



# **MANUEL DE PRÉLÈVEMENT**

## **LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE**



**Centre Hospitalier Lucien Husel**  
**Vienne (38)**



## Table des matières

FONCTIONNEMENT DU LABORATOIRE.....	5
CONTACTS .....	6
GENERALITES .....	7
L'EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE.....	7
CATALOGUE DES ANALYSES.....	7
PRESCRIPTION .....	7
SERVICES INTERNES AU CHV .....	7
PRESCRIPTEURS EXTERNES AU CHV .....	8
FICHES DE CONSENTEMENT ET DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES .....	9
DONNEES ET CONFIDENTIALITE .....	9
AJOUT D'ANALYSES .....	9
ANALYSES EN URGENCE ET EN PERIODE DE GARDE.....	10
NON CONFORMITES .....	10
NON CONFORMITE LIEES A L'IDENTIFICATION DES PRELEVEMENTS .....	10
NON CONFORMITES PRE-ANALYTIQUES .....	11
NON CONFORMITES ANALYTIQUES.....	12
RESULTATS.....	13
CONSULTATION DES RESULTATS .....	13
AVIS ET INTERPRETATION.....	13
DELAI D'OBTENTION DES RESULTATS.....	13
RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES.....	15
IDENTIFICATION DU PRELEVEMENT .....	16
PRELEVEMENT VEINEUX.....	17
ETAPES DE LA REALISATION D'UN PRELEVEMENT VEINEUX .....	17
ORDRE DES TUBES .....	18
NOMBRE DE TUBES A PRELEVER .....	19
PRELEVEMENT D'UNE GAZOMETRIE ARTERIELLE.....	22
PRELEVEMENT EN CAPILLAIRE.....	24
MATERIELS DE PRELEVEMENT.....	28
ACHEMINEMENT D'UN PRELEVEMENT AU LABORATOIRE.....	32
Acheminement par les services / établissements sur le site du CHV .....	32
Conditionnement des prélèvements.....	32
Modes d'acheminement .....	32



Acheminement par les services/ établissements en dehors du site du CHV.....	34
PREPARATION DU PATIENT .....	36
RECUEIL ET PRELEVEMENTS PARTICULIERS.....	38
BIOCHIMIE .....	38
BIOCHIMIE BIOCHIMIE URINAIRE SUR URINES DE 24 HEURES.....	38
TAUX DE REABSORPTION DU PHOSPHORE.....	38
DOSAGE DES MEDICAMENTS .....	38
TESTS DYNAMIQUES.....	39
GAZ DU SANG .....	39
RECHERCHE DE CRYOGLOBULINEMIE.....	40
HEMATOLOGIE .....	40
HEMOSTASE .....	41
Les AVK .....	41
Les héparines et apparentés : .....	41
LES « NOUVEAUX ANTI-COAGULANTS » ou AOD : .....	42
BILAN DE THROMBOSE.....	42
IMMUNO-HEMATOLOGIE.....	42
IMMUNOLOGIE .....	43
SEROTHEQUE.....	43
MICROBIOLOGIE .....	44
EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES - ECBU .....	45
ANTIGENE LEGIONELLE URINAIRE .....	48
ANTIGENE PNEUMOCOQUE URINAIRE.....	49
CYTOLOGIE URINAIRE FONCTIONNELLE .....	50
EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DE LIQUIDE CEPHALO-SPINAL (LCS) .....	51
HEMOCULTURES.....	53
EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES CATETHERS .....	57
EXAMEN BACTERIOLOGIQUE D'UN PIED DE DIABETIQUE INFECTE.....	59
EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES INFECTIONS OSSEUSES ET ARTICULAIRES.....	61
EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES COLLECTIONS CLOSES ET DES SEREUSES .....	63
EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES LIQUIDES DE DRAIN ET DE DIALYSE.....	65
EXAMEN BACTERIOLOGIQUE PLAIE, D'ULCERE, D'ESCARRE.....	66
EXAMEN MYCOLOGIQUE DE LA PEAU ET DES PHANERES.....	69
PRELEVEMENTS RESPIRATOIRES .....	71



EXAMEN MICROBIOLOGIQUES DES PRELEVEMENTS D'OREILLE .....	73
EXAMEN MICROBIOLOGIQUES DES PRELEVEMENTS DE GORGE .....	74
EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DE PRELEVEMENT NASAL, RHINO-PHARYNGE ET PUS DE SINUS...	75
EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES PRELEVEMENTS OCULAIRES .....	77
EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES PRELEVEMENTS PERINATAUX .....	79
EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES PLACENTAS .....	81
EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES PRELEVEMENTS VAGINAUX.....	82
EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES STERILETS .....	84
RECHERCHE DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS ET NEISSERIA GONORRHOEAE PAR PCR .....	85
EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES PRELEVEMENTS URETRAUX.....	86
EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES SELLES - COPROCULTURE .....	87
RECHERCHE DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXINOGENE .....	88
RECHERCHE D'ADENOVIRUS ET ROTAVIRUS .....	89
PRELEVEMENTS DE DEPISTAGE-PORTAGE-RECHERCHE DE BACTERIES MULTIRESISTANTES .....	90
PRELEVEMENTS DE DEPISTAGE COVID/GRIPPE/VRS en PCR.....	92



## FONCTIONNEMENT DU LABORATOIRE

### HORAIRES JOUR :

7h30 – 16h00

Pour joindre le laboratoire de 7h30 à 16h00 : poste **3276** ou **3279**

### Fonctionnement réduit :

- De 16h00 à 7h30 (2 techniciens)
- Le Week-end (du samedi 16h00 au lundi 7h30)
- Les Jours Fériés (2 techniciens)

### Pour joindre le laboratoire de 16h00 à 7h30 :

#### **7849** pour:

- Bilan biologique : biochimie, toxicologie (sang et urines), gazométries, coagulation, hématologie
- AES (Accident d'Exposition au Sang)

#### **7848** pour :

- Groupages, RAI, Rh Coombs, transfusions, Kleihauer
- Bactériologie (LCR, pour pédiatrie : ECBU et liquide gastrique)
- Antigènes solubles urinaires
- Recherche paludisme

A partir de minuit (ou avant si examen très urgent), vous devez impérativement prévenir la personne de garde de l'envoi ou du dépôt d'un prélèvement.



Le matin les examens transmis aux laboratoires extérieurs doivent impérativement parvenir au laboratoire avant 9 heures.  
Eviter de prélever ces examens les WE et Jours Fériés.



## CONTACTS

CHEF DE SERVICE : Dr Céline Darnaud

Cadre de santé : Amandine Bussian

### **SECTEUR ANALYTIQUE**

#### **BIOCHIMIE - IMMUNOLOGIE :**

Biologistes : Dr Viviane Blanc-Pattin

Dr Charlotte Pralong

#### **HEMATOLOGIE - HEMOSTASE - IMMUNO-HEMATOLOGIE**

Biologistes : Dr Céline Darnaud

Dr Ziad BEN ABDALLAH

#### **BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE - PARASITOLOGIE**

Biologistes : Dr Marie Bonjean

Dr Anne-Laure Danquigny

Dr Charlotte Pralong

#### **EXAMENS DE BIOLOGIE DELOCALISEE**

Biologistes : Dr Charlotte Pralong

### **CELLULE QUALITE**

Responsable Assurance Qualité : Dr Marie Bonjean

Suppléantes : Dr Charlotte Pralong

Dr Viviane Blanc-Pattin

### **SYSTEME INFORMATIQUE DU LABORATOIRE**

Responsable informatique : David Moulard



## GENERALITES

### L'EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE

Un examen de biologie médicale est un acte médical qui concourt à la prévention, au dépistage, au diagnostic ou à l'évaluation du risque de survenue d'états pathologiques, à la décision et à la prise en charge thérapeutiques, à la détermination ou au suivi de l'état physiologique ou physiopathologique de l'être humain (article L. 6211-1 du Code de la santé publique).

Un examen de biologie médicale se déroule en trois phases :

- **la phase pré-analytique**, qui comprend le prélèvement d'un échantillon biologique sur un être humain, le recueil des éléments cliniques pertinents, la préparation, le transport et la conservation de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il est analysé
- **la phase analytique**, qui est le processus technique permettant l'obtention d'un résultat d'analyse biologique
- **la phase post-analytique**, qui comprend la validation, l'interprétation contextuelle du résultat ainsi que la communication appropriée du résultat au prescripteur et, au patient, dans un délai compatible avec l'état de l'art (article L. 6211-2 du Code de la santé publique).

### CATALOGUE DES ANALYSES

Le catalogue des analyses du laboratoire du CH Lucien Husse est disponible sur Ennov via la procédure « Analyses réalisées par le laboratoire ». Il doit constituer une aide lors de la prescription d'examens de biologie

### PRESCRIPTION

La prescription est assurée par un professionnel habilité et doit répondre à une question clinique. Elle s'appuie sur les recommandations de bonnes pratiques et si nécessaire sur un échange entre clinicien et biologiste médical.

### SERVICES INTERNES AU CHV

Les prescriptions d'examens de biologie médicales peuvent être réalisés au moyen de la prescription connectée ou à défaut par les bons de demandes.

- **La prescription connectée :**  
Se référer au document « Prescription d'examens de laboratoire (connecté) » disponible sur Ennov
- **Le bon de demande d'examens :**  
Les bons de demandes sont à utiliser en seconde intention et en procédure dégradée

Sur toutes ces feuilles de demandes d'examens biologiques, il est obligatoire de renseigner : la date de prélèvement, l'heure de prélèvement, le nom du



prescripteur, le nom du préleveur et les parties : renseignements cliniques, biologiques, ...

Il est obligatoire de suivre les consignes énumérées ci-dessous. Le non-respect de ces règles génère une non-conformité pouvant retarder le rendu des résultats.



Utiliser un stylo noir ou bleu (**pas de fluo**, **pas de marqueur**, **pas d'encre de couleur**)

**Ecrire lisiblement dans les cases prévues à cet effet**

**Cocher les examens et renseignements cliniques au feutre ou au stylo noir, bleu ou rouge**

**BON DE DEMANDE D'ANALYSES DE BACTERIOLOGIE**  
numéro d'agrément du Laboratoire 38201237

**Attention, ne pas couvrir le code-barres et les marques latérales**

**Coller les étiquettes code-barres du patient**

**Inscrivez le nom, la qualité du prescripteur et du préleveur. N'oubliez pas de signer**

**PRESCRIPTEURS EXTERNES AU CHV**

La prescription peut se fait par l'intermédiaire de bons de demandes qui sont mis à disposition des établissements partenaires ou d'ordonnances habituelles. Les renseignements obligatoires restent les mêmes.





## FICHES DE CONSENTEMENT ET DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

Pour certains examens, des fiches de consentements ou de renseignements cliniques sont nécessaires pour :

- Aider à l'interprétation
- Mieux comprendre les résultats
- Respecter la réglementation (Ex : Fiches de consentement)

## DONNEES ET CONFIDENTIALITE

Le laboratoire garantit la confidentialité et le respect du secret médical pour toutes les informations concernant les patients.

Les prélèvements sont traités de façon impartiale et sans faire l'objet d'une quelconque discrimination.

En cas de sous-traitance, les informations du patient utiles à l'interprétation biologique (identité et renseignements cliniques) seront transmises au laboratoire effectuant l'analyse.

Si le laboratoire est amené à rendre publique une information patient, il devra en avvertir ce dernier sauf si la réglementation lui l'interdit.

En cas d'enquêtes ou de diffusion d'informations confidentielles en dehors du CHV, l'accord du patient est requis et celui-ci peut s'opposer à la transmission de ses données personnelles (épidémiologiques, démographiques, médicales, thérapeutiques, etc...).

La diffusion d'informations peut concerner :

- les centres nationaux de référence (CNR),
- les instances administratives (HAS),
- les laboratoires sous-traitants,
- Autres établissements de soins/professionnels de santé.

Ces informations sont apportées lors de l'entretien du personnel médical avec le patient.

Le coût des analyses (fixés par le NABM ou proposé par arrêté) et les délais de rendus de résultats peuvent être demandés au laboratoire pour les patients en consultation ou prélevés au centre de prélèvement.

## AJOUT D'ANALYSES

Il est possible de réaliser certaines analyses complémentaires sur les prélèvements déjà reçus. Le rajout est validé par le laboratoire en fonction des délais de stabilité pré-analytique définis par le laboratoire et du volume d'échantillon restant.



## ANALYSES EN URGENCE ET EN PERIODE DE GARDE

Tous les examens de biologie médicale sont réalisés du lundi au vendredi de 8h à 16h.

En dehors de cette période, seuls les examens pouvant être demandés en urgence sont réalisés. (voir la procédure « Analyses réalisées par le laboratoire »).

En prescription connectée, quel que soit l'horaire, il est possible de demander la réalisation des examens en urgence. Les délais de réalisation sont alors précisés dans la procédure « Examens définis comme urgents ».



Des circuits spécifiques ont été créés pour les urgences vitales immédiates de la maternité et du bloc opératoire (Voir procédure EXAMENS DE BIOLOGIE EN URGENCE VITALE) et les urgences AVC.

## NON CONFORMITES

Les non-conformités sont signalées sur le compte-rendu de résultats. Si un nouveau prélèvement est nécessaire, le laboratoire s'engage à recontacter le prescripteur, le préleveur ou éventuellement le patient.

### NON CONFORMITE LIEES A L'IDENTIFICATION DES PRELEVEMENTS

L'identification des échantillons doit être réalisée par le préleveur au moment du prélèvement, afin de minimiser le risque d'erreur d'identité. L'étiquette d'identification doit mentionner le nom usuel, le nom de naissance, le prénom, la date de naissance et le sexe du patient, ainsi que son numéro de visite.

Tout prélèvement non identifié ou incorrectement identifié sera refusé par le laboratoire et devra être à nouveau prélevé, sauf cas particuliers. Dans ce cas, le laboratoire s'engage à prévenir au plus vite le service prescripteur.

#### Critères de non acceptation :

- Tubes non identifiés (même si le bon de demande est identifié)
- Discordance d'identité entre les tubes ;
- Etiquettes dans le sachet mais non collées sur les tubes
- Discordance d'identité entre les tubes et bon de demande d'analyse (hors prescription connectée)

#### Cas particuliers :

Pour les prélèvements suivants, dits « précieux », ils seront acceptés mais le préleveur devra venir au laboratoire pour identifier les prélèvements et signer une « fiche de décharge ».



Les prélèvements précieux correspondent aux échantillons difficiles à reprélever du fait du site de prélèvement profond (LCR, biopsies, myélogramme, ...) ou vis-à-vis du contexte (jeune enfant). Ils correspondent également aux échantillons non réitérables (stérilet, placenta, ...).

### Liste des prélèvements précieux :

- Biopsies ;
- Pièces opératoires ;
- Prélèvements profonds (os, tissu mou, abcès profond) ;
- LBA (liquide de Lavage Broncho Alvéolaire) ;
- Prélèvements sous fibroscopie ;
- LCR : Liquide Céphalo Rachidien ;
- Myélogramme ;
- Liquides de ponctions (pleural, d'ascite, péritonéal, articulaire) ;
- Liquides gastriques des nouveau-nés ;
- Stérilet, placenta ;
- Gazométries sur sang **artériel** ou sang de cordon ;
- Rhésus et test à l'antiglobuline (TDA) sur sang du cordon ;
- Prélèvements sanguins des enfants de moins de 2 ans ;
- Autres cas particuliers suivant décision du biologiste.

### NON CONFORMITES PRE-ANALYTIQUES

Conformité du prélèvement :

- Prélèvement détérioré à réception
- Prélèvement non reçu au laboratoire
- Contenant périmé
- Groupages sanguins : préleveur ou heure de prélèvement identique

Conditions pré-analytiques non respectées :

- Contenant non adapté ou périmé
- Délai dépassé
- Température d'acheminement non respectée
- Conditions de centrifugation non respectées
- Tube égaré ou cassé au laboratoire
- Ré-étiquetage erroné du prélèvement

Erreur d'enregistrement des analyses au laboratoire :

- Champ libre

Informations manquantes :

- Nom du préleveur non renseigné.
- Nom du prescripteur non renseigné.
- Temps de cycle non renseignés
- Fiche de renseignement ou consentement absent



Erreur de prescription :

- Analyse(s) redondante(s)
- Mauvaise prescription
- Analyse(s) obsolète(s)

## NON CONFORMITES ANALYTIQUES

Conditions analytiques non respectées :

- Tube insuffisamment rempli
- Prélèvement dilué (perfusion)
- Tube trop rempli
- Prélèvement coagulé
- Problème ou erreur analytique au laboratoire



## RESULTATS

### CONSULTATION DES RESULTATS

Les résultats sont consultables sur les serveurs de résultats Orbis et Cyberlab. Chaque utilisateur possède un identifiant et un mot de passe personnel.

Se référer aux procédures correspondantes : « Utilisation de Cyberlab » et « Guide d'utilisation d'ORBIS/DPI » .



Il faut limiter les demandes de résultats par téléphone aux cas exceptionnels.

Pour les analyses sous-traitées :

- Sur le compte-rendu du laboratoire, sont mentionnés le nom du laboratoire sous-traitant, le nom de l'analyse demandée et la date de réception du résultat
- A son retour, le résultat des HCL est intégré au dossier patient (sauf pour les résultats de génétique constitutionnelle). Pour les autres sous-traitants, les résultats sont disponibles en version papiers.

Pour les établissements extérieurs, les résultats sont transmis par voie dématérialisée et/ou au format papier.

### AVIS ET INTERPRETATION

Les intervalles de référence figurent sur le compte-rendu de résultats.

Les biologistes peuvent donner des commentaires concernant les résultats (prestations de conseils). Le médecin prescripteur reste le seul interlocuteur pour les interpréter en fonction de la clinique et de la thérapeutique. Le laboratoire peut être amené à communiquer des résultats par téléphone, par fax ou par courriel. Les rapports confirmant l'envoi par fax sont conservés.

Dans le cas uniquement de résultats urgents ou pathologiques, la transmission des résultats par téléphone est enregistrée dans le Système d'Information du Laboratoire. Il est demandé au soignant auquel on a communiqué les résultats de les répéter puis de les consulter pour s'assurer de sa bonne compréhension et de vérifier son identité. La liste des critères d'alerte est établie en accord avec les services de soins.

L'hémolyse, l'ictère et la lactescence du prélèvement peuvent interférer avec le dosage de certains analytes. Dans ce cas, les résultats ne sont pas rendus.

### DELAI D'OBTENTION DES RESULTATS

Le délai d'obtention des résultats dépend de l'analyse demandée, et du temps de traitement pré-analytique à effectuer (centrifugation ...). Le délai moyen de



rendu de résultat (jours ouvrés) est indiqué dans le catalogue des analyses pour chaque examen réalisé au laboratoire.

Le laboratoire s'engage à informer le titulaire d'un retard dans le délai de rendu de résultats. Les automates utilisés pour la réalisation des analyses doivent faire l'objet de maintenances qui peuvent induire une indisponibilité de ceux-ci pour une durée limitée. Le maximum est fait pour que ces maintenances s'effectuent en périodes creuses et aient le moins d'incidence possible sur le rendu des résultats. Des maintenances curatives peuvent également se produire en cas de dysfonctionnement ou de panne d'un automate.

Dans le cadre d'examens demandés en urgence, les délais spécifiques sont définis dans la procédure « Examens définis comme urgents ».



## RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES

Le laboratoire a mis en place un système de gestion de la qualité impliquant le respect strict des procédures de prélèvement et de transmission des échantillons biologiques. C'est pourquoi, l'implication de chacun dans le respect de ces conditions pré-analytiques est nécessaire.

