à *priori* de problème d'interprétation. Il en va de même, quelle que soit la nature du prélèvement, lors de l'isolement d'*H. influenzae*, *S. pneumoniae* ou *M. catarrhalis* qui n'appartiennent pas à la flore du conduit auditif externe.

Délai de réponse

• Résultat négatif : 48 h (excepté champignon : 1 semaine)

• Résultat provisoire : 24 h

Frottis d'oreille

Définition

- Pus auriculaire prélevé par frottis
- Un frottis n'est pas recommandé pour le diagnostic d'une otite moyenne. Quand un écouvillon est prélevé, l'échantillon est contaminé par la flore du conduit auditif externe, ce qui risque de donner une interprétation clinique erronée.

Indications

Otite externe

<u>Prélèvement</u>

Technique de prélèvement

Le <u>frottis</u> ne devrait être utilisé qu'en cas d'écoulement par le tympan. Il faut, dans ce cas nettoyer au préalable le conduit externe avec une solution antiseptique, puis rincer avec une solution physiologique. Prélever après quelques minutes avec un écouvillon <u>Eswab à bouchon</u> orange, assez fins pour permettre des prélèvements auriculaires.



Analyses à cocher

Au niveau des prélèvements ORL : préciser la localisation

- Culture aérobie et Gram
- Culture levures et champignons si nécessaire

Transport et conservation

Envoyer le prélèvement le plus rapidement possible.

Q08PL03A94 RECOLTE ET TRANSPORT DES ECHANTILLONS BACTERIOLOGIQUES

Version: 006 du 05-10-21 Page **26** sur **39**

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

Le pseudomonas aeruginosa est le germe le plus souvent incriminé.

Délai de réponse

• Résultat négatif : 48 h (excepté champignon : 1 semaine)

• Résultat provisoire : 24 h

Liquides corporels stériles (sauf LCR, urines et sang)

Définition

Les liquides d'épanchement (pleural, ascite, péritonéal, péricardique, par exemple) correspondent à la présence d'une quantité anormale de liquide dans les séreuses. Ces liquides de provenance diverses sont :

- Des transsudats d'origine mécanique dûs à l'altération de fonctions physiologiques (insuffisance cardiaque, cirrhose, syndrome néphrotique,...)
- Des exsudats consécutifs à une irritation ou à une inflammation des séreuses généralement due à une infection microbienne ou à un cancer
- Des épanchements de séreuses infectées, lors de l'ouverture d'un organe creux

Indications

Une ponction exploratrice s'impose dans tous les épanchements

Prélèvement

Technique de prélèvement

- Nettoyer le point de ponction, puis désinfecter avec de la Chlorhexidine alcool 2% ou de l'Isobétadine dermique ou alcoolique® afin de prévenir l'introduction d'une infection.
- Le médecin fait la ponction percutanée de façon aseptique pour l'obtention de liquide pleural, péricardique, péritonéal ou articulaire.
- Injecter le liquide dans un tube conique ou un pot bactériologiquement propre



• Si suspicion d'anaérobies, faire sortir de la seringue les bulles d'air puis la boucher avec un petit bouchon stérile et l'envoyer au laboratoire.

Version : 006 du 05-10-21 Page **27** sur **39**



Si la quantité est suffisante, il est intéressant d'en injecter dans une <u>paire d'hémoculture</u> ou une hémoculture pédiatrique.

NB: si éléments/formule et/ou chimie demandés sur le prélèvement ne pas oublier d'en injecter dans un tube hépariné (bouchon vert) pour la chimie et un EDTA (bouchon mauve) pour la cyto-hématologie. L'analyse bactériologique est irréalisable sur ces tubes.

Analyses à cocher

Au niveau « liquides de ponction » : préciser la nature et la localisation

- Gram, culture aérobie et/ou anaérobie.
- La recherche des BK peut être réalisée si nécessaire.
- Culture levures et champignons si nécessaire.

Transport et conservation

- Transporter à température ambiante, jamais à 4°C.
- Envoyer au laboratoire aussi vite que possible.

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

L'examen microscopique est très souvent positif à un seul germe, vraisemblablement responsable de l'infection. Les cultures bactériennes se positivent rapidement et sont souvent mono-microbiennes. L'interprétation du résultat ne pose habituellement pas de problème.