### Quel que soit le prélèvement

- Vérifier les dates de péremption des tubes et des milieux de transport.
- Vérifier la propreté des tubes avant prélèvement.
- S'assurer du bon choix des tubes.
- S'assurer que les récipients sont hermétiquement bouchés (notamment pour les urines : ne pas remplir le récipient à ras bord).
- Les transporter dans les sachets plastiques adéquats : tube ou flacon dans le sachet, prescription dans la poche extérieure. Dans le cas où les prélèvements doivent être transportés dans la glace, la placer dans un sachet à part.
- Veiller à ne pas surcharger les sachets.
- Consulter le catalogue des analyses.



Le non-respect des conditions de prélèvement constitue un critère de non-conformité de l'échantillon et peut par conséquent entraîner la non-exécution des analyses prescrites.



## IDENTIFICATION DU PRELEVEMENT

Le laboratoire est le seul à ne pas avoir de contact direct avec le patient, il fait donc confiance à l'identité qui lui est donnée.

### L'IDENTIFICATION AU CHEVET DU PATIENT DOIT ÊTRE VÉRIFIÉE

L'identification du patient doit être vérifiée : utiliser le bracelet d'identification ou, si l'état du patient le permet, lui demander de décliner son identité. Se référer à la « Charte d'identification du Patient »



La vérification de l'identité est réalisée en questionnant le patient

Comment vous appelez-vous ? (**Nom, Prénom**)  
Quelle est votre date de naissance ?

L'étiquetage des récipients contenant l'échantillon biologique doit être fait au moment du prélèvement par la personne ayant réalisé celui-ci. Ne pas utiliser d'étiquettes d'hospitalisations ou de consultations précédentes.

Si une anomalie sur l'identité est identifiée dans un service de soins, ne pas oublier de prévenir le bureau des entrées.



Usurpation d'identité : j'ai le devoir de signaler au laboratoire mon doute quant à l'identité d'un patient. (Se référer à la procédure « Gestion des identités : Suspicion Usurpation d'identité »)

### IDENTIFICATION DES PRELEVEMENTS :

5 renseignements obligatoires sur le prélèvement via l'étiquette patient :

- NOM D'USAGE
- Prénom
- NOM DE NAISSANCE
- Date de naissance
- Sexe

4 renseignements obligatoires sur la prescription (Automatique en prescription connectée)

- Nom du prescripteur
- Nom et prénom du préleveur (correctement identifiables, sans abréviation)
- Date et heure de prélèvement
- Renseignements cliniques





## PRELEVEMENT VEINEUX

### ETAPES DE LA REALISATION D'UN PRELEVEMENT VEINEUX

#### Matériel :

- Compresses non stériles.
- Garrot.
- Pansement adhésif.
- Antiseptique alcoolique. En cas de prélèvement pour une alcoolémie, ne pas utiliser d'antiseptique alcoolisé (ex : Dakin, Chlorexidine aqueuse).
- Corps + aiguille sécurisée
- Tubes de prélèvements

#### Etapes du prélèvement :

#### 1 Vérification de l'identité



Identification positive du patient :  
Nom, prénom, date de naissance.

#### 2 Préparation du matériel



Préparation complète du plateau : garrot, gants, désinfectant, compresses, DASRI, tubes, aiguilles...

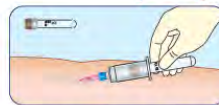
#### 3 Prélèvement

##### • Pose du garrot



Après désinfection, laisser sécher le site de ponction. Relâcher le garrot dès que le sang s'écoule dans le premier tube.  
Pose du garrot : < 1 min.

##### • Cathéter ou prolongateur : purger la tubulure selon le dispositif en place<sup>3</sup>



Cathéter : 1 tube de purge (tube neutre de 3mL).



Prolongateur : 2x le volume mort, ou 6x pour les tests de coag. (1 à 2 tubes de purge).

#### 4 Homogénéisation



Homogénéiser tous les tubes par plusieurs retournements lents dès le retrait du tube.



#### 5 Identification des tubes



Etiquetage manuel

Les tubes sous vide sont prévus pour aspirer le volume indiqué. Le remplissage est terminé quand l'aspiration par le vide ne se fait plus

Respecter conditions de stockage (4-25°C) et date de péremption



Les tubes ne doivent jamais être étiquetés avant le prélèvement. L'identification se fait après le prélèvement et sur le lieu du prélèvement.

Si le patient est perfusé, prélever impérativement sur le bras opposé (sinon en dessous de la perfusion) : risque de dilution du prélèvement.



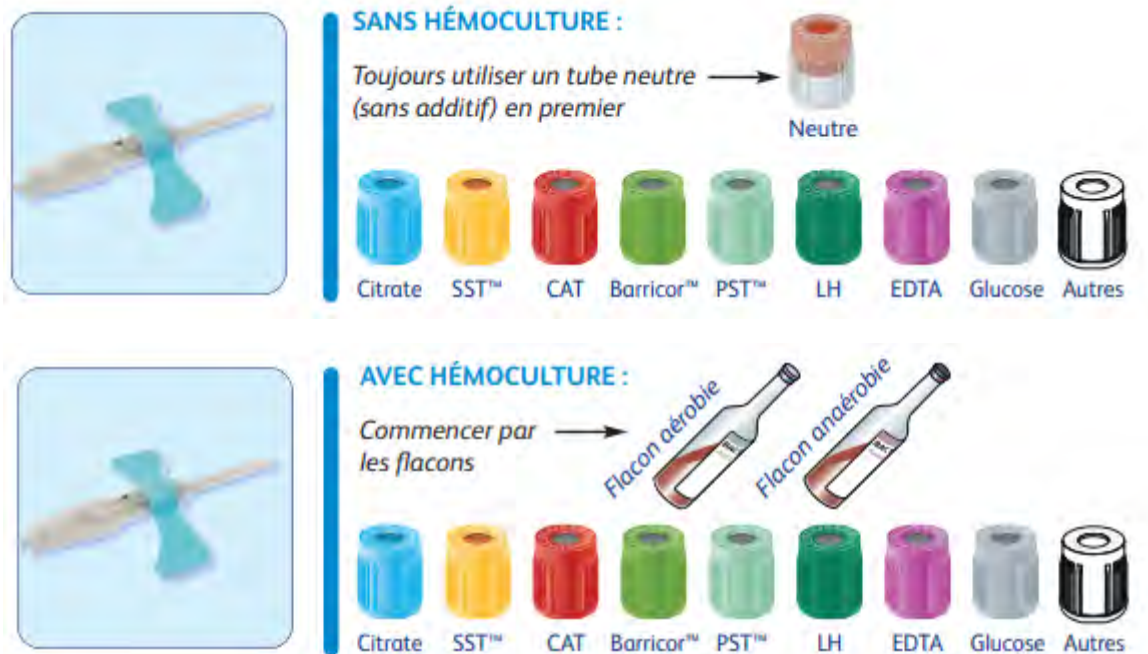
## ORDRE DES TUBES

L'ordre de prélèvement des tubes a pour but d'éviter des résultats erronés dus à une contamination entre les additifs de tube.

### Prélèvement avec vacutainer



### Prélèvement avec ailettes



Les tubes rouges contiennent un activateur de coagulation, il est donc nécessaire de les homogénéiser également.












Si le patient est difficile à piquer, n'hésitez pas à demander des micro-tubes ou des tubes pédiatriques au laboratoire. Les tubes de prélèvement partiel (bouchon translucide) peuvent se remplir plus lentement que les tubes de même taille qui ont un volume d'aspiration plus grand. Lorsque le remplissage est fait à partir d'une seringue, certains tubes peuvent se remplir partiellement à cause de la résistance du piston. Il est alors possible de compléter au trait avec tube débouché en respectant les précautions d'hygiène.














Ne jamais transvaser d'un tube à l'autre.

















NOMBRE DE TUBES A PRELEVER

	Analyses	Couleur bouchon	Volume	Nbre de tubes Observations
<b>ATTENTION : Ne jamais transvaser le sang d'un tube à l'autre car l'anticoagulant est différent suivant le tube</b>				
<b>HEMATOLOGIE</b>	Numération Formule (NFP) : (GR, hémoglobine, hématocrite, VGM, leucocytes, plaquettes), Réticulocytes Recherche de schizocytes Recherche d'hématozoaires : paludisme, babésiose ou « Goutte épaisse »		4 ml ou 2 mL	1 tube
	VS (Vitesse de sédimentation)		4 ml	1 tube
<b>IMMUNO-HEMATOLOGIE</b>	Groupage sanguin + phénotype + RAI + Test direct à l'antiglobuline (TDA ou Coombs direct)  Ou Rhésus + TDA CORDON		4 ml ou 2 mL	1-tube
	Kleihauer		4 ml ou 2 mL	1 tube
<b>Pour la coagulation : remplir CORRECTEMENT le tube pour respecter le rapport sang/anticoagulant (90% de remplissage symbolisé par le trait translucide)</b>				
<b>COAGULATION</b>	TP, INR, TCA, Fibrinogène, D-Dimères, PDF, Dosage activité anti-Xa (HNF, HBPM) Facteur V, dosage rivaroxaban, apixaban		2.7 ml ou 1.8 mL	1 tube
	Plaquettes citratées		2.7 ml ou 1.8 mL	1 tube
	Facteurs de coagulation : Facteur II, V, VII, VIII, IX, X, XI		2.7 ml	1 tube
	Facteur XII, Facteur de Willebrand (sous-traités)		2.7 ml	1 tube
	ACC = « anticoagulants circulants » Comprend : TP, TCA, fibrinogène, activité anti-Xa, ACC + pour analyses sous-traitées : Ac anti-β2GP1 et anti-cardiolipines		2.7 mL	4 tubes Pas de tube à demi volume
	Protéine C, Protéine S		2.7 ml ou 1.8 mL	2 tubes
	Mutation du Facteur II Mutation du Facteur V (Leiden) + Consentement éclairé du patient		4 ml ou 2 mL	1 tube



<b>BIOCHIMIE</b>	<p><b>Ionogramme simple</b> (Na, K, Cl-)  <b>Iono complet</b> : + bicarbonates, protéines totales, Urée, créatinine  <b>Bilan hépatique</b> : ASAT, ALAT, PAL, GGT, Bilirubine totale et conjuguée  Marqueurs cardiaques : <b>Troponine, NT-ProBNP</b>  Enzymes : CK, LDH, lipase,  <b>EAL</b> : cholestérol total, HDL, Apo A1, LDL mesuré, LDL, triglycérides  <b>Phosphore, magnésium, acide urique</b>, corps cétoniques  <b>Bilan ferrique</b> : <b>fer, ferritine, transferrine</b>, récepteurs solubles de la transferrine, coefficient de saturation de la transferrine  <b>Protéines</b> : CRP, IgA, IgG, IgM, C3, C4, albumine, préalb, haptoglobine,  <b>Grossesse</b> : <math>\beta</math>-HCG  <b>Médicaments</b> : Carbamazépine (Tégréto), Acide valproïque (Dépakine), digoxine (Digoxine), Gentamycine, amikacine, vancomycine, tobramycine  Toxicologie : <b>Alcool, paracétamol</b>  Vitamines : <b>Vitamine B12, folates (B9)</b></p>		<b>4 ml ou 2 mL</b>	<b>1 tube</b> <b>Pas d'exposition à la lumière</b>
	Folates érythrocytaires		<b>4 ml ou 2 mL</b>	<b>1 tube</b> <b>Pas d'exposition à la lumière</b>
	<b>Acides biliaires</b>		<b>3.5 ml</b>	<b>1 tube</b>
	 <b>Lactates (=acide lactique)</b> <b>Délai d'acheminement :</b> <b>15 min à température ambiante</b> <b>1 heure dans la glace</b>		<b>2 mL</b>	<b>1 tube</b>
	<b>Glycémie seule</b> <b>Hyperglycémie provoquée par voie orale HGPO)</b>		<b>2 ml</b>	<b>1 tube</b>
	<b>Lithium sérique</b>		<b>4 ml</b>	<b>1 tube</b>
	<b>Procalcitonine (PCT)</b>		<b>3.5 ml</b>	<b>1 tube</b>
	 <b>Ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)</b> <b>Délai d'acheminement :</b> <b>15 min à température ambiante, 1 heure dans la glace</b>		<b>4 ml ou 2 mL</b>	<b>1 tube</b>
	<b>Hémoglobine glyquée (HbA1c)</b>		<b>4 ml ou 2 mL</b>	<b>1 tube</b>



<b>Hormonologie</b>	Bilan thyroïdien : TSH, T4I, T3I, ATPO, thyroglobuline, Ac anti-thyroglob. Marqueurs tumoraux : ACE, AFP, PSA total, PSA libre CA 19.9, CA125, CA 15.3, $\beta$ 2-microglobuline (B2M) Cortisol, FSH, LH, estradiol, Testostérone Prolactine, Vitamine D, PTH, Insuline, ECA		<b>3.5 ml</b>	<b>1 tube</b>
<b>Sérologies</b>	HIV, Hépatite A IgM, Hépatite B (VHB), Hépatite C (VHC), Toxoplasmose IgG, IgM, Rubéole IgG, Syphilis (TPHA)		<b>3.5 ml</b>	<b>1 tube</b>
	CMV, EBV (Ac anti-VCA, EA et EBNA), Lyme, Hépatite E IgM		<b>3.5 ml</b>	<b>1 tube</b>
	Tétanos		<b>3.5 ml</b>	<b>1 tube</b>
<b>TB-IGRA</b>	TB-IGRA (Ex quantiféron) <b>Le tube doit impérativement être rempli à 4mL</b>		<b>4 mL</b>	<b>1 tube</b>
<b>Immunologie</b>	<b>Electrophorèse des protéines sériques (EPS), immunofixation (IF), immunotypage (IT)</b>		<b>3.5 ml</b>	<b>1 tube</b>
	<b>Auto-Immunité :</b> Facteur rhumatoïde (FR), Ac anti-CCP		<b>3.5 ml</b>	<b>1 tube</b>
	<b>Auto-immunité :</b> ACAN (ou Anticorps anti-nucléaires ou centromères), Anti-ADN (DNA) Anti-Antigènes solubles du noyau (ENA) Anti-mitochondrie, Anti-muscle lisse, Anti-LKM Anti-cellules pariétales)		<b>3.5 ml</b>	<b>1 tube</b>
	<b>Anti-transglutaminase IgA</b>		<b>3.5 ml</b>	<b>2 tubes</b>
	<b>ACTH</b>  <b>Envoyer le plus rapidement possible au laboratoire, si possible dans la glace</b>		<b>5 mL</b>	<b>1 tube</b>
<b>GDS</b>	 <b>Gaz du sang artériel/veineux (+ Na, K, Cl, glucose artériel), Lactates CarboxyHB, MéthHB, Calcium ionisé Délai d'acheminement : 15 mn si à température ambiante (30 mn si prélèvement dans la glace) (Voir protocole de prélèvement dédié)</b>	 <b>Seringue spéciale</b>	<b>1.6 ml</b>	<b>1 seringue</b>
	<b>Cryoglobulines</b> <b>Voir protocole spécial (tubes préchauffés à 37 °C au laboratoire)</b>		<b>4 ml</b>	<b>3 tubes</b>

Pour toutes autres analyses, voir le manuel de prélèvement des HCL (Biobook HCL : <https://biobook.chu-lyon.fr/Home>).





## PRELEVEMENT D'UNE GAZOMETRIE ARTERIELLE

### Matériel :

- Antiseptique
- Une paire de gants de soins à usage unique non stériles
- Pansement adhésif
- Compresses non stériles.
- Kit de prélèvement de sang artériel (seringue montée sécurisée).

### Préparation du patient

#### Gazométrie sans oxygène :

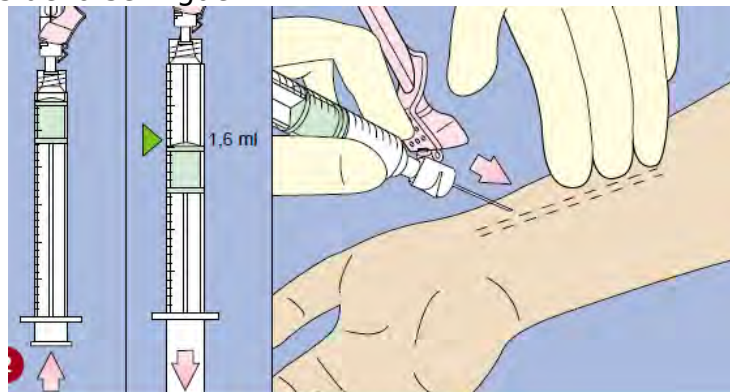
- air ambiant
- arrêt de l'oxygénothérapie 10mn avant le prélèvement

#### Gazométrie sous oxygène :

- nasale (30mn après le dernier réglage du débit)
- ventilation artificielle (10mn après le dernier réglage du respirateur)

### Etapes du prélèvement :

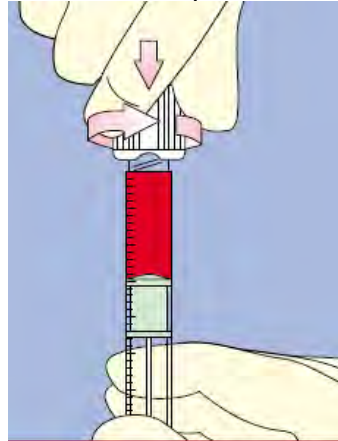
- 1- Vérifier l'identité du patient et la concordance avec la prescription médicale.
- 2- Informer le patient de l'acte et le rassurer
- 3- Sortir la seringue de l'emballage. Positionner le piston sur le volume de sang souhaité (1.6ml recommandé) avec un minimum 1 mL
- 4- Effectuer une friction hygiénique des mains. Mettre une paire de gants.
- 5- Mettre la protection sous la zone choisie. Repérer l'artère choisie, et désinfecter le plan cutané. Décapuchonner la seringue.
- 6- Piquer dans l'artère à 45°. Ne pas aspirer, le sang reflue automatiquement dans le corps de la seringue.



- 7- Retirer l'aiguille de l'artère. Activer la sécurité d'une main et comprimer fermement le site de ponction de l'autre main à l'aide d'une compresse imbibée d'antiseptique pendant au moins 5 minutes.
- 8- Eliminer l'aiguille dans le collecteur pour objets tranchants/piquants
- 9- Poser le pansement adhésif.

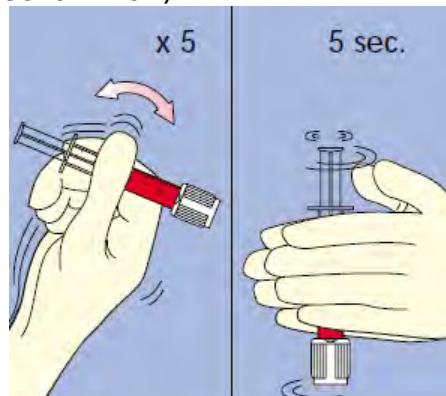


10- En cas de présence de bulle d'air, l'éliminer en tapotant et en poussant



doucement sur le piston.

- 11- Mettre le bouchon sur la seringue.
- 12- Homogénéiser la seringue par 5 retournements lents puis en roulant la seringue entre les mains pendant 30 secondes (permet de répartir l'héparine dans tout l'échantillon).



- 13- Identifier la seringue avec une étiquette patient
- 14- Retirer et éliminer les gants.
- 15- Effectuer une friction hygiénique des mains.

### Transmission au laboratoire

Le délai d'acheminement des gazométries au laboratoire doit être inférieur à 15 minutes.

Pour chaque gazométrie, il convient de préciser :

- La température du patient
- La nature de la ventilation : spontanée (air ambiant ou enrichi en O<sub>2</sub>) ou assistée (volume, fréquence, FIO<sub>2</sub>).



## PRELEVEMENT EN CAPILLAIRE

### Généralités sur le prélèvement capillaire :

La ponction capillaire permet d'effectuer des analyses sanguines avec de petites quantités de sang. L'objectif est d'obtenir des échantillons biologiquement représentatifs de l'état du patient, de réduire au minimum l'inconfort de celui-ci et d'assurer la sécurité des intervenants.

Le sang recueilli par ponction capillaire est un mélange en proportions indéterminées de sang issu d'artérioles, de veinules, de capillaires, de fluides interstitiels et intracellulaires. Il existe des différences pour certains analytes entre les dosages réalisés sur sang capillaire par rapport au sang artériel ou veineux. Des différences statistiques et/ou cliniques importantes sont décrites pour les concentrations de glucose, de potassium, des protéines totales et du calcium. A l'exception du glucose, la concentration de ces analytes est plus basse dans le sang capillaire.

### Panel d'analyses :

Les analyses suivantes peuvent être réalisées à partir de sang capillaire :

- Dans le service : surveillance de la glycémie, dépistage néonatal (analyse sur papier buvard)
- Au laboratoire :
  - Sur capillaire de 45 µL : gaz du sang, électrolytes
  - Sur microtubes : numération formule sanguine (NFS), bilirubine chez les nouveau-nés, électrolytes, ...

### Indications :

- Prélèvement pour des examens de laboratoire pouvant être faits avec du sang capillaire
- Préservation du capital veineux périphérique
- Absence d'abord veineux

### Contre-indications :

Le prélèvement capillaire est inapproprié selon :

- L'état clinique : patients sévèrement déshydratés et patients ayant une mauvaise circulation sanguine
- Selon les analyses à effectuer :
  - les tests de coagulation, pour lesquels un prélèvement veineux est recommandé
  - les analyses nécessitant > 1 mL de sang

### Risques :

- Douleur
- Hématome
- Infection du site de ponction, abcès
- Diminution de la sensibilité par épaissement de l'épiderme
- Ostéomyélite (talon)
- Etirement ligamentaire (talon)

### Ordre des tubes :

L'ordre de prélèvement recommandé en technique capillaire est différent de celui des échantillons relevés par ponction veineuse. Il est recommandé de suivre l'ordre de prélèvement suivant :

- gaz du sang
- tube EDTA
- autres tubes avec additifs
- tube sérum



**Les tubes citratés pour les examens de coagulation ne doivent pas être prélevés en méthode capillaire.**





### Le dispositif de prélèvement

Au CHV, il existe un seul dispositif de prélèvement : le système Accu-Chek® Safe-T-Pro Plus il permet de régler la profondeur d'incision.

 <p><b>Profondeur de 1.3 mm*</b> Usage pour peau fine ou si le volume de sang nécessaire est faible.</p>	 <p><b>Profondeur de 1.8 mm*</b> Usage pour peau normale ou si le volume de sang nécessaire est normal.</p>	 <p><b>Profondeur de 2.3 mm*</b> Usage pour peau épaisse ou si le volume de sang nécessaire est important.</p>
<p>Un réglage de profondeur de piqure 1.3 mm ou 1.8 mm permet d'atteindre les capillaires sanguins sans heurter l'os du talon lors d'une utilisation pédiatrique.**</p>		
<p> <i>Ne jamais atteindre l'hypoderme (davantage de terminaisons nerveuses)</i></p>		
<p><b>Utilisable en pédiatrie</b></p>		<p><b>Utilisable chez l'adulte</b></p>

Choix de la profondeur d'incision :

Recommandé pour un test unique (type glycémie au bout du doigt) : profondeur 1.3 mm (Pédiatrie)

Recommandé pour prélèvement avec 1 ou 2 microtubes : profondeur 1.8 mm (Pédiatrie)

- En cas de besoin, il est possible de faire plusieurs piqûres
- Non utilisable pour la coagulation

Recommandé pour prélèvement avec plus de 3 microtubes : profondeur 2.3 mm (Ne pas utiliser en pédiatrie)

Choisir une zone chaude, rose et dépourvue de callosité, brûlure, coupure, cicatrice, bleu ou rougeur. Le site ne doit pas être cyanosé (bleuâtre du fait d'un manque d'oxygène), oedémateux (gonflé) ou infecté. Eviter les zones montrant des traces de prélèvements antérieurs ou un état cutané affecté d'une autre manière.

### Le site de prélèvement

Les recommandations pour le choix du site de ponction selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) sont les suivantes :

#### Conditions influant le choix entre un prélèvement au talon ou au doigt

	Prélèvement au talon	Prélèvement au doigt
Âge	De la naissance à environ 6 mois	Plus de 6 mois
Poids	Entre 3 et 10 kg	Plus de 10 kg
Positionnement de la lancette	Sur la surface plantaire médiale ou latérale	Sur le côté de la partie charnue du doigt, perpendiculaire aux lignes de l'empreinte digitale
Doigt recommandé	-	Deuxième et troisième doigt de la main non dominante. Eviter le pouce et l'index à cause des callosités et le petit doigt car les tissus sont très fins.

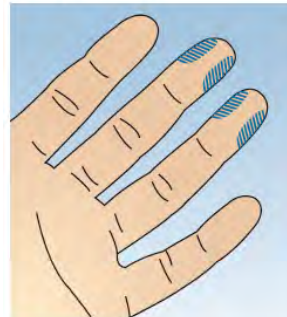


## Choix du site sur le doigt

Le site recommandé pour les prélèvements capillaires sur les adultes et les enfants de plus d'un an est la face palmaire de la phalange distale (extrémité) du troisième (majeur) ou quatrième (annulaire) doigt, de préférence sur la main non dominante (moins de callosités).

La ponction doit être pratiquée légèrement sur le côté de la pulpe du doigt. Si un dispositif de ponction à lame est utilisé, la ponction doit être perpendiculaire aux rainures des empreintes digitales.

1 Pulpe du doigt



2 Talon



## Choix du site au niveau du talon

Il est recommandé de pratiquer l'incision au talon sur la face plantaire latérale (externe) ou médiane interne).

Lors de l'utilisation de dispositifs d'incision, il est recommandé d'inciser la peau du talon avec un angle de 90° par rapport à l'axe longitudinal du pied. L'incision réalisée s'ouvre lorsque l'on exerce une légère pression, ce qui renforce l'écoulement de sang.

Attention !!! Pour les nourrissons, l'incision ne doit pas être réalisée sur :

- la courbure postérieure du talon
- la zone centrale du pied d'un nourrisson (zone de la voûte plantaire). Prélever à cet endroit peut causer des blessures aux terminaisons nerveuses, aux tendons et au cartilage.
- les doigts d'un nouveau-né ou d'un nourrisson âgé de moins d'un an
- le lobe de l'oreille

## Étapes à suivre pour un prélèvement de sang capillaire

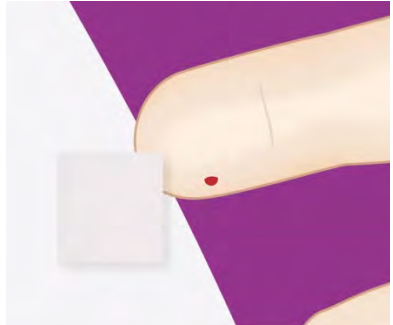


Les étapes suivantes doivent être réalisées :

1. Prendre connaissance de la (des) demande(s) d'analyse.
2. Rassembler le matériel approprié (lancettes, gants, compresses de gaze, alcool, pansements, etc.).
3. Confirmer l'identité du patient.
4. Vérifier les restrictions alimentaires (nécessité d'être à jeun, etc.) et toute sensibilité au latex
5. Se laver les mains et mettre des gants.
6. Le patient doit être en position assise ou allongée.
7. Choisir le site de prélèvement approprié.
8. Réchauffer le site de prélèvement.
9. Désinfecter le site de prélèvement avec de l'alcool à 70 % et laisser sécher à l'air. Le site de prélèvement doit sécher à l'air libre afin de laisser au désinfectant le temps d'agir et éviter tout risque de contamination de l'échantillon.
10. Prévenir les enfants plus âgés et les adultes de l'imminence de la ponction/incision.
11. Ponctionner/inciser la peau avec la lancette/le dispositif d'incision à usage unique.
12. Essuyer la première goutte de sang avec une compresse de gaze sèche
13. Prélever l'échantillon de sang dans le tube approprié et homogénéiser le tube conformément aux instructions du fabricant. Maintenir le doigt en déclive durant le prélèvement.
14. Reboucher le tube de prélèvement.
15. Appliquer une légère pression sur le point de ponction avec une compresse de gaze propre. Soulever légèrement le site de prélèvement (doigt ou talon).






16. Identifier le/les tube(s) de prélèvement et noter l'heure du prélèvement.
17. Eliminer la lancette/le dispositif d'incision dans un collecteur pour objets piquants et tranchants.
18. Eliminer tout autre matériel contaminé (gants, compresses de gaze, etc.) dans un collecteur approprié.
19. Après avoir retiré les gants, se laver les mains.

### Remplissage du capillaire












<p>1- Préparer le capillaire : introduire l'agitateur dans le capillaire et poser un bouchon à une extrémité, sans l'enfoncer</p>	<p>3- Positionner le doigt vers le bas pour laisser les forces capillaires remplir le tube</p>	<p>4- Laisser les forces capillaires remplir le tube capillaire :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>o Mettre le capillaire à 90° ou l'incliner légèrement vers le bas</li> <li>o Presser doucement et par intermittence les tissus environnants</li> </ul>
<p>2- Réaliser la ponction et éliminer la première goutte de sang avec une compresse stérile</p> 		
<p>5- Sceller le capillaire avec le second bouchon</p>		
<p>Si le sang ne s'écoule pas librement envisager une nouvelle ponction. S'il y a présence d'une bulle d'air, l'éliminer sur la compresse puis reprendre le remplissage du capillaire ou recommencer avec un autre capillaire.</p>		

### Remplissage des microtubes pédiatriques












<p>1- Préparer les tubes en respectant l'ordre suivant afin de ne pas mélanger les additifs des tubes :</p>		<p>3- Positionner le doigt vers le bas pour laisser les gouttes de sang tomber et remplir le tube. Eviter les mouvements de raclement.</p>
<p>2- Réaliser la ponction puis éliminer la première goutte de sang avec une compresse stérile.</p>		<p>4- Presser doucement, par intermittence les tissus environnants sans comprimer fortement pour éviter la dilution et l'hémolyse du prélèvement.</p> 










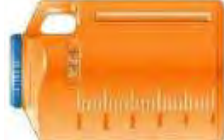




## MATERIELS DE PRELEVEMENT

Désignation	Lieu de commande	Référence	Images
<b>Tubes neutres</b>			
TUBE VACUTAINER SEC PET sérigraphié 5 ML VIDE 3 ML	Pharmacie	BD REF 362725	
<b>Tubes secs avec activateur de coagulation</b>			
TUBE VACUTAINER SEC+ ACTIV COAG PET ROUGE sérigraphié 130x 75 VIDE 4 ML	Pharmacie	BD REF 365904	
TUBE VACUTAINER SEC+ ACTIV COAG PET ROUGE papier 130x 75 VIDE 4 ML	Pharmacie	BD REF 365903	
<b>Tubes secs avec séparateur de sérum</b>			
TUBE VACUTAINER SST II ADVANCE PET JAUNE D'OR sérigraphié 13 x 75 VIDE 3.5 ML	Pharmacie	BD REF 368498	
TUBE VACUTAINER SST II ADVANCE PET JAUNE D'OR papier 13 x 75 VIDE 3.5 ML	Pharmacie	BD REF 367957	
<b>Tubes avec Héparinate de lithium</b>			
TUBE VACUTAINER HEPARINE LI PERT VIF sérigraphié 13 x 75 VIDE 2 ML	Pharmacie	BD REF 368272	
TUBE VACUTAINER HEPARINE LI PET VERT VIF sérigraphié 13 x 75 VIDE 4 ML	Pharmacie	BD REF 368496	
<b>Tubes avec anti-glycolytique</b>			
TUBE VACUTAINER NaF + EDTA K2 K PET GRIS sérigraphié 19 X 75 VIDE 2 ML	Pharmacie	BD REF 367933	
TUBE VACUTAINER NaF + EDTA K2 K PET GRIS papier 19 X 75 VIDE 2 ML	Pharmacie	BD REF 368920	
<b>Tubes pour dosage des éléments trace</b>			
TUBE VACUTAINER EDTA PET BLEU 13 X 100 VIDE 6 ML Réf: 185735	Pharmacie	BD REF 368381	
<b>Tubes avec EDTA</b>			
TUBE VACUTAINER EDTA K2 PET MAUVE sérigraphié 13 x 75 VIDE 2 ML	Pharmacie	BD REF 368274	




TUBE VACUTAINER EDTA K2 MAUVE sérigraphié 13 x 75 vide 4 ml	Pharmacie	BD REF 367862	
Tubes avec Citrate de Sodium 9 NC			
TUBE VACUTAINER CITRATE NA 3,2 % PET BLEU CLAIR sérigraphié 13x75 1,8 ML	Pharmacie	BD REF 368273	
TUBE VACUTAINER CITRATE NA 3,2 % PET BLEU CLAIR sérigraphié 13x75 2,7 ML	Pharmacie	BD REF 364305	
Tubes ACD			
TUBE VACUTAINER ACD JAUNE CLAIR 13 X 100 VIDE 6 ML	Pharmacie	BD REF 367756	
Tubes Aprotinine			
TUBE VACUTAINER APROTININE + EDTA verre ROSE 13 X 75 vide 2,5 ML	Pharmacie	BD REF 361017	
Microtubes pour pédiatrie			
Greiner Tube MiniCollect®, 1ml, 9NC Coagulation citrate de sodium 3.2%	Laboratoire	REF: 450539	
Greiner Tube MiniCollect®, 0,25/0,5ml, K2EDTA	Laboratoire	REF: 450532	
Greiner Tube MiniCollect® complète, 0.8ml , LH Lithium Héparine	Laboratoire	REF: 450550	
Greiner Tube MiniCollect®, 0,5/0,8 ml, CAT Sérum séparateur	Laboratoire	REF: 450533	
Greiner Tube MiniCollect®, 0,5/0,8 ml, CAT Sérum séparateur	Laboratoire	REF: 450534	
Tube pour LCR			
TUBE 15ML LCR PP, 17x120mm, Fd C, CELLSTAR®, bch vissant bleu, Dutscher	Magasin	REF 188171	
Flacon d'hémoculture			



BD BACTEC™ Plus Aerobic/F	Magasin	REF 442023	
BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F	Magasin	REF 442021	
BD BACTEC™ Peds Plus/F	Magasin	REF 442020	
<b>Capillaires Gaz du Sang</b>			
CAPILLAIRE Radiometer safeCLINITUBES	Laboratoire	REF 942-898	
<b>Seringues Gaz du Sang</b>			
Seringue BD Preset 3 ml	Pharmacie	REF 364390	
<b>Cantines, Pots, Poudriers</b>			
POUDRIER 50 ML ASEPTIQUE POLYPROPYLENE CAPE ROUGE VISSEE	Magasin	25184E	
POUDRIER 150 ML ASEPTIQUE POLYPROPYLENE CAPE ROUGE VISSEE	Magasin	25164E	
CANTINE URINE 24H VACU 3L	Magasin	688179B	
CANTINE POUR ELEMENTS TRACES	Magasin	364984	
<b>Ecouvillons</b>			
ECOUVILLON BD BBL CultureSwab EZ	Magasin	REF BD 220144	
ECOUVILLON BD BBL CultureSwab EZ II	Magasin	BD 220145	
<b>Autres</b>			
ECOUVILLON UNIVERSAL VIRUS TRANSPORT KIT 3 ML BD / Copan (Rouge)	Laboratoire	Réf : 220531	





KIT VITAPCR BIOSYNEX (Orange)	Laboratoire	Ref : AE0120 et AE0106	
KIT CEPHEID Specimen Collection and Transport Kit Xpert®	Laboratoire	REF 220531	
KIT UVI RESERVE MATERNITE / BLOC	Laboratoire	Préparé par le laboratoire	
HOLOGIC Aptima® Multitest swab collection kit	Laboratoire	REF HOLOGIC PRD-03546	
HOLOGIC APTIMA URINE SPECIMEN	Laboratoire	Ref HOLOGIC 301040	
HOLOGIC APTIMA UNISEX SWAB KIT Ref HOLOGIC	Laboratoire	Ref HOLOGIC 301041	
Papier Buvard pour recherche génétique	Laboratoire	10550022	
SALIVETTE + TAMPON COTON	Laboratoire	REF SARSTEDT 511534	
LAME PORTE-OBJET (Boite de 50)	Laboratoire	REF 3808100GEIP Ou 3808001GK Ou AA00000102E01MNZZO	
<b>Anatomopathologie</b>			
Hologic Flacon + conservateur cytolyt	Laboratoire	Ref 0200012	
CYPATH Flacons formol 60 ml	Laboratoire	Ref 01600252	
CYPATH Flacons formol 150 ml	Laboratoire	Ref 01150752	
CYPATH Seau formol 1L	Laboratoire	Ref 0310005001	
CYPATH Seau formol 3L	Laboratoire	Ref 05300015001	
CYPATH Seau formol 5L	Laboratoire	Ref 05500025001	



## ACHEMINEMENT D'UN PRELEVEMENT AU LABORATOIRE

Acheminement par les services / établissements sur le site du CHV

### Conditionnement des prélèvements

Lorsque les prélèvements sont réalisés, ceux-ci sont insérés dans un sac à usage unique scellé :

- La poche du sachet scellable contient le prélèvement
- La seconde poche contient les papiers associés à la demande (bon de demande d'examen hors prescription connectée, courrier, consentement...).

Les bilans urgents doivent être placés dans des sacs rouges.

Si pas de prescription connectée, la case « URGENT » doit être cochée sur le bon. Dans le cas des AVC et urgences vitales : prévenir également le laboratoire par téléphone (3279).

Examens considérés comme urgents : « Examens définis comme urgents » (ANN/PREAN/023) demandés :

- Par les services suivants : Urgences et Urgences Pédiatriques (même si le caractère d'urgence n'est pas spécifié).
- En urgence : par la case « URGENT » cochée sur le bon de demande en non presco ou coche « URGENT » en presco ou par une demande téléphonique.

Dans les offices infirmiers des services du CHV, les sachets sont déposés dans une corbeille identifiée « examen de laboratoire ».

### Modes d'acheminement

#### Acheminement par pneumatique

Les services disposant d'un pneumatique utiliseront au maximum cet outil.

Ne sont pas concernés par l'acheminement par pneumatique :

- Les prélèvements pouvant être acheminés par l'ASH du laboratoire lors de la collecte planifiée
- Les LCR ainsi que les prélèvements précieux (prélèvements d'anapath)
- Les prélèvements pour recherche de cryoglobulines
- Les PSL

Respecter les consignes relatives à l'utilisation du pneumatique (Cf. fiche de fonctionnement).

#### Hémocultures

Les hémocultures peuvent être envoyées par le pneumatique.

Les flacons sont calés dans la cartouche à l'aide de mousses.

#### Panne du pneumatique :





En cas de panne avérée le matin à 8h, un complément de collecte est mis en place par le laboratoire, suivant les horaires décrits dans le document « Tour de passage des ASH affectées au ramassage des examens » ANN/PREAN/024.