Cependant, la culture peut être polymorphe, dans des cas de fistules communicantes, rendant impossible la réalisation d'un antibiogramme.

Délai de réponse

- Résultat négatif : 48 h, sauf pour les hémocultures (5 jours) et les champignons (1 semaine)
- Gram: 24 h

Prélèvement de peau et tissus sous-cutanés

Définition

Les infections cutanées bactériennes ont des présentations cliniques très diverses. Les bactéries sont responsables d'infections de l'épiderme, du derme et de l'hypoderme. On classe ces infections en deux catégories :

- Infections cutanées primaires (impétigo, folliculite, furoncle) survenant sur une peau apparemment indemne mais parfois dans le cadre d'infections spécifiques
- Infections cutanées secondaires (ou surinfections) survenant sur une peau lésée (lésion traumatique, dermatose chronique, infection virale)

Selon la profondeur du tissu atteint, on distingue 3 types de suppurations :

- Les suppurations de classe I :
 - o Foyer infectieux est sans relation directe avec l'extérieur. Il s'agit de suppurations concernant une zone profonde fermée, normalement stérile.
- Les suppurations de classe II :
 - o Profonde et fermée. Le foyer communique ou a communiqué avec un organe contenant une flore commensale. Les suppurations closes secondaires locales font suite à des manœuvres chirurgicales, médicales ou à un traumatisme.
 - o Profondes et ouvertes, fistules. Il peut y avoir une contamination via la flore commensale de la peau (abcès fistulisé par exemple)
- Les suppurations de classe III :
 - Superficielles, ouvertes avec une forte contamination par la flore commensale. Ces échantillons ont une très forte probabilité de contenir à la fois des bactéries pathogènes et des bactéries commensales.

Indications

- Suppurations de classe I :
 - o Identifier les bactéries responsables de l'infection au niveau de sites normalement stériles
- Suppurations de classe II et III :
 - o Tenter d'imputer un lien causal entre une ou des bactérie(s) et la constitution de la suppuration et de les différencier des flores commensales

Prélèvement

!!! Ne pas prélever une plaie sèche

Plaie superficielle bactérienne

- Une aspiration à la seringue ou une biopsie profonde est toujours préférable à un frottis.
- Si aspiration possible :
 - o Désinfecter la plaie avec de l'Isobétadine dermique[®] ou Chlorhexidine aqueuse.
 - o Laisser sécher le désinfectant.
 - o Laver à l'eau physiologique stérile
 - Avec une petite seringue de 5 ml, le médecin aspire la partie la plus profonde de la lésion.
 - O Si l'aspiration ne ramène rien, injecter du sérum physiologique. Répéter l'aspiration.

Page 29 sur 39

o Envoyer la seringue fermée avec un petit bouchon stérile.





• Si une aspiration n'est pas possible, prélever avec un <u>frottis Eswab rose</u> la partie la plus profonde de la lésion.



Ulcère ou escarre

- Désinfecter la région avec de l'Isobétadine dermique® ou Chlorhexidine aqueuse.
- Laisser sécher le désinfectant.
- Enlever les débris.
- Laver à l'eau physiologique
- Prélever la base de l'ulcère ou de l'escarre avec un <u>écouvillon Eswab rose</u> qui est envoyé au laboratoire. **Une biopsie est toujours préférable**.

Plaie profonde ou biopsie tissulaire

- Morsures
 - o Désinfecter la région avec de l'Isobétadine dermique® ou Chlorhexidine aqueuse.
 - Aspirer le pus de la plaie ou l'obtenir au moment de l'incision, drainage ou débridement de plaies infectées. Il n'y a pas d'intérêt à faire de prélèvement sur des plaies fraîches.
- Plaies profondes ou abcès
 - o Désinfecter la région avec de l'Isobétadine dermique® ou Chlorhexidine aqueuse.
 - o Laisser sécher le désinfectant.
 - Prélever la partie la plus profonde de l'abcès en évitant un contact avec la partie superficielle.
 - Si le prélèvement est fait en chirurgie, il convient d'envoyer un peu de la paroi de l'abcès pour culture microbiologique.

Analyses à cocher

- Plaie superficielle : au niveau des « frottis et pus superficiels », préciser la localisation :
 - O Culture aérobie uniquement sauf en dermatologie où une culture levure et champignon peut être demandée
- Ulcère, escarre, plaie profonde ou biopsie, au niveau des « frottis et pus profonds » : préciser la localisation :

Version : 006 du 05-10-21 Page **30** sur **39**

- o Culture aérobie
- o Culture anaérobie
- o Levures et champignons (uniquement sur les biopsies)

Transport et conservation

L'échantillon doit être transporté à température ambiante pour préserver les germes la viabilité des germes anaérobies.

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

Les informations cliniques sont essentielles à la poursuite de l'examen : nature et site de la lésion, modalités de prélèvement, contexte global (âge, état immunitaire du patient, diabète, infection en cours, corticothérapie), traitement antibiotique récent éventuel.

Seule la confrontation de l'examen microscopique et du résultat de la culture avec la clinique permet une interprétation fiable.

Les cultures mixtes (contenant plus de 3 espèces bactériennes) reflètent généralement une contamination, une colonisation ou un transport différé. Toutefois, il faut faire une exception pour les prélèvements de morsure qui sont souvent polymicrobiens.

Délai de réponse

- Résultat négatif : 48 h, sauf la biopsie : 1 semaine
- Gram 24 h

Urines

Définition

L'infection urinaire est une des infections communautaires les plus fréquentes. Les voies urinaires représentent le second site d'infections bactériennes après l'arbre respiratoire chez l'adulte et chez l'enfant.

Le tractus urinaire est normalement stérile. Cependant, dans les derniers centimètres de l'urètre distal, il existe une flore polymorphe d'origine digestive, cutanée et génitale.

L'infection urinaire correspond à l'agression d'un tissu de l'arbre urinaire par un ou plusieurs micro-organismes, générant une réponse inflammatoire et des symptômes de nature et d'intensité variables selon le terrain. La colonisation correspond à la présence d'un ou de plusieurs micro-organisme(s) dans l'arbre urinaire sans manifestations cliniques.

L'examen cyto-bactériologique des urines est l'un des examens biologiques les moins invasifs dont l'étape pré-analytique est pourtant l'une des plus critiques en microbiologie.

Indications

Confirmer l'infection urinaire et identifier l'agent pathogène causal.

Prélèvement

Généralités

- Ne jamais récolter des urines dans une panne ou un urinal.
- Nettoyer l'orifice urétral au savon avant tout prélèvement.
- Utiliser des pots stériles pour la récolte.
- Tout prélèvement d'urine fait par sondage ou cathétérisation doit respecter les techniques d'asepsie.
- Envoyer la première urine du matin. Pour la recherche de mycobactéries, il convient d'envoyer les 3 premières urines (un minimum de 30 ml est nécessaire).
- Ne jamais demander de culture sur des urines de 24 heures.
- Pour les ponctions sus-pubiennes, envoyer l'urine dans la seringue fermée avec un petit bouchon stérile.

Technique de prélèvement

- Urines à mi-jet chez la femme
 - o La personne qui récolte les urines doit se laver les mains à l'eau et au savon, les rincer puis les sécher. Si c'est la patiente qui le fait, bien lui expliquer auparavant.
 - Nettoyer l'orifice urétral et le vestibule vaginal avec des gazes imprégnées d'eau savonneuse.
 - o Rincer avec des gazes humides.
 - o Ecarter les grandes lèvres pendant la miction, laisser passer le début des urines.
 - Prélever à mi-jet dans un <u>pot bactériologiquement propre bouchon jaune muni d'un</u> « holder ».
- Urines à mi-jet chez l'homme
 - o La personne qui récolte les urines doit se laver les mains à l'eau et au savon, les rincer puis les sécher. Si c'est le patient qui le fait, bien lui expliquer auparavant.
 - O Nettover la verge, décalotter et laver avec une eau savonneuse
 - o Rincer avec de l'eau
 - o En laissant la verge décalottée, laisser passer le début des urines
 - Prélever à mi-jet dans un <u>pot bactériologiquement propre bouchon jaune muni d'un</u> <u>« holder ».</u>
- Sondage vésicale « minute » : le sondage n'est réalisé que dans le but de récolter des urines, la sonde étant retirée immédiatement après.
 - O Avant le prélèvement le patient doit boire afin d'avoir la vessie pleine.
 - O Nettoyer l'orifice urétral avec de l'eau savonneuse, puis rincer.
 - o En utilisant la technique aseptique, passer la sonde jusqu'à la vessie.
 - o Rejeter les 15-30 ml d'urine initiale.
 - o Récolter ensuite dans un pot bactériologiquement propre.
- Urines de patient sondé
 - O Nettoyer l'endroit de récolte prévu sur la sonde avec de l'antiseptique alcoolique.
 - En utilisant une technique stérile, ponctionner avec une seringue et une aiguille à l'endroit de récolte. Ne pas déconnecter la sonde pour prélever. Ne pas piquer dans le sac à urines.
 - O Verser l'urine récoltée dans un pot à urines bactériologiquement propre.
- Urines chez les petits enfants