En dehors des horaires habituels de la collecte, le transport des prélèvements est pris en charge par le personnel des unités de soins.

Période de garde 18h30 à 07h30 :

Avant d'envoyer par le pneumatique, prévenir impérativement par téléphone, le personnel du laboratoire sur les téléphones mobiles au 7849 (labo) ou au 7848 (dépôt médicalisé de sang).

Acheminement par l'ASH du laboratoire affecté au ramassage

Le ramassage est assuré du lundi au vendredi hors week-end et jours fériés.

Les services concernés (incluant Calydial et ESMPI) sont informés de son horaire de passage (cf. « Tour de passage des ASH affectées au ramassage des examens » ANN/PREAN/024). Une traçabilité des horaires de passage est effectuée quotidiennement (Cf. « Traçabilité collecte des examens dans les services de soins » ANN/PREAN/031).

Cette organisation permet une optimisation du service rendu aux unités de soins et de la prise en charge des examens.

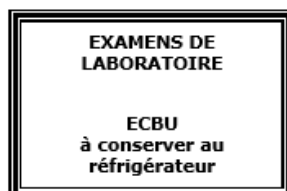
Lors des congés ou absences de l'ASH de collecte, si une ASH extérieure au service n'a pas été missionnée, chaque unité de soin aura en charge l'acheminement de ses prélèvements pour les services ne disposant pas du pneumatique.

Les échantillons sont transportés dans un contenant semi rigide (glacière).

Cas particuliers :

- Pour le service de Calydial, certains horaires de ramassage sont en dehors des horaires de présence de l'ASH affectée au ramassage. Dans ce cas se sont les autres professionnels du laboratoire qui peuvent être sollicités (techniciens, secrétaire).
- Pour les urines nécessitant une conservation à 4°C, celles-ci sont conservées dans le réfrigérateur du service en attendant l'horaire de collecte.

Un bon pré-imprimé est déposé dans la corbeille afin d'alerter la personne en charge de la collecte.



- Les flacons d'hémocultures doivent être acheminés le plus rapidement possible au laboratoire. Cependant, si le prélèvement est effectué proche de l'heure de collecte, les flacons sont conservés à température ambiante dans l'attente du ramassage (cf. « Délais de conservation des prélèvements de bactériologie » MO/PREAN/007).



#### Acheminement par les professionnels des unités de soins

- Pour les unités de soins qui ne bénéficient ni du pneumatique ni du ramassage organisé.
- En dehors des horaires de ramassage prévus pour les autres services
- Pour les prélèvements ne devant pas être acheminés par pneumatique :
  - o LCR et prélèvements précieux (anapath)
  - o Prélèvements pour la recherche de cryoglobulines
  - o PSL

De 07h30 à 18h30 les professionnels des unités de soins entrent librement dans le laboratoire et déposent les prélèvements au guichet d'accueil du laboratoire (à gauche en rentrant dans le laboratoire) en s'assurant de la visibilité de leur dépôt.

De 18h30 à 07h30 les professionnels des unités de soins sonnent à la porte du laboratoire et déposent les prélèvements dans le casier à gauche de la porte en prenant le temps de prévenir les techniciens par téléphone (numéros de téléphone affichés sur la porte).

#### Acheminement par les services/ établissements en dehors du site du CHV

##### Conditionnement des prélèvements

Les modalités d'acheminement par route des échantillons doivent être conformes à l'accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route (ADR). Cette norme ne concerne pas les PSL.

Les échantillons sont emballés selon l'instruction P650 de l'ADR définissant la règle du triple emballage (matière infectieuse de catégorie B) :

- Un emballage primaire : tube ou flacon de recueil, impérativement étanche
- Un emballage secondaire étanche destiné à renfermer le(s) récipient(s) primaire(s) : sachet individuel étanche avec matériau absorbant suffisant pour absorber tout le liquide en cas de bris ou de fuite
- Un emballage extérieur : glacière rigide ou semi-rigide sur lequel doit être apposé l'étiquetage réglementaire (Matière Biologique Catégorie B UN 3373) :



##### Maitrise de la température/délai d'acheminement dans les glacières

Les prescriptions des services/établissements qui ne sont pas sur site :



- Ne peuvent concerner d'examen à acheminer à 4°C (Ex : gazométrie, calcium ionisé, lactate, ammoniémie). Les prélèvements sont acheminés à température ambiante.
- Doivent être compatibles avec le respect des conditions de conservation pré-analytique (Cf. « Analyses/Tubes/Délais/Valeurs de référence » MO/PREAN/008 et « Délais acceptation et conditions de conservation prélèvements de bactériologie » ENR/BACT/041).  
La mesure de la glycémie devra être réalisée sur tube fluoré pour étendre la durée de conservation pré-analytique de 2h à 24h.

#### Mise en condition de l'enceinte

Pour une température ambiante comprise entre 15 et 24°C : placer les prélèvements directement dans la glacière.

Pour une température ambiante supérieure ou égale à 24°C : ramener la température interne de la glacière à une température inférieure avant d'y placer les prélèvements avec un eutectique froid : sortir l'eutectique de réfrigérateur, le placer dans la glacière 30 minutes avant de mettre les tubes.



Attention : les tubes doivent être placés à distance de l'eutectique réfrigéré (en s'assurant qu'il n'y a aucun risque que les tubes viennent en contact avec l'eutectique). Replacer l'eutectique au réfrigérateur après avoir acheminé les prélèvements au laboratoire, une fois la glacière vide.

#### Acheminement par véhicule climatisé

Les prélèvements sont ensuite acheminés par véhicule équipé d'une climatisation.



## PREPARATION DU PATIENT

### ETAT DE JEÛNE

Pour un certain nombre d'analyses, l'état de jeûne est l'un des éléments permettant la bonne exécution technique des analyses et une interprétation pertinente des résultats. En effet, certains dosages varient après le repas, parce que l'alimentation apporte elle-même certains des éléments dosés (ex : triglycérides, glucose, ...). Après un repas, la qualité du sérum ou du plasma est modifiée (trouble, viscosité).

Une période de jeûne stricte est recommandée pour certaines analyses (consulter le catalogue des analyses).

L'état de jeûne strict se définit par un délai de 12h entre le dernier repas et la prise de sang. Il est possible de boire un verre d'eau ; il est recommandé de prendre un repas léger la veille au soir.

Pour les autres analyses, une période de jeûne (de 4h) est recommandée mais non obligatoire. A défaut, un repas léger, pauvre en graisses, est à prévoir. Le prélèvement devra être effectué au moins 2 heures après le repas.

### RYTHME CIRCADIEN

Des horaires de prélèvement sont recommandés pour un bilan sanguin. En effet, la concentration de certains paramètres varie en cours de journée. C'est ce que l'on appelle « le rythme circadien ». Pour la plupart des analyses, les valeurs de référence ont été définies à jeun et au lever.

Indications pour certains paramètres :

- Cortisol : dosage à 8h
- ACTH : dosage à 8h00
- Prolactine : éviter les fins de nuit

### POSITION

Afin que le prélèvement se fasse de manière optimale, le patient doit être en position couchée ou assise. Pour certains paramètres, des variations non négligeables (jusqu'à 50%) sont observées si le patient change de position, l'indication est reportée pour chaque paramètre concerné dans le catalogue des analyses. Pour les examens concernés, pensez à indiquer la position du patient sur le bon de prescription d'analyses.

### PRELEVEMENT SUR CATHETER

Dans la limite du possible, ne prélevez pas de sang d'un cathéter.



Si le prélèvement à partir d'un cathéter est inévitable, procédez avec le plus grand soin pour éviter de contaminer l'échantillon avec des résidus de la solution de perfusion. Les 10 premiers millilitres de sang provenant d'un cathéter ne doivent pas être utilisés en tant qu'échantillon et doivent être éliminés. En cas de prélèvement via cathéter, utiliser un tube de purge.

### PRISE DE MEDICAMENTS

Hormis le cas où il s'agit de doser le médicament lui-même, il convient de ne pas changer le traitement du patient.

Cas particulier du dosage de T4 Libre (FT4): le dosage de FT4 doit se faire avant la prise de Levothyrox® ou 9h après.

La prise d'uricolytique perturbe le dosage de l'acide urique et impose un acheminement et un prétraitement particulier des échantillons.

### EFFORT PHYSIQUE

Suspicion de neutropénie ethnique par margination excessive des PNN :  
prélèvement sanguin 20 min après effort physique.

Pour la recherche de Bilharziose urinaire : sur une miction complète matinale si possible après un effort physique pré-mictionnel (marche à pied, montée d'un escalier, massage pelvien, sautillerment, etc.)



## RECUEIL ET PRELEVEMENTS PARTICULIERS

### BIOCHIMIE

#### BIOCHIMIE BIOCHIMIE URINAIRE SUR URINES DE 24 HEURES

Au lever (par ex : 8 heures) :

- Vider la totalité de la vessie dans les toilettes.
- Noter sur le flacon la date et l'heure de début du recueil.

Pendant 24 Heures :

- Recueillir la totalité des urines de la journée et de la nuit y compris celles du lendemain au lever à la même heure (8 heures) dans le flacon fourni (ATTENTION : FLACON NON BORATÉ) par le laboratoire. Entre les recueils, le flacon doit être conservé à 4°C.
- Noter sur le flacon la date et l'heure de fin du recueil.

Identifier le(s) flacon(s) avec les noms, prénom et date de naissance (ou étiquette patient).

Homogénéiser les urines de 24 H et prélever au moins 10 ml dans un pot à ECU. Identifier immédiatement le prélèvement et préciser la diurèse.

### TAUX DE REABSORPTION DU PHOSPHORE

Il existe un protocole à respecter strictement pour le calcul du taux de réabsorption du phosphore :

- 1) Le patient doit être à jeun depuis la veille
- 2) Le matin, vider la vessie et jeter les urines
- 3) Faire boire à 8h du matin 300ml d'eau de VOLVIC
- 4) A 9h prélever un tube hépariné
- 5) Recueillir la totalité des urines entre 8h et 10h (faire uriner à 10h si cela n'est pas fait)

### DOSAGE DES MEDICAMENTS

La précision et l'exactitude pour les horaires d'administration et de prélèvement sont de la plus haute importance pour une bonne surveillance thérapeutique. Une interprétation correcte nécessite la connaissance de l'intervalle de temps écoulé depuis la dernière prise. Pour les thérapeutiques à long terme, les prélèvements sanguins doivent être effectués à l'état d'équilibre (administration d'une même dose pendant au moins quatre demi-vies).

D'une manière générale, les prélèvements sont faits pour connaître :

- Soit le taux résiduel : dans ce cas, il faut prélever juste avant la prise de médicaments du matin (dosage plus fréquent pour les antibiotiques, cardiotoniques, anti-épileptiques, bronchodilatateurs, antidépresseurs).
- Soit le taux maximum correspondant au pic après injection pour la plupart des antibiotiques et les bronchodilatateurs dans quelques cas particuliers.



- Soit pour déterminer les constantes pharmacologiques du sujet vis-à-vis d'un médicament.
- Soit de manière plus exceptionnelle un surdosage volontaire ou accidentel ou un sous-dosage.

## TESTS DYNAMIQUES

Pour la réalisation des tests ou épreuves dynamiques (ex : HGPO, Epreuve de jeûne etc...), se référer à la procédure spécifique « Protocoles des tests dynamiques chez l'adulte »

## GAZ DU SANG

Pour le prélèvement des gaz du sang, se référer au paragraphe spécifique. Jusqu'à 60 % des erreurs concernant les gaz du sang sont commises au cours de la phase pré-analytique.

Les sources d'erreur principales sont :

- **Dilution**  
Lors de prélèvements sur cathéters artériels, le risque de dilution de l'échantillon avec la solution de rinçage est toujours présent.  
Comment éviter ces erreurs ? Eliminer au moins 3 fois l'espace mort lorsque vous prélevez à partir de cathéters
- **Positionnement de l'aiguille**  
Pendant une ponction artérielle, le risque de ponctionner accidentellement une veine existe. Même si très peu de sang veineux est mélangé à l'échantillon artériel, les résultats seront biaisés.  
Comment éviter ces erreurs ? Pratiquer la ponction selon un angle de 45° pour un meilleur positionnement
- **Bulles d'air**  
Les bulles d'air risquent d'affecter sérieusement l'échantillon artériel. Ce sont surtout les paramètres liés à la pO<sub>2</sub> qui seront biaisés.  
Comment éviter ces erreurs ? contrôler visuellement l'absence de bulles d'air, faire remonter les bulles d'air en tapotant le corps de la seringue, purger les bulles d'air juste après le prélèvement et avant l'homogénéisation
- **Formation de caillots**  
Les échantillons sanguins se coagulent s'ils ne sont pas soigneusement homogénéisés avec de l'héparine après le prélèvement. Un échantillon présentant des caillots n'est pas homogène et les résultats en découlant ne sont pas fiables.  
Comment éviter ces erreurs ? homogénéiser l'échantillon sur deux plans : en le roulant entre les paumes des mains ET en l'inversant verticalement
- **Hémolyse** (impact sur le Calcium ionisé)  
Il y a un risque de rupture des hématies lorsque les échantillons sont refroidis directement sur de la glace ou lorsqu'ils sont manipulés trop brusquement.  
Comment éviter ces erreurs ? Ne pas placer directement l'échantillon sur de la glace, ne pas mélanger vigoureusement



- **Stockage prolongé**

Le métabolisme cellulaire se poursuit après le prélèvement du sang dans la seringue.

Comment éviter ces erreurs ? analyser l'échantillon dans les 15 minutes, et si stockage de plus de 15 minutes : conserver les seringues dans de la glace fondante (la seringue ne doit pas être directement au contact de la glace)





## RECHERCHE DE CRYOGLOBULINEMIE

L'étape pré-analytique est une étape primordiale pour la mise en évidence d'une cryoglobuline.

Le maintien d'une température entre 36 et 39°C jusqu'à la décantation du sérum après centrifugation est essentiel au dosage des cryoglobulines. Chaque étape doit donc être réalisée avec soins pour éviter le risque de résultats faussement négatifs.

Le non respect de cette température provoque la réalisation d'une fiche de non-conformité.

### Obtention des échantillons :

- Le patient doit être à jeun depuis 12h pour ne pas avoir d'interférence liée aux triglycérides.
- Les tubes de prélèvement sont impérativement des tubes sans gel (tubes bouchon rouge de 5 mL).
- Il doit être prélevé 3 tubes secs bouchon rouge de 5 mL pour obtenir un volume de 5 mL de sérum environ.
- Tout le matériel de prélèvement est préchauffé à 37°C : tubes, aiguilles... dans une étuve et doit être demandé au laboratoire au moment du prélèvement.
- L'acheminement au laboratoire doit être effectué au moyen d'un dispositif permettant de maintenir la température à 37°C : boîte de transport préchauffée à 37-39°C. La durée de l'étape préanalytique ne doit pas excéder 3 heures, avant prise en charge par le laboratoire afin de conserver une température supérieure à 36°C.
- La recherche peut être répétée 3 fois sur trois jours différents pour augmenter la sensibilité, le phénomène de cryoprécipitation pouvant être intermittent.

## HEMATOLOGIE

### Myélogramme

Se référer au document des HCL « Bonnes pratiques de réalisation d'un myélogramme »



## HEMOSTASE

### Les AVK

Les AVK ou anti-vitamine K sont des anticoagulants oraux d'action prolongée utilisés en préventif et en curatif de la maladie thrombo-embolique veineuse.

Les demi-vies sanguines des AVK sont très variables d'une molécule à l'autre. L'équilibre du traitement est obtenu au bout de 4 demi-vies environ.

	<b>Demi-vie (heures)</b>	<b>Durée d'action (heures)</b>
<b>AVK demi-vie courte</b>		
Acénocoumarol Sintrom®	8-9	24-48
<b>AVK demi-vie longue</b>		
Fluindione Previscan®	30	48
Warfarine Coumadine®	35-45	96-120

### Les héparines et apparentés :

Interférence des AOD anti Xa (Eliquis®, Xarelto®) sur le dosage des héparines, jusqu'à J5 ou plus après arrêt de l'AOD. Renseigner la prise antérieure d'AOD. Contacter le laboratoire en cas de relais AOD anti Xa vers héparine.

#### HNF :

Surveillance des traitements curatifs, non recommandée en cas de traitement préventif.

Surveillance biologique par la mesure de l'activité anti Xa (héparinémie) prélevée à mi temps entre 2 injections (héparine calcique) ou 4 à 6h après le début de la perfusion (héparine sodique).

#### Fréquence :

- Quotidienne au minimum
- Systématique après chaque changement de posologie

Surdosage : > 1 UI/mL

Sa demi-vie est de 1 à 2h ; la normalisation de l'anticoagulation est effective après arrêt en 4 à 6h (IV) à 12h (SC).

#### HBPM

Surveillance des traitements curatifs si risque de surdosage (DFG = 30 à 60 ml/min, poids extrême ou hémorragie inexpliquée), non recommandée aux doses prophylactiques.

Surveillance biologique par la mesure de l'activité anti Xa (héparinémie) au pic d'activité soit :

- 3 à 4h après injection (Lovenox®, 2 inj/j)
- 4 à 6h après injection (Innohep®, 1 inj/j)

Surdosage: > 1,5 UI/mL (Lovenox®, Innohep®)

Sa demi-vie est de 5 à 7h (Lovenox®) à 3 à 4h (Innohep®); la normalisation de l'anticoagulation est effective après arrêt en 24h (curatif).

#### AUTRES :

Orgaran® (Danaparotide) : il n'est pas dosé au laboratoire. Son dosage peut-être adressé aux HCL.

Arixtra® (fondaparinux) : il n'y a pas de dosage disponible en routine.



## LES « NOUVEAUX ANTI-COAGULANTS » ou AOD :

La réalisation d'un bilan de coagulation pour un patient sous AOD doit être réalisé de préférence juste avant la prise pour limiter l'interférence.

La surveillance biologique spécifique est réalisable par la mesure de l'activité anti Xa spécifique de la molécule et exprimée en ng/mL.

Les dosages disponibles sont :

- Eliquis® (apixaban) et Xarelto® (rivaroxaban) au labo du CHV
- Pradaxa® (dabigatran) : son dosage peut être adressé aux HCL

Indications du dosage :

- Hémorragie
- Chirurgie d'urgence
- Suspicion de surdosage

Interférence de l'apixaban sur le dosage du rivaroxaban et réciproquement.  
Concentration à interpréter en fonction de l'heure de la prise et de la fonction rénale (dosage de la créatinémie associée).

## BILAN DE THROMBOSE

Lors de la réalisation d'un bilan de thrombose, il convient de prendre en compte les interférences des traitements en cours.

	AT3	PC	PS	ACC <i>Coagulométrie</i>	ACC <i>Ac anti-B2GP1 et cardiolipines</i>	Mutations <i>FV Leiden et du facteur II</i>
Héparines	-	-	-	Interférence si antiXa > 0.8	-	-
AVK	-	□ 10j	□ 10j	Interférence si INR > 3	-	-
AOD	3-5 jours	3-5 jours	3-5 jours	3-5 jours	-	-
Contraceptif hormonal	2 cycles d'arrêt	2 cycles d'arrêt	2 cycles d'arrêt	-	-	-

AT3 : Antithrombine 3

PS : protéine S

PC : protéine C

ACC : anti-coagulant circulant

## IMMUNO-HEMATOLOGIE

### GROUPAGE SANGUIN

D'après la circulaire ministérielle DGS/DHOS/AFSSAPS n° 2003-582 du 15 janvier 2003, les déterminations de groupe sanguin ne seront réalisées que sur des prélèvements dont l'étiquetage doit mentionner : nom de naissance, nom d'usage, prénom, date de naissance des patients concernés.



Sur la feuille de prescription fournie, devra être apposée l'étiquette patient ainsi que :

- la date et l'heure du prélèvement,
- le nom et signature du préleveur
- nom du prescripteur



L'arrêté du 15/05/2018 précise que la détermination du phénotypage érythrocytaire est effectuée sur la base d'une seule réalisation sur un seul échantillon sanguin. Par dérogation, dans le cadre d'un contexte transfusionnel avéré, une seconde détermination est faite par le laboratoire de biologie médicale.

### RAI CHEZ LA FEMME ENCEINTE

Au cas où l'ensemble des renseignements nécessaires à l'analyse ne serait pas présent, le laboratoire se réserve le droit de refuser le traitement de l'échantillon. Pour la RAI chez la femme enceinte : TOUJOURS préciser en cas d'injection d'anti-D :

- Posologie
- Date et heure injection

## IMMUNOLOGIE

### SEROTHEQUE

Pour toutes les demandes de sérologies, du sérum est conservé congelé dans la sérothèque pendant 12 à 24 mois, pour clarifier si besoin un tableau sérologique grâce à des tests supplémentaires sur un ou des sérums de la sérothèque.



## MICROBIOLOGIE

La réalisation d'un prélèvement microbiologique doit assurer la viabilité des agents infectieux potentiellement pathogènes dans le prélèvement recueilli.

Quelques règles sont donc à respecter :

- Prélever aseptiquement un échantillon suffisant du produit pathologique en récipient stérile et étanche avant traitement anti-infectieux (éviter autant que faire se peut l'écouvillon et utiliser les récipients fournis par le laboratoire).
- Pour la recherche de bactéries exigeantes, d'anaérobies ou de virus, utiliser un milieu de transport approprié.
- Adresser le prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire (tout retard favorise la multiplication de contaminants et diminue les chances d'isoler un pathogène fragile).
- Les précautions universelles et les règles de transport des produits potentiellement infectieux s'appliquent à la réalisation des prélèvements microbiologiques.

Pour une efficacité maximale, les informations suivantes doivent figurer sur le bon de demande d'examens :

- Nature et site (localisation anatomique) du prélèvement
- Motif de la demande (renseignements cliniques et/ou épidémiologiques)
- Température du patient
- Notion et nature de traitement anti-infectieux récent



## EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES - ECBU

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Le recueil des urines doit être aseptique.

Recueil dit «à la volée» ou «du milieu de jet» : cf. schéma

Après lavage hygiénique des mains et toilette soigneuse (savon, lingette, par exemple) du méat et de la région vulvaire d'un seul geste de l'avant vers l'arrière

:

-Éliminer le premier jet (20 ml) d'urines pour ne recueillir dans un flacon stérile que les 20-30 ml suivants, au maximum, en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du flacon ;

-Fermer hermétiquement le flacon, en nettoyer l'extérieur et réaliser un geste d'hygiène des mains ;

-Identifier le flacon et le porter immédiatement au laboratoire accompagné de la prescription et de l'heure de prélèvement.

### Chez le nourrisson et le jeune enfant :

Le prélèvement d'urine au milieu du jet après désinfection soigneuse de la vulve, du prépuce ou du gland reste la technique non invasive à privilégier chez les enfants qui ont une miction volontaire. Elle est également à utiliser par défaut chez les nourrissons ou les enfants trop jeunes pour uriner volontairement en tenant compte du fait que les nourrissons, sauf en cas de déshydratation liée à la fièvre, urinent en général toutes les 20 à 30 minutes. La miction réflexe peut être stimulée en appliquant une gaze imbibée d'eau froide au niveau de la zone sus-pubienne (Méthode du Quick-Wee).

Le prélèvement utilisant un collecteur d'urine, bien que de plus en plus controversé est encore la méthode la plus utilisée chez les enfants de moins de 2 à 3 ans. Ce dispositif à usage unique adapté à l'anatomie est posé après désinfection soigneuse de la vulve, du méat urinaire et du périnée, ou après désinfection soigneuse du gland et du prépuce, et ne pas être laissé en place plus de 30 minutes. Passé ce délai si l'enfant n'a pas uriné, le dispositif est éliminé et remplacé par un collecteur neuf. Dès la miction terminée, le collecteur est retiré et les urines sont transvasées soigneusement dans un flacon stérile puis acheminées rapidement vers le laboratoire.

### Chez le patient porteur de sonde urinaire

Il ne faut jamais prélever dans le sac collecteur où la pullulation microbienne est importante, ni rompre le caractère clos du système de drainage vésical en déconnectant la sonde du sac collecteur pour prélever les urines. Le recueil se fera par ponction après désinfection sur le site spécifique du dispositif de sonde. Toutefois, ce type de prélèvement n'amène pas des résultats aussi représentatifs des espèces bactériennes effectivement présentes dans la vessie que la ponction sus-pubienne qui reste le « gold standard ».

Lorsqu'un ECBU est demandé à l'occasion d'un changement de la sonde, il est recommandé de recueillir l'urine à partir de la nouvelle sonde pour avoir un prélèvement plus représentatif des micro-organismes réellement présents dans la vessie et éviter de recueillir les micro-organismes qui ont adhéré à la paroi intérieure de la sonde.



### Autres modes de recueil

\*Le prélèvement par auto-hétérosondage intermittents chez les patients atteints d'affection neurologique correspond à une urine de milieu de jet.

\*En cas de miction réflexe incontrôlée, préférer le recueil du milieu du jet après stimulation par percussion pour déclencher une miction réflexe, à celui du sondage urinaire aller/retour.

\*Le prélèvement par ponction vésicale sus-pubienne est un geste spécialisé réalisé après désinfection soigneuse des téguments, la vessie est directement ponctionnée pour recueillir l'urine.

\*Le prélèvement par cathétérisme urétéral permet l'obtention d'urines provenant séparément du rein droit ou du rein gauche.

\*Chez le patient incontinent, un prélèvement après toilette génitale soigneuse peut être envisagée en alternative au sondage aller/retour, au prix d'un risque majoré de contamination de l'échantillon mais d'un risque infectieux moindre.

\*Matériel endo-urétral, urétérostomie (sonde urétérale ou sonde simple J ou double J) : le prélèvement peut être réalisé par voie naturelle ou directement par la sonde après désinfection soigneuse en précisant la localisation droite ou gauche.

\*Sonde de néphrostomie ou pyélostomie : le recueil se fera directement au niveau de la sonde après désinfection.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Les urines recueillies dans un flacon stérile doivent être acheminées rapidement au laboratoire. Elles ne doivent jamais être conservées plus de 2h à température ambiante avant la mise en culture afin d'éviter la pullulation microbienne.

Les urines peuvent être conservées à +4°C pour une durée maximale de 24h. Cependant au delà de 12h à +4°C, si la bactériurie n'est pas modifiée, les leucocytes peuvent s'altérer et se grouper en amas et rendre la lecture de la cytologie plus difficile.

### REMARQUES

Lorsque le patient réalise le prélèvement lui-même il est nécessaire de l'informer correctement. A noter que le niveau de contamination est moins important lorsque le prélèvement est effectué par le personnel soignant.

La détermination de la leucocyturie est sans intérêt chez le patient avec une sonde à demeure.

L'analyse bactériologique des embouts de sondes urinaires n'a pas démontré son intérêt et n'est pas recommandé.

Il n'est pas recommandé de pratiquer des analyse microbiologiques directement à partir des matériels endo-urétraux, même en cas d'infection urinaire associée aux soins.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 2 jours (rajouter 1 jour si dimanche inclus).

\*Société Française de Microbiologie.



Infections urinaires. REMIC : Société Française de Microbiologie

**C'est quoi un ECBU ?** Examen qui consiste à analyser les urines pour déceler une éventuelle infection urinaire.  
**Pourquoi ces consignes ?** Pour ne pas contaminer le prélèvement et perturber le rendu de résultat voire retarder le traitement si besoin.

1- Lavage des mains			
Savon doux 	Savonner et rincer 	Sécher avec des essuie mains 	
2- Toilette intime			
Gants jetables Savon doux 	Savonner les parties génitales 	Changer de gant Rincer à l'eau du robinet 	Sécher avec une serviette propre 
3- Recueil des urines			
Ouvrir le pot (couvercle posé à l'envers) 	Commencer à uriner quelques gouttes dans les WC 	Puis remplir le pot sans qu'il touche les parties intimes 	Refermer le pot Nettoyer l'extérieur 





## ANTIGENE LEGIONELLE URINAIRE

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Les urines fraîchement émises (volume optimal > 10 ml), recueillies dans des récipients standard sont acheminées rapidement au laboratoire à température ambiante pour rechercher les antigènes urinaires de Legionella pneumophila séro groupe 1 et de Streptococcus pneumoniae.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Les urines recueillies dans un flacon stérile doivent être acheminées rapidement au laboratoire. Ils peuvent être conservés à température ambiante (15-30°C) s'ils sont analysés dans les 24 heures suivant leur collecte. Sinon les échantillons peuvent être conservés entre 2 et 8°C pendant 14 jours maximum et entre -10 et -20°C pour une durée supérieure.

Les prélèvements sont conservés au laboratoire pendant 3 jours après l'analyse.

### TECHNIQUE

Recherche du lipopolysaccharide de Legionella pneumophila séro groupe 1 par immuno-chromatographie.

### REMARQUES

L'espèce la plus fréquemment rencontrée en pathologie humaine est L. pneumophila séro groupe 1.

La recherche de l'antigène soluble urinaire par immunochromatographie ou ELISA permet un diagnostic spécifique et précoce. Cependant la culture reste la technique de référence et permet en cas de recherche d'antigène soluble urinaire positif de réaliser des études épidémiologiques.

Quand évoquer le diagnostic ?

a. Il peut être évoqué devant toute pneumopathie car il n'y a pas de spécificité radioclinique. Tous les signes notés au cours d'une légionellose peuvent se voir dans une pneumonie d'autre nature, notamment pneumococcique. Néanmoins on peut évoquer le diagnostic plus particulièrement dans certains cas.

b. Selon le contexte nosocomial ou épidémique, les « situations à risque » : voyage, thermes, exposition à de l'eau en aérosol...

c. Selon le tableau clinique très évocateur (1/3 des cas) : pneumonie d'allure sévère, début aigu, pas de signes ORL, pouls dissocié, atteinte bilatérale. Présence de signes extra-thoraciques : digestifs (douleur abdominale, vomissements diarrhée) ; neurologiques (troubles de conscience, céphalées, pas de syndrome méningé).

d. Si présence de signes biologiques évocateurs : cytolysé hépatique, syndrome glomérulaire et/ou insuffisance rénale, hyponatrémie, hypophosphorémie, élévation des CPK.

e. Échec d'un traitement préalable aux  $\beta$ -lactamines actives sur le pneumocoque.

### DELAI DE RENDU

Dans la journée.



En cas de résultat positif : le service est joint par téléphone. Nous rappelons que la légionellose est une Maladie à Déclaration Obligatoire (cf feuille de D.O.).

\*Société Française de Microbiologie.  
Infections broncho-pulmonaires. REMIC : Société Française de Microbiologie.  
Legionella spp. REMIC : Société Française de Microbiologie.

## ANTIGENE PNEUMOCOQUE URINAIRE

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Les urines fraîchement émises (volume optimal > 10 ml), recueillies dans des récipients standard sont acheminées rapidement au laboratoire à température ambiante pour rechercher les antigènes urinaires de Legionella pneumophila séro groupe 1 et de Streptococcus pneumoniae.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Les urines recueillies dans un flacon stérile doivent être acheminées rapidement au laboratoire. Ils peuvent être conservés à température ambiante (15-30°C) s'ils sont analysés dans les 24 heures suivant leur collecte. Sinon les échantillons peuvent être conservés entre 2 et 8°C pendant 14 jours maximum et entre -10 et -20°C pour une durée supérieure.

Les prélèvements sont conservés au laboratoire pendant 3 jours après l'analyse.

### TECHNIQUE

Test immunochromatographique sur membrane destiné à la détection de l'antigène soluble pneumococcique dans l'urine en cas de pneumonie et dans le LCR humain en cas de méningite.

### REMARQUES

Il s'agit d'un examen coûteux qui reste utile pour un dépistage d'une infection profonde à pneumocoque mais qui ne remplace en aucun cas les prélèvements bactériologiques classiques permettant l'isolement de la bactérie et son antibiogramme le cas échéant.

La même technique est utilisée pour la détection d'antigène soluble pneumococcique dans le LCR humain en cas de méningite.

### DELAI DE RENDU

Dans la journée. En cas de résultat positif : le service est joint par téléphone.

\*Société Française de Microbiologie.  
Infections broncho-pulmonaires. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## CYTOLOGIE URINAIRE FONCTIONNELLE

La CUF est utile pour préciser l'origine glomérulaire ou non d'une hématurie.  
La CUF est indiquée lors du premier bilan d'insuffisance rénale ou en cas de dégradation de la fonction rénale.

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Après s'être assuré de l'absence de tout exercice sportif les 3 jours précédents.  
Éliminer les premières urines du matin (très concentrées et avec une longue stagnation intravésicale), recueillir les deuxièmes urines du matin.

Après lavage hygiénique des mains et toilette soignée (savon, lingette, par exemple) du méat et de la région vulvaire d'un seul geste de l'avant vers l'arrière :

- Éliminer le premier jet (20 ml) d'urines pour ne recueillir dans un flacon stérile que les 20-30 ml suivants, au maximum, en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du flacon ;
- Fermer hermétiquement le flacon, en nettoyer l'extérieur et réaliser un geste d'hygiène des mains ;
- Identifier le flacon et le porter immédiatement au laboratoire accompagné du bon de demande.

### CONSERVATION ET TRANSPORT

Les urines recueillies dans un flacon stérile doivent être acheminées en moins d'une heure au laboratoire et doivent parvenir au laboratoire avant 9h pour départ le jour même aux HCL.

### REMARQUES

Le laboratoire réalise un compte d'hématies et n'adresse le prélèvement aux HCL que si les hématies sont supérieures à 10/mm<sup>3</sup>.

### DELAI DE RENDU

Dans la journée.



## EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DE LIQUIDE CEPHALO-SPINAL (LCS)

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

3 tubes plastiques stériles de 10 ml à bouchon rouge.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Quand prélever ?

La suspicion d'une infection invasive à méningocoque requiert la mise en route sans délai d'un traitement antibiotique. La suspicion d'une atteinte herpétique impose un traitement immédiat par Aciclovir. Les prélèvements doivent se faire au début de la maladie, si possible avant antibiothérapie ou traitement anti-viral, en tenant compte des recommandations nationales de prise en charge d'une méningite ou d'une encéphalite. Les ponctions lombaires peuvent être renouvelées pour la recherche d'agents infectieux peu communs comme les mycobactéries et les cryptocoques ou dans le cas de méningites chroniques. Dans le cas d'une méningite bactérienne documentée, une ponction lombaire de contrôle de stérilisation ne doit être envisagée qu'en cas d'absence d'une amélioration clinique après 48h de traitement. Des ponctions lombaires de contrôle de stérilisation sont à évaluer dans le cadre du suivi d'une méningite cryptococcique.

### Ponction lombaire :

En l'absence de contre-indication (hypertension intracrânienne, trouble majeur de la coagulation sanguine, infection locale au point de ponction), la ponction lombaire est réalisée en respectant une asepsie de type chirurgical. Le LCS est successivement recueilli dans 3 tubes stériles sans anticoagulant, numérotés 1, 2 et 3 (chacun avec 1 ml = 20 gouttes), destinés respectivement aux examens cytologique, biochimique et microbiologique. La quantité totale de LCS nécessaire est de 4 à 5 ml chez l'adulte et idéalement plus de 1 ml chez l'enfant. Selon le contexte clinique, 20 à 40 gouttes (1 à 2 mL) peuvent être utilisées pour la recherche des virus habituels ainsi que des analyses complémentaires particulières (mycobactéries, agents de la maladie de Lyme, leptospires, autres virus, champignons, Toxoplasma, par exemple). La détection d'agents fongiques ou de mycobactéries par culture est améliorée par l'ensemencement de grands volumes de LCS.

### Echantillons sanguins :

Dans le cadre d'un syndrome méningé fébrile, des hémocultures doivent être systématiquement prélevées dès que possible. Les hémocultures sont positives dans 50 à 75% des cas de méningites bactériennes et peuvent être positives, même si la culture du LCS est négative.

Un échantillon de sang pour recherche une virémie associée peut être utile pour compléter le diagnostic d'une infection virale, ou par exemple lors d'une méningococcémie pour PCR spécifique.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

L'acheminement du LCS vers le laboratoire doit se faire sans délai afin que les résultats cytologiques et biochimiques de routine ainsi que les résultats de la coloration de Gram soient communiqués idéalement dans l'heure qui suit la réception au laboratoire. L'échantillon est maintenu avant son arrivée au laboratoire à une température ambiante et ne doit pas être placé à +4°C. Une partie du LCS peut être conservée à température comprise entre +2°C et +8°C ou



congelée à température  $\leq -18^{\circ}\text{C}$  dans la perspective de tests complémentaires (amplification génique, sérologie par exemple).

#### REMARQUES\*

Un minimum de renseignements cliniques permettant de définir les techniques microbiologiques à mettre en œuvre doit accompagner l'échantillon : âge, état immunitaire avec le type d'immunodépression, contexte clinique et épidémiologique : convulsion, purpura, voyages, piqûre de tique, cas familiaux, acte de chirurgie ORL ou de neurochirurgie en précisant la voie d'abord, traumatisme crânien ou facial, injection ou infiltration. La recherche de micro-organismes particuliers doit être précisée.

#### DELAI DE RENDU

En moyenne 2 jours. Lesensemencements sont conservés 7 jours pour détecter une culture tardive.

\*Société Française de Microbiologie.

Diagnostic microbiologique des infections du système nerveux central. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## HEMOCULTURES

Une hémoculture correspond à un ensemencement de flacons aérobies et anaérobies prélevés au cours d'une même ponction de sang, à la recherche de bactéries aérobies, anaérobies, de levures ou de champignons.

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

Hémocultures standard : une seule ponction

La ponction veineuse est la seule méthode valable pour prélever le sang en vue d'une culture bactériologique ou mycologique. Les autres sites de prélèvement, notamment à travers un dispositif intravasculaire, augmentent significativement la fréquence des contaminants et ne permettent pas d'établir un diagnostic de bactériémie ou de fongémie (distinction impossible entre infection et colonisation du dispositif). Ils sont dans la mesure du possible déconseillés.

Il est impératif de réduire au minimum aussi bien le risque de, contamination de l'échantillon de sang que le risque d'exposition au sang du préleveur (HCV, HIV). Les principales étapes sont les suivantes :

- \*porte de la chambre fermée ;
- \*respect des précautions standards ;
- \*lavage ou désinfection des mains du préleveur ;
- \*port de gants non stériles ;
- \*désinfection de l'opercule, des flacons d'hémoculture et du point de ponction avec un produit approprié ;
- \*ne plus palper la veine après cette étape ;
- \*avant le prélèvement, vérifier la date de péremption des flacons d'hémocultures ;
- \*prélèvement du sang, en commençant par le flacon aérobie et en contrôlant le bon remplissage des flacons ;
- \*identification correcte de l'ensemble des flacons (notamment le site de prélèvement) : Identifier les flacons avec les étiquettes du patient (ajouter date + site prélevé +/- suspicion diagnostique sur le bon de demande). Ne pas masquer le code barre.