- Chez les enfants ou une récolte par miction spontanée est impossible, la récolte des urines se fait par petits sacs qu'on applique sur la peau.
- o Nettoyer au préalable la région périnéale avec de l'eau savonneuse, en utilisant un gant de toilette et un essuie propres.
- Après s'être lavés les mains et mis des gants stériles, désinfecter avec de la chlorhexidine aqueuse.
- o Quand le désinfectant est sec, appliquer l'Urinocol.
- o Enlever le sac le plus vite possible après l'émission d'urines.
- O Verser le contenu dans un pot à urines bactériologiquement propre.

A partir du pot récolté et pour tous les cas de figure ci-dessus :

- O Prélever deux tubes à partir du pot :
 - Un <u>tube d'urine à bouchon jaune</u> : servira pour le sédiment urinaire
 - Un tube d'urine à bouchon noir : servira pour la culture urinaire
 - Si le volume est faible, envoyer juste le pot.



Analyse à cocher

Toujours préciser le mode de récolte : p.ex. mi-jet, sondage...

- Culture aérobie
- Culture levures si nécessaire
- Sédiment urinaire

Transport et conservation

Transporter l'urine dans les 2 heures au laboratoire. Si ceci n'est pas possible, les garder au frigo.

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

Les urines sont normalement stériles. L'infection urinaire est généralement mono-bactérienne. Le résultat de la culture est à interpréter en fonction du contexte clinique et biologique du patient.

<u>Délai de réponse</u>

Résultat négatif : 24 h sauf levures qui est de 48 h

Tractus uro-génital chez la femme

Définition

Les infections sexuellement transmissibles (IST) sont dues à différents micro-organismes responsables de manifestations cliniques variées. Certaines IST ont une phase d'incubation plus ou moins longue, d'autres présentent une symptomatologie aiguë d'emblée.

La limite avec les infections urogénitales non sexuellement transmissibles n'est pas toujours claire car les symptômes manquent de spécificité et les infections mixtes sont possibles.

Indications

Les prélèvements du tractus uro-génital sont envoyés dans le but de détecter des germes à transmission sexuelle (tels que Gonocoque, *Chlamydia trachomatis*, lymphogranulome vénérien, virus herpès simple**x**, *Trichomonas*, *Haemophilus ducreyi*, Streptocoque du groupe B et *Candida*).

Si ces germes ne sont pas retrouvés, des germes anaérobies peuvent être suspectés.

Prélèvement

Généralités

Un grand nombre de milieux étant mis en route à la culture il convient de prélever :

• Un Eswab bouchon rose pour les cultures et la recherche de *Trichomonas*.



• 1 <u>frottis spécial</u> si recherche d'herpès



• 1 frottis sur milieu de transport approprié si recherche par <u>PCR du Gonocoque et de Chlamydia trachomatis.</u>



• 1 écouvillon Eswab (bouchon bleu) pour la recherche ciblée de Streptocoque du groupe B