Agiter les flacons d'hémoculture par 2 à 3 aller / retour. L'étape de séchage de l'antiseptique est l'étape critique à respecter.

Note : la fraction de sang susceptible d'être contaminée par des micro-organismes d'origine cutanée (ou de l'environnement) correspondant aux premiers mL de sang prélevés, il peut être utile, pour réduire le risque de contamination, de les éliminer en prélevant un tube de sang avant de remplir les flacons d'hémoculture (méthode de « diversion technique »). Cependant cette approche n'est pas applicable (méthode non validée) au diagnostic des bactériémies liées au cathéter par délai différentiel de positivité ou hémoculture quantitative appariée.

Si d'autres analyses sanguines sont prescrites, elles ne doivent jamais précéder le prélèvement d'hémoculture, mais être effectuées à la suite.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Quand faire une hémoculture :

- Sur prescription médicale ou selon un protocole médical validé.



- Lors d'un épisode de fièvre, de frisson ou d'hypothermie (ne pas attendre un pic thermique). En cas de sepsis, le prélèvement est à effectuer dans l'heure suivant la prise en charge du patient.

- Il est recommandé de réaliser les prélèvements de sang avant ou à distance de l'administration d'antibiotiques ou d'antifongique.

Remarque : L'intervalle de temps entre deux prélèvements n'a pas d'importance : la qualité du diagnostic est équivalente quel que soit cet intervalle, y compris lorsque les deux prélèvements sont réalisés simultanément.

Au CH de Vienne, il y a un consensus pour limiter le nombre d'hémocultures à 2 (4 flacons) par épisode clinique si l'état du patient est stable avec prélèvement de 10 à 12 mL par flacon. Les 4 flacons sont obtenus en une seule ponction (protocole de prélèvement unique).

Respecter les niveaux de remplissage, soit 8 à 10 mL par flacon.

En cas d'endocardite infectieuse 3 paires d'hémocultures sont préconisées.

### Combien d'hémocultures

Plus que le nombre de flacons, c'est la quantité totale de sang mise en culture lors d'un épisode clinique qui est de loin le paramètre le plus influant sur la sensibilité de l'examen.

\*Chez l'adulte : La densité des bactéries ou des Candida spp. présents dans le sang au cours des épisodes de bactériémie ou de candidémie est généralement très faible  $\approx$  1 UFC/mL chez 50% des patients. Chez l'adulte, le volume optimal à prélever est de 40 à 60 mL, soit un total de 4 à 6 flacons correctement remplis.

\*Chez l'enfant : Le prélèvement d'hémocultures chez l'enfant est difficile à maîtriser. Le volume optimal de sang à prélever est délicat à déterminer du fait des éléments physiopathologiques spécifiques suivants :

- la concentration bactérienne dans le sang est plus élevée que chez l'adulte, ce qui permet chez le nouveau-né de limiter la quantité de sang prélevé à quelques mL ;
- la concentration bactérienne diminuant avec l'âge, le volume de sang mis en culture doit être augmenté en conséquence ;
- la masse sanguine est plus élevée chez l'enfant (environ 80 mL/kg chez le nouveau-né, puis environ 70 mL/kg).

Une approche rationnelle consiste à adapter le volume de sang mis en culture en fonction du poids de l'enfant aussi bien pour le diagnostic de bactériémie que de fongémie (tableau I). Les difficultés de contrôle du volume en raison des faibles volumes de sang prélevés font que les volumes indiqués sont des ordres de grandeur approximatifs vers lesquels il est conseillé de tendre.

Tableau I : Volume de sang à mettre en culture en fonction du poids de l'enfant. Au sein d'une catégorie de poids, on tiendra compte du poids de l'enfant pour adapter le volume vers le volume supérieur proposé.

Poids de l'enfant (kg)	Volume de sang (mL)						Volume total cultivé (mL)	Volume total soustrait (%)
	Culture 1		Culture 2		Culture 3			
	Aérobie	Anaérobie	Aérobie	Anaérobie	Aérobie	Anaérobie		
<= 1	0.5 à 2						0.5 à 2	1.5 à 3
1.1-2	1.5 à 4.5						1.5 à 4.5	1.7 à 3
2.1-3.9	3 à 6						3 à 6	1.8
4-7.9	6						6	1 à 2





8-13.9	4 à 5		4 à 5				8 à 10	1 à 1.5
14-18.9	5	5 à 7	5 à 8	5 à 7			20 à 24	1.8 à 2.4
19-25.9	5	5	5	5	5	5	30	1.8 à 2.2
26-39.9	10	10	10	10			40	1.7 à 2.2
>= 40	10	10	10	10	10	10	60	□ 2.3

## Cas particuliers

### Bactériémies associées à un dispositif intra-vasculaire : Hémocultures appariées

Prélèvement d'hémocultures (méthode « matériel en place » ou hémocultures appariées)

Réaliser une antisepsie rigoureuse. Puis effectuer au même moment (□ 10 min) deux prélèvements de sang dans l'ordre suivant :

- \*un prélèvement par ponction veineuse périphérique ;
- \*et un prélèvement à partir du dispositif, sans avoir purgé le cathéter. Identifier clairement le site de prélèvement sur chaque échantillon (périphérique/cathéter).

Remarques :

- \*les deux hémocultures doivent contenir le même volume de sang (idéalement le maximum préconisé) afin de pouvoir assurer une comparaison fiable des deux cultures ;
- \*chez l'adulte et chez le grand enfant, prélever sur chacun des sites deux flacons (aérobie et anaérobie) pour obtenir un volume total d'au moins 40 mL de sang. En cas de ponction veineuse difficile ou d'épargne sanguine (enfant), privilégier le flacon aérobie ;
- \*En cas de cathéter multi-lumière, le prélèvement de toutes les lumières du cathéter peut permettre d'améliorer la sensibilité de la méthode. Il est conseillé de prélever au moins la ligne la plus à risque d'infection, classiquement celle utilisée pour la nutrition parentérale ou la transfusion de produits sanguins ;

### Surveillance de l'efficacité d'un traitement anti-infectieux local (« verrou »)

Cette surveillance comprend une hémoculture de contrôle prélevée à travers le cathéter et par ponction périphérique à J4 du début du verrou, une hémoculture de contrôle prélevée à travers le cathéter uniquement à J10 et une hémoculture prélevée à travers le cathéter juste avant la réutilisation du cathéter. En pratique, l'hémoculture est prélevée avant le changement de verrou : le précédent verrou est éliminé, un rinçage pulsé avec 10 mL de sérum physiologique est effectué, puis l'hémoculture est prélevée.

### Re-prélèvement d'hémocultures

En général cinq situations distinctes sont à considérer :

- épisode en cours avec des hémocultures « en cours d'incubation » : il n'apparaît pas justifié de reprélever un patient ayant bénéficié d'une procédure diagnostique optimale (chez l'adulte, au cours de l'épisode, un total de 4 à 6 flacons correctement remplis ; chez l'enfant, un volume prélevé adapté à son poids) ;
- épisode en cours, à hémocultures négatives : il n'apparaît pas justifié de reprélever un patient ayant bénéficié d'une procédure diagnostique optimale, si son état clinique est stable ou s'est amélioré et en l'absence d'un nouvel événement bio-clinique en faveur d'une infection non contrôlée ;
- épisode en cours à hémocultures positives : le re-prélèvement d'hémocultures (contrôle d'hémoculture) pour s'assurer de la négativation des hémocultures peut être recommandé en cas d'épisode à *Staphylococcus aureus* ou *Candida* spp.





malgré un niveau de preuve modeste. Il doit être réalisé 2 à 4 jours après le début du traitement. Dans le cas où l'hémoculture reste positive, l'examen est à réitérer tous les jours jusqu'à l'obtention d'hémocultures négatives ;

- nouvel épisode (par exemple caractérisé par au moins 48h d'apyrexie par rapport au précédent épisode) : il est recommandé de réaliser une nouvelle procédure diagnostique complète si le contexte clinique le justifie ;
- surveillance de l'efficacité d'un traitement local d'infection de cathéter (« verrou »).

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Bien renseigner la demande de laboratoire/prescription connectée : étiquette, date et heure du prélèvement, n° de l'hémoculture, T° du patient, traitement antibiotique / fenêtre thérapeutique, suspicions diagnostiques (endocardite infectieuse, brucellose (couplé à sérologie), ...

Ne pas masquer le code barre des flacons d'hémoculture..

Les flacons d'hémoculture doivent être acheminés au laboratoire dès que possible. L'acheminement est réalisé à température ambiante. Tout retard d'introduction des flacons dans l'automate entraîne un délai de production de résultat allongé, préjudiciable à la prise en charge des patients dont le risque vital est engagé.

### REMARQUES

La recherche de mycobactéries dans le sang ne s'effectue pas sur les flacons à hémoculture, mais nécessite 4 tubes EDTA, soit 12 ml.

### DELAÏ DE RENDU

Les flacons d'hémocultures sont incubés 5 jours systématiquement. Ils peuvent être incubés plus longtemps dans le cadre de protocoles particuliers (protocole endocardite, recherche de brucellose).

### Un seul prélèvement... Mais bien !

#### × Pourquoi ?

Préciser le contexte clinique, les recherches spécifiques, la T°, les antibiotiques, ...



#### × Quand ?

Sur prescription médicale  
Fièvre, frisson ou hypothermie

#### × Combien ?

Adulte : 2 à 3 paires de flacons  
Pédiatrie : 1 à 2 flacons  
**en un seul prélèvement**



#### × Qui ?

IDE,  
Sage Femme



#### × Où ?

Préférer la ponction veineuse directe



#### × Avec quoi ?

Dispositif de prélèvement et gants



#### × Comment ?

1 - Désinfection des mains



2 - Désinfection de chaque bouchon



3 - Phase de détersion puis désinfection du site de ponction, avec un antiseptique alcoolique (biseptine® en pédiatrie) (désinfection en 5 temps)

#### × Respecter les quantités prélevées

8 à 10 ml / fl  
1 à 3 ml par fl pédiatrique



× Eliminer les déchets dans un collecteur pour piquants-tranchants



× Acheminer rapidement au laboratoire



**Respect des règles de prélèvements = Plus de bactériémies détectées et moins de contaminations**

\*SFM. Bactériémie et fongémies - hémocultures / Endocardites / DIV (cathéter, chambre implantable).



## EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES CATETHERS

Voir les paragraphes « Bactériémies associées à un dispositif intra-vasculaire : hémocultures appariées » et « Surveillance de l'efficacité d'un traitement anti-infectieux local (« verrou ») » du chapitre Hémocultures

L'envoi du cathéter en bactériologie est effectué sur prescription médicale uniquement en présence de signes cliniques et non en systématique. C'est une prescription médicale basée sur l'évaluation du maintien du cathéter veineux central et sur l'apparition de signes d'infection.

Le risque infectieux varie avec le site d'insertion, le type de cathéter, le statut immunitaire du patient, la durée de maintien en place du dispositif, la fréquence d'utilisation du dispositif et le type d'utilisation.

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant ou un tube stérile (tube pour LCR).

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Les prélèvements doivent être effectués avant tout traitement anti-infectieux et doivent être accompagnés de prélèvement d'hémoculture.

Ablation d'un cathéter pour analyse microbiologique

Effectuer une désinfection des mains par friction. Mettre le patient en décubitus dorsal. Mettre le masque de type chirurgical. Enlever le pansement avec le gant « poubelle ». Retirer le gant en le retournant et l'utiliser comme poubelle. Effectuer une désinfection des mains par friction. Mettre en place le champ stérile sur le plan de travail. Nettoyer la peau = sérum physiologique + savon antiseptique à base d'iode. Rincer au sérum physiologique. Sécher. Procéder à l'antisepsie avec l'antiseptique alcoolique à base d'iode. Laisser sécher spontanément. Couper le fil de fixation de manière aseptique. Mettre les gants de soins. Retirer le cathéter Si prélèvement bactériologique :

- Ouvrir le tube de prélèvement (LCR) ou le poudrier stérile
- Couper de manière aseptique, 5 cm à partir de l'extrémité distale du cathéter, le mettre toujours de façon stérile, dans le tube
- Rajouter 1 ml de sérum physiologique stérile
- Refermer le tube de prélèvement
- Etiqueter et envoyer le prélèvement au laboratoire avec le bon ou la prescription connectée, dans les meilleurs délais

Comprimer le point de ponction pour éviter un embolie gazeux. Procéder à l'antisepsie du point de ponction avec l'antiseptique alcoolique à base d'iode. Mettre le pansement. Quitter les gants. Effectuer une désinfection des mains par friction (SHA). Recommander au patient de rester allongé durant au moins 30 minutes et de signaler tout problème. Noter le soin sur le diagramme de soins et les observations éventuelles sur le dossier de soins.

Ablation d'une chambre implantable pour analyse microbiologique

Faute de données, la réalisation de prélèvement de chambre implantable est limitée aux enquêtes de causalité. Il est conseillé de pratiquer des prélèvements étagés pour améliorer la sensibilité. Ceux-ci incluent un écouvillonnage de l'intérieur de la loge (i.e. boîtier du matériel prothétique), le produit de rinçage de la partie fermée de la chambre par instillation-aspiration de sérum physiologique stérile (0.2 mL), et la mise en culture du cathéter. Les éventuels caillots, sérosités et/ou débris au moment du retrait de la chambre doivent être prélevés en vue d'une analyse microbiologique.



#### Point d'insertion d'un cathéter

La réalisation d'un prélèvement au point d'insertion d'un cathéter présente un intérêt limité, mais peut ponctuellement être une aide en cas de doute pour exclure une infection locale au point d'insertion.

#### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Transport au laboratoire à température ambiante. Le délai maximum de transport est de 2h.

#### REMARQUES

Si le cathéter est trop court ou trop long, les valeurs seuils ne sont plus interprétables.

#### DELAI DE RENDU

En moyenne 3 jours.

REMIC Société Française de Microbiologie Dispositifs intra-vasculaires (cathéter, chambre implantable)



## EXAMEN BACTERIOLOGIQUE D'UN PIED DE DIABETIQUE INFECTE

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant, éventuellement un flacon d'hémoculture, des écouvillons (culturette/swab).

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Les prélèvements bactériologiques ne sont indiqués qu'en cas d'infection établie cliniquement. Les plaies sans signes cliniques (locaux ou généraux) d'infection ne doivent pas être prélevées (grade A). Une prise en charge multidisciplinaire est indispensable chez ces patients. Il n'existe pas de consensus sur la meilleure technique de prélèvement à mettre en œuvre faute d'études suffisantes. Les échantillons ne doivent pas être inoculés dans des flacons d'hémoculture en raison de la présence du microbiote cutané commensal non pathogène.

### LES PRELEVEMENTS EN CAS D'INFECTION DES PARTIES MOLLES :

Les méthodes de prélèvement s'adaptent à la nature des lésions. D'emblée, il faut indiquer que l'écouvillonnage superficiel de la plaie est une technique de prélèvement à éviter.

**Le débridement :** est une étape préalable obligatoire et indispensable avant tout prélèvement

Les lésions sont toujours colonisées superficiellement par une flore bactérienne qui n'a pas nécessairement de signification pathologique. C'est la raison pour laquelle, avant tout prélèvement, la plaie doit être préparée. Le débridement a pour but d'exciser les parties molles nécrosées, les tissus dévitalisés et contaminés et les tissus fibreux pour ne laisser en place que du tissu sain et ainsi faciliter la cicatrisation. Il peut être :

-chirurgical, fait au bloc (exploration des différents compartiments du pied), pronostique (réalisation de prélèvements bactériologiques fiables), thérapeutiques (exérèse des tissus nécrosés et réduction de l'inoculum bactérien) et préventive (correction des déformations du pied)

-Mécanique, au lit du malade, au moyen d'un scalpel ou d'une curette stérile.

Ensuite, un nettoyage doit être réalisé avec de la gaze imbibée de sérum physiologique stérile. L'utilisation d'antiseptique est possible, ils doivent être appliqués sur les bords de la plaie puis ensuite éliminés par du sérum physiologique stérile avant de réaliser le prélèvement.

### Plaies superficielles :

Lors de ces atteintes, un écouvillonnage superficiel de la plaie peut être réalisé au lit du patient. Cependant, cette méthode de prélèvement est peu fiable. En effet, elle est peu adaptée à la mise en évidence optimale des bactéries réellement responsables de l'infection. Aucune méthodologie n'est validée. Elle doit être réalisée uniquement dans des infections de grade 2 et après un débridement soigneux.

Dans tous les cas, utiliser un écouvillon type culturette/swab.

La recherche de bactéries anaérobies strictes n'est pas réalisée sur ce type d'échantillon.

### Plaies profondes : La biopsie tissulaire :

C'est la méthode à privilégier. Elle peut être réalisée au lit du patient surtout en cas de neuropathie sévère, après une préparation de la peau (débridement, excision des tissus nécrosés après un nettoyage soigneux). Deux à quatre fragments de tissu sont prélevés (à l'aide de « punch biopsy » ce qui permet d'obtenir une carotte de tissu) à partir de zones différentes en fonction de l'étendue de la plaie et placés immédiatement dans un flacon stérile.

La recherche de bactéries anaérobies strictes est réalisée sur ce type d'échantillon.

### Plaies profondes : L'aspiration à l'aiguille fine ou au cathéter long :



Elle permet de prélever les infections collectées. La ponction est effectuée au travers d'une zone saine désinfectée au préalable. Si aucun liquide n'est aspiré, 1 à 2 ml de sérum physiologique sont injectés et aspirés à l'aide d'une seconde aiguille. Dans tous les cas, la seringue (de type de celle utilisée pour la mesure des gaz de sang) ayant servi au prélèvement est rapidement adressée au laboratoire sans l'aiguille, purgée d'air, bouchée hermétiquement et stérilement.

La recherche de bactéries anaérobies strictes est réalisée sur ce type d'échantillon.

#### Plaies profondes : Le curetage - écouvillonnage profond de l'ulcère :

Il permet de prélever du tissu par grattage de la base de l'ulcère avec une curette stérile. Les produits de curetage sont récupérés par écouvillonnage. L'écouvillon utilisé est de type culturette/swab et est acheminé rapidement au laboratoire.

La recherche de bactéries anaérobies strictes n'est pas réalisée sur ce type d'échantillon.

#### LES PRELEVEMENTS A REALISER EN CAS D'OSTEITE AIGUE :

Ils s'effectuent par biopsie osseuse, qui est la méthode de référence. Elle est rapide, simple et sans effet secondaire mais doit être réalisée dans des centres spécialisés. En cas d'échec d'une première antibiothérapie, la biopsie doit être réalisée après une fenêtre thérapeutique de 15 jours minimum. La biopsie osseuse peut être obtenue :

- par un geste chirurgical (méthode de référence) au bloc opératoire ou au lit du malade ;
- par ponction percutanée radio- ou écho-guidée en passant le trocart (de type myélogramme) au travers de la peau saine après désinfection la plus complète possible. Ce geste peut être réalisé sans anesthésie locale chez de nombreux patients du fait de la neuropathie sensitive. Plusieurs zones peuvent être prélevées. Le prélèvement doit être mis dans un pot stérile.

Quelle que soit la technique utilisée, l'échantillon doit permettre la réalisation d'une culture aérobie et anaérobie. Un examen histopathologique peut compléter l'analyse.

#### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Le délai maximum de transport est de 2h à température ambiante. S'il doit être dépassé, les prélèvements sont mis dans un milieu de transport. Les liquides de ponction en seringue doivent être transférés dans des systèmes hermétiquement clos. Le milieu de transport est surtout nécessaire dans le cadre de recherche de bactéries anaérobies (prélèvement profond) réalisée sur des biopsies de petit volume ( < 1 cm<sup>3</sup>)

#### REMARQUES

Hémocultures aérobies et anaérobies : elles sont réalisées en cas de sepsis sévère (grade 4 de l'IWGDF) (se reporter au chapitre dédié).

#### DELAÏ DE RENDU

En moyenne 4 jours. Les milieux de culture sont conservés 14 jours pour détecter une culture tardive éventuelle.

\*Société Française de Microbiologie.

Le pied de diabétique infecté. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES INFECTIONS OSSEUSES ET ARTICULAIRES

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant ou des tubes stériles (tubes pour LCR), éventuellement une paire d'hémoculture.

Pour la réalisation d'une cytologie correcte, il est indispensable de joindre en plus du liquide de ponction dans un tube hépariné (bouchon vert).

Pour la recherche de cristaux correcte, il est indispensable de joindre en plus du liquide de ponction dans un tube citraté (bouchon bleu).

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Afin de diminuer le risque d'isolement de bactéries contaminantes, les prélèvements doivent être réalisés dans des conditions d'asepsie chirurgicale. Parallèlement, afin de diminuer le risque d'obtenir des prélèvements faussement négatifs, il est recommandé de respecter un délai minimal de 15 jours par rapport à toute antibiothérapie si l'état du patient le permet et de multiplier les prélèvements.

Le laboratoire peut être amené à recevoir une grande variété de prélèvements.

#### Les prélèvements superficiels de plaies ou de fistules par écouvillonnage :

Ils doivent être proscrits car le plus souvent contaminés par la flore cutanée. Seuls les ponctions et les prélèvements par abord en zone saine ont une valeur prédictive correcte.

#### Les liquides de ponction (pus et liquides articulaires) :

Une partie doit être recueillie dans un tube hépariné pour prévenir la coagulation du prélèvement et obtenir un examen cytologique de qualité. En cas de recherche de cristaux, ne partie doit être recueillie dans un tube citraté. Des flacons d'hémoculture aérobies et anaérobies peuvent être ensemencés avec le liquide ponctionné, mais il convient de toujours garder une aliquote du prélèvement pour les examens microscopiques et la culture classique.

#### Biopsies percutanées ou « True cut » :

Elles peuvent être réalisées en radiologie ou au bloc opératoire quand la ponction est impossible par absence de liquide ou en cas d'infection au niveau vertébral.

#### Prélèvements peropératoires :

Ils doivent être multipliés. On recommande classiquement au moins 3 à 6 prélèvements en des sites anatomiques différents et, si possible, pathologiques macroscopiquement. Un nombre inférieur risque de provoquer des difficultés d'interprétation et un nombre supérieur engendre une charge de travail inutile pour le laboratoire et une probabilité accrue de contamination sans preuve d'amélioration de la sensibilité de l'examen. Ces prélèvements peuvent être liquides (pus, liquide articulaire) ou solides (tissus de granulation, tissus d'interposition et tout tissu paraissant suspect). Des prélèvements additionnels peuvent être réalisés dans le cadre de recherche spécifique (biologie moléculaire, mycobactéries) ou d'examens anatomo-pathologiques.

#### Matériel d'ostéosynthèse (vis, ciment, fiches, tiges, plaques...) ou la prothèse :

Ils peuvent être adressés au laboratoire et traités de manière spécifique.

#### Les drains de redon et les liquides de drainage :





Ils peuvent être recueillis en cas de reprise septique uniquement. Leurs positivités ou leurs négativités ne doivent être utilisées qu'en cas de positivité des prélèvements per-opératoires comme marqueurs de l'activité du traitement et de l'évolution, et jamais comme un outil diagnostique en cas de négativité des prélèvements per-opératoires.

#### Les tubulures des drains

Elles ne doivent pas être traitées au laboratoire excepté en cas d'ablation per-opératoire de drains captifs. Elles sont alors traitées comme matériel d'ostéosynthèse.

#### En cas d'infection sur fiche de fixateur externe :

Il est recommandé de réaliser un curetage lors de l'ablation de la fiche et de traiter le prélèvement comme un prélèvement d'ostéite ; On peut aussi réaliser un prélèvement le long de la fiche avec si possible un recueil de pus avec un cathlon monté sur une seringue (écouvillonnage proscrit).

#### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Le délai maximum de transport est de 2h à température ambiante. S'il doit être dépassé, les prélèvements sont mis dans un milieu de transport. Les liquides de ponction en seringue doivent être transférés dans des systèmes hermétiquement clos.

#### REMARQUES

Il est indispensable que les échantillons correctement identifiés soient accompagnés d'un bon de demande spécifique comportant le nom du préleveur, les date et heure, les sites anatomiques et les informations cliniques (traitement anti-infectieux, antécédents infectieux, reprise d'une prothèse, corticothérapie par exemple).

La recherche spécifique éventuelle de mycobactérie doit être précisée sur la demande.

Les prélèvements doivent être multiples pour permettre également la réalisation des analyses d'anatomo-pathologie.

Il est possible d'ensemencer le liquide articulaire directement dans des flacons d'hémocultures.

Pour la réalisation d'une cytologie correcte, il est indispensable de joindre en plus du liquide de ponction dans un tube hépariné (bouchon vert).

Pour la recherche de cristaux correcte, il est indispensable de joindre en plus du liquide de ponction dans un tube citraté (bouchon bleu).

#### DELAI DE RENDU

En moyenne 4 jours. Les milieux de culture sont conservés 14 jours pour détecter une culture tardive éventuelle.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections osseuses et articulaires. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES COLLECTIONS CLOSES ET DES SEREUSES

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant ou des tubes stériles (tubes pour LCR), éventuellement des flacons d'hémoculture.

Pour la réalisation d'une cytologie correcte, il est indispensable de joindre en plus du liquide de ponction dans un tube hépariné (bouchon vert).

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Il s'agit essentiellement de ponctions ou de prélèvements réalisés lors des actes chirurgicaux. Leur réalisation requiert le respect des mesures d'asepsie rigoureuse et des conditions chirurgicales. Avant de ponctionner un foyer fermé, il est nécessaire de désinfecter la peau.

#### Prélèvements liquides :

La ponction s'effectue à l'aiguille de gros diamètre, montée sur une seringue, après préparation soigneuse. Chasser l'air, obturer (seringue type gaz du sang). Des flacons d'hémocultures aérobies et anaérobies peuvent être ensemencés avec le liquide ponctionné, sauf si le liquide résulte de la perforation d'un organe creux à contenu septique. Si le volume est faible, il convient de privilégier le flacon anaérobie. Il est conseillé d'inoculer 5-10 mL par flacon si le volume le permet. Il a été montré qu'un volume de 2-3 mL par flacon serait suffisant pour les liquides pleuraux. Il convient de toujours garder une aliquote du prélèvement pour les examens microscopiques et microbiologiques supplémentaires. Il faut bannir les écouvillons.

#### Prélèvement biopsiques solides :

Le recueil de fragments tissulaires de volume important se fait dans des flacons stériles, sans conservateur, sans liquide. Pour les petits échantillons, il convient de placer la biopsie au fond d'un tube stérile et d'ajouter 3 à 4 gouttes de sérum physiologique stérile ou d'un tampon adapté. Pour une recherche de germes anaérobies stricts, une seconde biopsie placée dans un milieu de transport anaérobie est nécessaire. Les prélèvements per-opératoires sont effectués au niveau de tissus suspects macroscopiquement. Ils peuvent être liquides ou solides. Les échantillons solides doivent être fragmentés et transportés dans des flacons stériles fermés hermétiquement sans conservateur.

#### Prélèvements chirurgicaux (incluant les prélèvements effectués par coelioscopie) :

Les prélèvements de liquide péritonéal réalisés par le chirurgien sont effectués lors d'appendicectomies ou de péritonites. En cas de multiples épanchements péritonéaux cloisonnés, il est nécessaire de réaliser des prélèvements multiples. Il n'est pas utile d'ensemencer en parallèle des flacons d'hémocultuire dans ce contexte.

En gynécologie, les prélèvements bactériologiques sont effectués pour porter le diagnostic étiologique de salpingite et d'atteinte périhépatique. Il est alors recommandé d'effectuer une recherche de Chlamydia trachomatis par PCR sur une partie de l'échantillon.

#### Liquides de drains de séreuses :

Les liquides de drains de séreuses, notamment pleurale et péricardiques, peuvent dans certains cas remplacer le liquide de ponction pour établir un diagnostic





microbiologique initial. Il est alors recommandé, au niveau du service clinique de transférer les liquides dans un tube stérile et d'ensemencer en parallèle, comme pour les ponctions, des flacons d'hémoculture aérobie et anaérobie avec ce liquide.

#### Liquides de dialyse péritonéale :

Il est demandé au service clinique de prélever un grand volume de liquide (idéalement 50 mL) et d'ensemencer en parallèle des flacons d'hémoculture aérobie et anaérobies (5-10 mL par flacon) avec ce liquide.

#### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Le délai maximum de transport est de 2h à température ambiante. S'il doit être dépassé, les prélèvements sont mis dans un milieu de transport ou à défaut conservés à température comprise entre +2°C et +8°C. Les liquides de ponction en seringue doivent être transférés dans des systèmes hermétiquement clos.

#### REMARQUES

Les informations cliniques sont essentielles à la conduite de l'examen : nature de l'échantillon, modalités de prélèvement, traitement antibiotique/antifongique récent éventuel, ainsi que le contexte global (âge, matériel étranger, état immunitaire du patient, infection en cours, corticothérapie, par exemple)

Pour la réalisation d'une cytologie correcte, il est indispensable de joindre en plus du liquide de ponction dans un tube hépariné (bouchon vert).

Il est possible d'ensemencer le liquide de ponction directement dans des flacons d'hémocultures.

Dans le cadre de la prévention des accidents d'exposition au sang, tout prélèvement comportant une aiguille sera refusé.

#### DELAI DE RENDU

En moyenne 4 jours. Les milieux de culture sont conservés 7 jours pour détecter une culture tardive éventuelle.

\*Société Française de Microbiologie.

Examen bactériologiques des collections closes et des séreuses. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES LIQUIDES DE DRAIN ET DE DIALYSE

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant ou le flacon est transmis au laboratoire avec son orifice clampé.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Le système de drainage comprend le drain fixé à la peau par une suture, une tubulure fixée au drain à une extrémité et au flacon sous vide à l'autre. Le flacon est transmis au laboratoire avec son orifice clampé. Il doit comporter un branchement « Luer » femelle auquel une seringue non montée peut s'adapter. Le rythme des cultures dépend de l'évolution de la pathologie. En cas de chirurgie orthopédique septique, les drains peuvent être retirés après deux cultures négatives s'ils ne sont pas requis par ailleurs. La stérilité de drains maintenus de façon prolongée pour des motifs mécaniques peut être vérifiée de manière hebdomadaire.

En cas de positivité d'un prélèvement, la tubulure doit être changée lors du branchement du nouveau flacon.

L'étude du matériel (tubulure de drain) est non justifiée car aucun critère n'existe pour définir les seuils de colonisation acceptables des tubulures de drainage.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Transport au laboratoire à température ambiante. Le délai maximum de transport est de 2h.

### REMARQUES

Si volume inférieur à 1 ml : ne pas adresser de prélèvement au laboratoire. Prélever uniquement sur système de drainage clos.

Dans le cadre de la prévention des accidents d'exposition au sang, tout prélèvement comportant une aiguille sera refusé.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 5 jours. Les milieuxensemencés sont conservés 10 à 14 jours selon l'origine du prélèvement pour détecter une culture tardive éventuelle.

\*Société Française de Microbiologie.

Collections closes et des séreuses (dont liquides de drain et dialyse infectés).

REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN BACTERIOLOGIQUE PLAIE, D'ULCERE, D'ESCARRE

### Note préliminaire à propos des prélèvements avec écouvillon et par biopsie

Seul un prélèvement avec un écouvillon type culturette/swab assure une bonne sensibilité de la recherche de micro-organisme.

Du fait de la diversité des infections cutanées, l'identification précise du type d'infection et sa localisation sont requises. De même il faut préciser s'il s'agit d'un prélèvement superficiel ou profond car la mise en oeuvre de la recherche de bactérie(s) anaérobie(s) ne se fera que sur les prélèvements profonds. Pour les biopsies cutanées, il est essentiel d'éviter toute dessiccation de l'échantillon au laboratoire, soit en acheminant rapidement l'échantillon au laboratoire, soit en le préservant par ajout de quelques gouttes de sérum physiologique.

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 seringue (volume du prélèvement au minimum de 2 ml) fermée par un obturateur stérile, éventuellement 2 écouvillons (culturette/swab) ou 1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Seul un prélèvement avec un écouvillon type culturette/swab assure une bonne sensibilité de la recherche de micro-organismes (culturette/swab). Du fait de la diversité des infections cutanées, l'identification précise du type d'infection et sa localisation sont requises. De même, il faut préciser s'il s'agit d'un prélèvement superficiel ou profond car la mise en oeuvre de la recherche de bactérie(s) anaérobie(s) ne se fera que sur les prélèvements profonds.

Pour les biopsies, il faut bannir l'ajout de tout liquide (sérum physiologique ou milieu de transport) car en cas de recours à l'utilisation de méthodes moléculaires (PCR notamment) les liquides peuvent induire des interférences. Dans ce dernier cas, il est possible de prévoir un échantillon dédié sans ajout de liquide.

Pour les biopsies cutanées, il est essentiel d'éviter toute dessiccation de l'échantillon, soit en acheminant rapidement l'échantillon au laboratoire, soit en le préservant par ajout de quelques gouttes de sérum physiologique.

**Modalités de prélèvement :** au préalable, une déterision au sérum physiologique de la zone à prélever et éventuellement une désinfection des zones proximales sont nécessaires.

**Prélèvement sur peau saine ou lésion non suintante (érythrasma, par exemple) :** Prélever un échantillon à l'aide d'écouvillons type culturette/swab.

### Peau avec lésions cutanées superficielles :

En cas d'impétigo, ecthyma, bulles, folliculite, furoncle, anthrax, par exemple, prélever un échantillon à l'aide d'écouvillons type culturette/swab.

### Inflammation cutané, érysipèle, hypodermite :

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 ré-aspirer le maximum. Compléter ensuite à 1 ml de sérum physiologique stérile 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.

#### Morsures :

Aspirer le liquide présent dans la blessure avec une seringue et compléter ensuite à 1 ml de sérum physiologique stérile en rinçant la seringue pour éviter toute dessiccation du prélèvement et boucher stérilement. A défaut, après désinfection des zones proximales, pratiquer un écouvillonnage profond à l'aide d'écouvillons type culturette/swab, notamment pour la recherche des bactéries anaérobies.

#### Lésions unguéales :

Couper toute la partie de l'ongle atteint avec des ciseaux stériles, jusqu'à la limite des tissus sains. Il est aussi possible de prélever des poussières d'ongles en raclant la tablette interne de l'ongle. Placer dans un flacon stérile. Le pathogène est fréquemment retrouvé à l'interface entre le tissu sain et l'ongle malade. En l'absence de produit de grattage ou en cas de macération, on peut utiliser un écouvillon type culturette/swab.

#### Plaies superficielles :

Pour les infections superficielles du site opératoire, prélever l'écoulement de la cicatrice de préférence par aspiration à la seringue, ou pratiquer une biopsie ou une aspiration à l'aiguille fine au cours de la reprise chirurgicale. L'écouvillonnage de la cicatrice doit être évité.

#### Ulcération, escarres, lésions cutanées nécrotiques :

Un prélèvement de plaie n'est indiqué que s'il y a des signes d'accompagnement locaux (douleur, inflammation péri-ulcéreuse) ou généraux (adénite, fièvre). Les escarres ne devront être prélevées qu'au stade III ou IV, c'est-à-dire lorsque la perte de substance atteint ou dépasse le fascia. Les écouvillonnages des escarres sont à proscrire car ils reflètent la colonisation bactérienne qui est souvent massive. Les biopsies osseuses ou de tissus profonds sont préférables à l'irrigation aspiration de la périphérie de l'escarre. On recommande classiquement deux prélèvements. En cas d'atteinte osseuse associée, des biopsies osseuses sont à réaliser en plus des prélèvements tissulaires. Les résultats des cultures des biopsies ne doivent pas être utilisés comme seuls critères d'infection. Ils doivent être confrontés aux signes cliniques et/ou anatomopathologiques. Les ulcères veineux ne seront prélevés qu'en cas d'infection. Les biopsies de tissus sont préférées à l'écouvillonnage de la plaie et ne sont effectuées qu'après débridement de l'ulcère.

Nettoyer la plaie, éliminer les exsudats, débrider les tissus nécrosés si nécessaire, appliquer l'antiseptique cutané et laisser sécher. Rincer au sérum physiologique stérile. Réaliser une biopsie de la lésion ou cureter le bord actif de la lésion et placer l'échantillon au fond d'un flacon stérile. Eventuellement, aspirer à l'aiguille fine le liquide inflammatoire produit par la lésion (très peu de matériel est suffisant). L'écouvillonnage n'est pas une procédure adéquate et doit être évité.

#### Fractures ouvertes :

Les prélèvements faits à l'admission ou ceux après parage chirurgical sont souvent inutiles. Les prélèvements de fragments d'os sont les plus pertinents.

#### CONSERVATION ET TRANSPORT\*



Le délai de transport est de 2 heures à température ambiante. Pour les prélèvements par écouvillonnage, un écouvillon de type culturette/swab est recommandé pour tout délai d'acheminement supérieur à 2h.

#### REMARQUES

La recherche de bactérie entreprise sur une morsure de moins de 12 heures est souvent improductive. Bien préciser le site de la morsure et l'animal. Prévention de l'AES : ne jamais laisser d'aiguille au bout de la seringue.

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, coritcothérapie), traitement antibiotique récent éventuel.

#### DELAI DE RENDU

En moyenne 4 jours et demi.

\*Société Française de Microbiologie.

Lésions et suppurations cutanées d'origine bactérienne. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN MYCOLOGIQUE DE LA PEAU ET DES PHANERES

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile à bouchon vissant, éventuellement 2 écouvillons. Tube Sabouraud + ou - actidione.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Dans tous les cas, les prélèvements doivent s'accompagner d'un interrogatoire détaillé : notion de voyage (récent) en zone tropicale, métier exercé, animaux de compagnie, loisirs (piscine, équitation, par exemple). Il faut également s'assurer que le malade n'est pas sous traitement antifongique local ou général. Si c'est le cas, il faut arrêter le traitement et attendre au moins une semaine avant d'effectuer un prélèvement cutané et 3 à 4 semaines pour un prélèvement unguéal. La suspicion d'une mycose d'importation doit être signalée au biologiste car des précautions particulières de manipulation des échantillons et des cultures doivent être impérativement respectées.

#### Lésion de la peau glabre :

Pour les lésions squameuses, prélever en raclant fortement les squames à la périphérie des lésions à l'aide d'une curette de Brocq, d'un grattoir de Vidal ou, à défaut, d'un vaccinostyle stérile. Les échantillons sont recueillis dans un flacon stérile, de préférence non électrostatique fermant hermétiquement. Dans ces cas, des squames sont prélevées à l'aide d'une curette mousse.