Technique de prélèvement

- Vulve
 - o Nettoyer la lésion au sérum physiologique. S'il y a une croûte sur la lésion l'enlever.
 - o Gratter la lésion jusqu'à l'apparition de liquide séreux.
 - o Enlever le liquide et les débris au moyen d'une gaze.
 - Presser la base pour refaire sortir du liquide.
 - o Prélever à la seringue, ou avec un Eswab.
- Urètre
 - o Faire une récolte 1 heure ou plus après que la patiente ait uriné.
 - O Stimuler la décharge en massant l'urètre contre la symphyse pubienne par toucher vaginal.
 - Récolter la décharge avec l'écouvillon ou l'Eswab.
 - Si aucune décharge n'a pu être obtenue, laver l'urètre externe avec de l'Isobétadine savon® et rincer à l'eau. Insérer un écouvillon ou un Eswab 2-4 cm dans l'endourètre, le tourner et laisser en place 1 à 2 secondes.
- Glande de Bartholin
 - O Décontaminer la peau avec de l'Isobétadine dermique®, puis aspirer au niveau de l'orifice du conduit
- Vagin
 - o Culture aérobie : Utiliser un spéculum sans lubrifiant. Récolter les sécrétions de la muqueuse avec un écouvillon ou un Eswab le plus haut dans le canal vaginal.
 - Recherche de Streptocoque B : se fait sur un frottis vagino-rectal réalisé à la 35-37 semaines de grossesse (utiliser préférentiellement le kit LIM « Eswab + tube LIM à bouchon bleu »).
- Col utérin
 - O Ne pas utiliser de lubrifiant pendant la procédure.
 - o Débarrasser le col du mucus et des sécrétions vaginales.

- A l'aide d'un écouvillon stérile ou un Eswab obtenir de l'exsudat des glandes endocervicales en le tournant. S'il n'y a pas d'exsudat, insérer l'écouvillon dans le canal endocervical et le tourner
- Endomètre
 - o Récolter l'échantillon par aspiration transcervicale à travers un cathéter.
- Trompes de Fallope
 - o Récolter de préférence avec une seringue que par un écouvillon ou un Eswab pendant la chirurgie.
- Liquide amniotique
 - O Aspirer le liquide par le cathéter, au moment de la césarienne ou à l'amniocentèse.

NB: Pour une recherche spécifique de Gonocoque ou de Chlamydia (par PCR dans un milieu de transport adéquat), le meilleur prélèvement est le frottis endocervical.

Analyses à cocher

- Culture aérobie, Gram
- Recherche de Trichomonas si nécessaire
- Recherche de Gonocoque si nécessaire
- PCR Chlamydia trachomatis / Neisseria gonorhoeae

Transport et conservation

Ils doivent être transportés rapidement (dans les 2h à température ambiante) au laboratoire dans des milieux de transport appropriés.

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

- Une coloration de Gram est réalisée sur tous les échantillons biologiques, avec pour le prélèvement vaginal détermination du score de Nugent. Il s'agit de quantifier grâce à une échelle de 0 à 4 le nombre de lactobacilles, de *Gardnerella* et de *Mobiluncus* par champ. Les trois scores obtenus sont totalisés et le score global correspond à un état clinique (absence de flore vaginale, flore vaginale équilibrée ou suspicion de vaginose bactérienne).
- Personne asymptomatique (dépistage IST) : permettre d'identifier l'agent pathogène.
- Personne symptomatique : identifier le pathogène responsable de la symptomatologie urogénitale
- Si culture Gonocoque positive : traitement selon les recommandations actuelles. Aucun antibiogramme ne sera réalisé.

Délai de réponse

• Résultat négatif : 48 h sauf culture de Neisseria gonorhoeae : 72 h

• Gram: 24 h

• PCR: 24 heures à 1 semaine

Tractus uro-génital chez l'homme

Définition

Voir « définition tractus uro-génital chez la femme ».

Indications

Voir « définition tractus uro-génital chez la femme ».

<u>Prélèvement</u>

Technique de prélèvement

- Urètre
 - o Récolter l'échantillon au moins 2 heures après que le patient ait uriné.
 - o Introduire un fin écouvillon ou un <u>Eswab bouchon orange</u> 2-4 cm dans l'endourètre, le tourner puis laisser en place 1 à 2 secondes avant de le ressortir.
- Frottis anal (pour recherche de gonocoque, ou virus herpès simplex)
 - o Introduire un écouvillon ou un <u>Eswab (rose)</u> à peu près à 2 cm du sphincter anal. Tourner l'écouvillon pour obtenir le matériel des cryptes anales.
- Lésion sur le pénis (pour la recherche de Gonocoque, Chlamydia, lymphogranulome vénérien, virus herpès simplex, *Treponema pallidum* et *Haemophilus ducreyi*).
 - Nettoyer la surface de la lésion avec du sérum physiologique. S'il y a une croûte sur la lésion, l'enlever.
 - o Gratter la lésion jusqu'à l'apparition de liquide séreux.
 - o Enlever le liquide et les débris au moyen d'une gaze.
 - o Presser la base pour refaire sortir du liquide.
 - o Prélever à la seringue, avec un écouvillon ou un Eswab stérile.
- Massage prostatique
 - o Faire un massage digital par toucher rectal
 - o Récolter les sécrétions dans un tube stérile, à l'aide d'un écouvillon ou un Eswab.
- Epididyme
 - O Aspirer avec une seringue munie d'une aiguille et mettre dans un tube stérile.

NB: Pour la <u>recherche spécifique de Gonocoque et de Chlamydia</u>, afin d'éviter un prélèvement intraurétral, la recherche peut s'effectuer sur les urines (premier jet, matinales). Verser l'urine dans le frottis pour recherche par <u>PCR</u> jusqu'au trait.

Analyse à cocher

• Gram, culture aérobie, gonocoque, PCR Chlamydia trachomatis / Neisseria gonorhoeae

Transport et conservation

Ils doivent être transportés rapidement (dans les 2h à température ambiante) au laboratoire dans des milieux de transport appropriés.

Intérêt clinique-Interprétation des résultats

- Personne asymptomatique (dépistage IST) : permettre d'identifier l'agent pathogène
- Personne symptomatique : identifier le pathogène responsable de la symptomatologie urogénitale
- Si culture Gonocoque positive : traitement selon les recommandations actuelles. Aucun antibiogramme ne sera réalisé.

Délai de réponse

• Résultat négatif : 48 h sauf culture de Neisseria gonorhoeae : 72 h

• Gram: 24 h

• PCR: 24 heures à 1 semaine

Annexes

Prélèvements COVID19

Frottis COVID19

- Encodage dans Cyberlab: microbiologie, respiratoire, PCR coronavirus COVID19
- Demande papier: Q04PQ05A32 ou Q04PQ05A33
- Réaliser un frottis naso-pharyngé et l'identifier correctement au moyen d'une étiquette au nom du patient, ou vignette (éviter de noter à la main).
- Placer le frottis dans un tube rigide
- Placer le tube rigide dans un sachet

Frottis grippe/RSV

Si vous désirez réaliser pour un patient suspect COVID19 une recherche de grippe/RSV, veuillez suivre la même procédure :

- Encodage dans Cyberlab: microbiologie, respiratoire, PCR Influenza/RSV
- Demande papier de microbiologie
- Réaliser un frottis naso-pharyngé et l'identifier correctement au moyen d'une étiquette au nom du patient, pas à la main
- Placer le frottis dans un tube rigide
- Placer le tube rigide dans un sachet (mettre la demande dans la poche kangourou)
- Envoyer les prélèvements le plus rapidmeent possible au laboratoire. Si nécessaire, les prélèvements peuvent être stocker un nuit au frigo en attendant l'acheminement au laboratoire.

<u>Placer le ou les 2 sachets (COVID +/- grippe/RSV) dans un 2^e sachet et y glisser dans la poche kangourou les bons de demandes (cyberlab ou manuel) et le bon d'envoi du COVID19.</u>
<u>Interdiction d'envoyer les prélèvements par télétube. Ceux-ci doivent être déposés en main propre au laboratoire.</u>

- Le bon d'envoi COVID19 peut être téléchargé en suivant ce lien (https://www.wiv-isp.be/Epidemio/NRC/FORMS/COVID-19 Lab form FR.pdf) /!| il est très important que ce bon soit rempli de manière scrupuleuse, coordonnées du patient et indiquer si le patient fait partie du personnel soignant
- Merci de vous référer au site de Sciensano pour vous tenir au courant des critères de dépistage du COVID19 https://epidemio.wiv-isp.be/ID/Documents/Covid19/Definition_de_cas.pdf

Autres prélèvements à risque élevé de contamination :

- Prélèvements respiratoires
- Selles

Doivent parvenir au laboratoire selon les mêmes précautions (double emballage). décrit pour les frottis ci-dessus).

Les hémocultures, les urines, les ponctions et les écouvillons de dépistage de BMR sont à faible risque de contamination et peuvent être emballés et acheminés de manière classique au laboratoire.

Q08PL03A94 RECOLTE ET TRANSPORT DES ECHANTILLONS BACTERIOLOGIQUES