#### Lésion des plis :

En l'absence de recherche concomitante de bactéries, les lésions non inflammatoires sont désinfectées à l'alcool à 70° pour éviter le développement de la flore bactérienne en culture. Selon l'aspect des lésions : gratter à la curette ou au scalpel les squames en bordure de la lésion (lésion sèche et squameuse), frotter les sérosités successivement à l'aide de 2 ou 3 écouvillons (lésions macérée et suintante), l'un destiné à l'examen microscopique, l'autre à la culture. Il est également possible de percer les vésicules puis de prélever la sérosité à l'écouvillonnage (lésion vésiculeuse).

#### Lésions unguéales :

Réaliser un lavage des mains ou des pieds au savon suivi d'un rinçage à l'eau et d'un séchage à l'air. Couper toute la partie de l'ongle atteint avec des ciseaux, jusqu'à la limite des tissus sains. Il est aussi possible de prélever des poussières d'ongles en raclant la tablette interne de l'ongle, ou les îlots blanchâtres de la surface de l'ongle, au vaccinostyle ou à la curette stérile. Prélever le pus de péri onyxis éventuel en pressant la lésion (écouvillon).

#### Lésions du cuir chevelu et des zones pileuses :

Examiner les cheveux sous une lampe de Wood. Arracher avec une pince à épiler les cheveux fluorescents (cas des teignes microscopique et favique). Sinon prélever à la loupe les cheveux cassés à proximité du bulbe. Prélever les squames et les croûtes éventuelles en raclant à la curette. Récolter les divers prélèvements dans un flacon stérile non électrostatique fermant hermétiquement. En cas de lésions inflammatoires suppurées, prélever les suppurations avec un écouvillon. La technique dite du « carré de moquette » peut être utilisée.

#### Autres :

Lésions papuleuse, verruqueuses : selon le type de la lésion, le prélèvement s'effectue par écouvillonnage. Lésions d'aspect tumorale : dans le cas de lésions



d'aspect tumoral fistulisées, prélever les grains ou le pus. En l'absence de fistule, gratter les squames. Dans les 2 cas, une biopsie cutanée peut être réalisée.

#### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Dans tous les cas, l'échantillon doit être accompagné des renseignements cliniques et biologiques concernant le malade, la mycose et la nature du champignon suspecté. Les squames et les cheveux se conservent plusieurs jours.

#### REMARQUES

Bien préciser la notion de voyage récent en zone tropicale, le métier exercé, les animaux de compagnie, les loisirs (piscine, équitation...).

#### DELAI DE RENDU

En moyenne 1 mois.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections fongiques de la peau et des phanères. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## PRELEVEMENTS RESPIRATOIRES

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Des prélèvements ne sont indiqués que s'ils sont susceptibles de modifier la prise en charge thérapeutique ou dans les situations cliniques où ils présentent la meilleure sensibilité. Pour la recherche de bactéries ou de champignons, les prélèvements respiratoires invasifs, via la bronchoscopie, doivent être privilégiés quand ils sont possibles. En ce qui concerne les virus respiratoires, beaucoup se multiplient préférentiellement dans les cellules cylindriques ciliées de l'arbre respiratoire. Le prélèvement doit donc recueillir des sécrétions naso-pharyngées ou trachéobronchiques.

#### Expectorations (ECBC) :

L'expectoration est un prélèvement rarement contributif et source d'erreur. En effet sa facilité d'exécution entraîne dans plus de 50% des cas le recueil de sécrétions contaminées par la salive. Ce type de prélèvement ne doit pas être réalisé pour le diagnostic de pneumopathies communautaires traitées en ambulatoire.

Ses indications privilégiées sont les échecs, du traitement empirique, le diagnostic des surinfections de bronchite chronique, le diagnostic des infections à mycobactéries et des infections chez les patients atteints de mucoviscidose. Ce prélèvement peut aussi convenir pour la recherche de *Pneumocystis jirovecii* si recherche par PCR.

Pour diminuer le risque de contamination salivaire, il est impératif de respecter un protocole de recueil rigoureux : l'expectoration doit être réalisée après rinçage bucco-dentaire à l'eau stérile, lors d'un effort de toux, aidé si nécessaire d'une kinésithérapie.

#### Aspiration endotrachéale :

L'aspiration des sécrétions broncho-pulmonaires par la sonde d'intubation est une méthode alternative lorsque le patient n'expectore pas et que 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.

#### Le prélèvement réalisé sous fibroscopie :

Il se compose de 2 ou 3 fractions : une fraction bronchique (50 ml) et une ou deux fractions alvéolaires (150-200 ml). Cet examen a notamment été préconisé chez les patients immunodéprimés chez lesquels la réponse inflammatoire avec recrutement de polynucléaires est absente. Cet examen pourrait couvrir un territoire de recueil d'échantillon plus important. La principale limite est liée au degré d'insuffisance respiratoire du malade. La technique de prélèvement consiste à instiller, après blocage du broncho-fibroscopie dans une bronche segmentaire ou sous-segmentaire, des échantillons de 50 ml de sérum physiologique (à 37°C) 4 à 6 fois, permettant de recueillir entre 20% et 60% de la quantité injectée. Un volume inférieur de 20 à 25 ml, ou mini-lavage, peut être instillé, souvent à l'aveugle, afin de recueillir 2 à 3 ml d'échantillon.

#### Le prélèvement distal protégé :

**Brossage bronchique :** Ce mode de prélèvement consiste à réaliser un brossage de la muqueuse bronchique distale sous fibroscopie. Ce dispositif évite une contamination du prélèvement par la flore de l'oropharynx lors du passage des voies aériennes supérieures. Le volume recueilli est de 1 à 10 µl. L'extrémité de





la brosse est coupée aseptiquement et placée dans un tube de 1 mL de sérum physiologique.

**Cathéter distal protégé** : Il s'agit de la variante de la technique précédente. Il est à réserver aux patients intubés et ventilés à lésions bilatérales car l'introduction d'un double cathéter protégé est faite à l'aveugle. Un volume de 1 mL est injecté et ré-aspiré à la seringue. L'extrémité du cathéter est sectionné aseptiquement et placée dans un tube stérile.

**Liquide pleural** : Un épanchement pleural est associé à une pneumopathie dans 20 à 40% des cas. Cf. chapitre « Examen bactériologique des collections closes et des séreuses ».

#### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Le recueil se fait dans un flacon stérile acheminé en moins de 2h au laboratoire pour éviter la prolifération des bactéries de la flore commensale aux dépens de l'agent pathogène recherché (notamment *Streptococcus pneumoniae*). Il doit, si possible, être réalisé avant toute antibiothérapie.

#### REMARQUES

Les expectorations (crachats) présentant une contamination salivaire ne sont pas mis en culture.

#### DELAI DE RENDU

En moyenne 4 jours (rajouter 1 jour si dimanche inclus).

\*Société Française de Microbiologie.

Infections broncho-pulmonaires (hors tuberculose, grippe et mucoviscidose).

REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN MICROBIOLOGIQUES DES PRELEVEMENTS D'OREILLE

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

2 écouvillons (culturette/Swab).

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Trois situations peuvent conduire à réaliser un prélèvement d'origine auriculaire :

\*Otite moyenne aiguë (MOA) de l'enfant et de l'adulte ;

\*Otite moyenne récidivante (OMR) ;

\*Otite externe (parfois appelée otite du nageur) : ce tableau clinique est surtout dû à *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* ou à des champignons. Moins fréquemment, des entérobactéries, des anaérobies et *S. pyogenes* sont impliqués. Une forme particulièrement grave appelée otite maligne externe, est observée essentiellement chez le diabétique, mais aussi la personne âgée et l'immunodéprimé. L'agent causal le plus fréquent est *P. aeruginosa*, mais d'autres étiologies peuvent être retrouvées. L'otite externe fongique ou otomycose est relativement fréquente. Elle résulte de la colonisation du conduit auditif externe, sur des lésions pré-existantes (eczéma, par exemple), et elle est fréquemment associée à une otite bactérienne (5-30% des cas). Elle se manifeste par un prurit chronique et une douleur, et peut être accompagnée d'une otorrhée, d'un érythème et/ou d'un oedème. Les formes invasives sont rares, mais peuvent se voir chez le patient fortement immunodéprimé.

Le prélèvement est effectué par l'oto-rhino-laryngologiste.

Dans l'OMA et l'OMR, le prélèvement sera réalisé après nettoyage du conduit auditif externe et séchage, puis incision du tympan à l'aide d'une aiguille à paracentèse après avoir réalisé une anesthésie locale. Chez l'enfant, le prélèvement peut s'effectuer sous anesthésie générale. Le prélèvement est réalisé soit à l'aide d'un cathlon monté sur seringue ou par aspiration grâce à une pompe à vide et un piège à sécrétions, soit à l'aide d'un écouvillon (culturette/swab). Le prélèvement par écouvillonnage est le moins recommandé en raison d'une interprétation plus difficile des résultats (dilution du liquide).

Dans le cas d'une otite externe, le conduit auditif externe est écouvillonné et les débris qui l'encombrent sont mis en culture.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Transport au laboratoire dans les meilleurs délais à température ambiante.

### REMARQUES

Bien préciser sur le bon de demande « paracentèse ».

### DELAI DE RENDU

En moyenne 4 jours.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections ORL. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN MICROBIOLOGIQUES DES PRELEVEMENTS DE GORGE

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

2 écouvillons (culturette/Swab).

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

En cas d'angine aiguë bénigne dont l'étiologie est probablement virale, aucun prélèvement à visée virologique n'est nécessaire. Dans les autres cas, le prélèvement doit être réalisé avant toute antibiothérapie locale ou générale.

L'émission du son « Â » par le patient a pour but de diminuer le réflexe nauséux et dégager les amygdales. Il peut être utile d'abaisser la langue pour dégager le pharynx et éviter tout contact salivaire.

On procède à l'écouvillonnage des amygdales (ou de l'amygdale atteinte en cas d'amygdalite unilatérale) ou, en leur absence de la région oropharyngée latérale et des piliers de la loge amygdalienne.

On utilise 1 écouvillon (culturette/swab).

Quelques points particuliers, fonction du contexte sont à signaler :

-En présence d'une ulcération ou d'un exsudat, le prélèvement doit s'effectuer à leur niveau ;

-Lors d'une suspicion de diphtérie, le prélèvement doit porter sur la périphérie ou sous les fausses membranes. Prélever également un échantillon de fausses membranes, pour envoi au Centre national de Référence (CNR) ;

-Pour la recherche de *N. gonorrhoeae*, si la mise en culture ne peut être immédiate, l'utilisation d'un écouvillon type culturette/swab est indispensable et il est important de prévenir le laboratoire de cette recherche ;

-Pour la recherche de *Candida spp.*, le prélèvement s'effectue au niveau de la langue, du palais et de la face interne des joues.

-Pour le phlegmon de l'amygdale, le prélèvement doit être obtenu par ponction puisqu'il s'agit d'une collection fermée.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Transport au laboratoire dans les meilleurs délais à température ambiante.

### REMARQUES

Seuls les Streptocoques pyogènes sont recherchés pour un examen microbiologique des infections de la gorge standard.

Pour les prélèvements de langue, palais et de la face interne des joues, seules les levures (*Candida spp.*) seront recherchées.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 4 jours.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections ORL. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DE PRELEVEMENT NASAL, RHINO-PHARYNGE ET PUS DE SINUS

Les types d'échantillons pour l'examen microbiologiques sont présentés dans le tableau suivant :

Contexte	Principaux objectifs
Prélèvements des cavités nasales dans le cadre d'un bilan d'une staphylococcie. Recherche de portage de <i>S. aureus</i> résistant à la méticilline (SARM)	Mise en évidence de <i>S. aureus</i>  Recherche de SARM
Aspiration ou écouvillonnage rhino-pharyngé au cours d'une suspicion de coqueluche ou en cas de recherche de bactéries intracellulaires ( <i>Mycoplasma pneumoniae</i> ou <i>Chlamydia pneumoniae</i> )	Mise en évidence de <i>Bordetella pertussis</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> ou <i>Chlamydia pneumoniae</i> selon l'objectif recherché
Pus profond des cavités nasales	Mise en évidence de <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>S. aureus</i> + champignons ( <i>Aspergillus</i> spp., et autres)
Pus de sinus par aspiration au méat moyen lors d'une sinusite aiguë	Chez l'enfant : mise en évidence de <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> Chez l'adulte : mise en évidence de <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>S. aureus</i> , anaérobies, <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus intermedius</i> + champignons ( <i>Aspergillus</i> spp., Mucorales)
Pus de sinus par aspiration au méat moyen lors d'une sinusite chronique (habituellement polymicrobien)	Mêmes objectifs que pour les sinusites aiguës : + bacilles à Gram négatif aérobies + anaérobies ( <i>Peptostreptococcus</i> spp., <i>Fusobacterium</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., par exemple)
Pus de sinus lors d'une sinusite aiguë nosocomiale	Mise en évidence d'entérobactéries, <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

2 écouvillons (culturette/swab).

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Concernant la balle fongique, les prélèvements sont réalisés lors de l'exérèse par voie de méatotomie moyenne. Les échantillons sont adressés aux laboratoires d'anatomopathologie et de mycologie.

Concernant les sinusites bactériennes ou fongiques invasives, des biopsies profondes (muqueuse, tissu osseux, produits de curetage) orientés par l'imagerie sont réalisés au bloc opératoire, à la périphérie des lésions en plusieurs points, et



sont adressées aux différents laboratoires pour un examen mycologique et/ou bactériologique et un examen anatomopathologique. Les biopsies sont disposées dans un flacon stérile et humidifiées avec du sérum physiologique pour éviter la dessiccation. Le dépôt sur une compresse est à proscrire.

Les prélèvements dans les cavités nasales (tiers inférieur) est un prélèvement alternatif non invasif pour le diagnostic d'infection des sinus, mais de faible qualité (contamination par la flore nasale). Il doit être évité au maximum.

#### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Un acheminement rapide (< 4 heures) à température ambiante est conseillé. En cas d'examen bactériologique, la recherche des bactéries anaérobies impose un délai inférieur à 2h environ, sauf en cas d'utilisation de milieu approprié.

#### DELAI DE RENDU

En moyenne 3 jours.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections ORL. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES PRELEVEMENTS OCULAIRES

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 écouvillon culturette/swab.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Les prélèvements doivent être faits avant toute antibiothérapie locale ou générale.

Elimination de la fluorescéine et l'oxybuprocaine éventuellement présents par un lavage de l'œil avec du sérum physiologique stérile.

Port de gants sans talc obligatoire.

#### Conjonctivite :

Pas de toilette faciale, nid'utilisation de produits de maquillage. Frottis à l'écouvillon des conjonctives palpébrales avec recueil des sécrétions et du pus conjonctival dans l'angle interne de l'œil.

Recherche de virus : grattage à l'écouvillon de la conjonctive palpébrale et recueil du maximum de sécrétions et de fausses membranes. L'écouvillon est placé dans un milieu de transport pour virus.

Recherche de Chlamydia : gratter à l'aide d'un grattoir la conjonctive par 4 allers-retours sur les conjonctives des paupières inférieure et supérieure (après retournement) et recueillir le maximum de sécrétions. Introduire le grattoir dans le tube pour PCR, acheminer au laboratoire rapidement. Dans le cas d'un trachome, retourner la paupière, identifier les zones avec follicules, inflammation ou scars pour gratter à leur niveau les cellules épithéliales.

**Recherche de microsporidies :** elle est réalisée par grattage des conjonctives palpébrales avec un écouvillon stérile. Le produit de grattage est étalé sur 2 lames pour la recherche à l'examen direct après coloration. La recherche de microsporidies peut également être réalisée par amplification génique à partir du produit de grattage ou d'un deuxième écouvillon placé dans un tube stérile.

**Filarioses :** le passage de la filaire adulte sous la conjonctive bulbaire ou palpébrale permet de la voir et souvent de l'extraire. Elle est recueillie pour son identification dans un petit flacon stérile, contenant du NaCl isotonique. En cas de loase et avant traitement, un prélèvement de sang sur EDTA doit être réalisé entre 10h AM et 15 PM afin d'évaluer la microfilarémie.

**Myiase :** les larves sont prélevées lorsqu'elles sont accessibles, et placées dans un flacon stérile adressé au laboratoire pour confirmer le diagnostic.

#### Cornée :

**Grattage de cornée :** en cas de lésion profonde, l'épaisseur cornéenne doit être vérifiée avant le grattage. Le prélèvement est réalisé après rinçage préalable de la cornée avec une solution de NaCl isotonique.

\*Recherche de bactéries : grattage cornéen à l'aide d'un écouvillon stérile (culturette/swab)

\*Recherche de champignons : grattage cornéen effectué en périphérie de la lésion avec un écouvillon stérile comme pour la recherche de bactérie si la lésion est superficielle, ou à l'aide d'une lame de bistouri 15T inoxydable, ou à défaut une aiguille hypodermique fine stériles, si la lésion est profonde.

\*Recherche de virus : grattage de la lésion à l'aide d'un écouvillon qui sera placé dans un tube sec stérile sans DNase ni RNase, ou à l'aide d'un système de prélèvement avec milieu de transport dédié aux virus pour une recherche par amplification génique.



\*Recherche d'acanthamibes : prélèvement profond réalisé avec une lame de bistouri 15T inoxydable ou une éponge stérile, en périphérie de la lésion et placé dans un tube stérile pour culture ou amplification génique.

\*Recherche de microsporidies : grattage de la lésion cornéenne avec un écouvillon stérile placé dans un tube stérile pour amplification génique.

\*Un autre grattage peut être étalé en frottis sur 2 lames pour la recherche de micro-organismes à l'examen microscopique

Autres examens effectués en cas de lésions cornéennes

\*Boîtier de lentilles de contact : la mise en culture du boîtier de lentilles est souvent polymicrobien, mais peut parfois orienter la prise en charge, notamment si le grattage n'est pas possible, si un traitement probabiliste a été instauré chez le patient et/ou si les prélèvements locaux sont restés non contributifs.

\*Biopsie : effectuée en cas d'échec thérapeutique lorsque l'agent infectieux responsable n'a pu être identifié, elle doit être fragmentée pour ensemercer différents milieux de culture, choisis en fonction du contexte clinique et des antécédents thérapeutiques. Une aliquote doit être placée dans un tube pour effectuer les éventuelles PCR et une autre pour culture virale. Un examen microscopique peut être fait immédiatement au microscope inversé et poursuivi pendant la culture.

\*Bouton cornéen enlevé au moment de la greffe : doit être adressé très rapidement au laboratoire dans un pot stérile. Il doit être fragmenté stérilement en tenant compte de l'emplacement des lésions, des examens à effectuer (microbiologie, biologie moléculaire, anatomie et cytologie pathologiques) et des milieux à ensemercer.

\*Fils de suture et corps étranger cornéen peuvent également être analysés

### Endophtalmie, nécrose rétinienne, uvéite, chorioretinite :

La survenue d'une endophtalmie d'origine endogène doit faire rechercher la porte d'entrée et l'existence éventuelle d'autres localisations secondaires (embols septiques). Des hémocultures doivent être prélevées systématiquement. Lorsqu'il ne s'agit pas d'une chorio-rétinite d'aspect caractéristique d'une toxoplasmose, une ponction d'humeur aqueuse ou de vitré doit être effectuée. La recherche d'une sécrétion locale d'anticorps spécifiques nécessite le prélèvement simultané d'un tube de sang sans anticoagulant pour recueillir du sérum parallèlement à la ponction de liquide endo-oculaire.

### Annexes de l'oeil :

\*Dacryocystites : Le prélèvement est réalisé au niveau du canal lacrymal, à l'aide de 2 écouvillons (culturette/swab), un pour l'examen microscopique, l'autre pour la culture.

\*Blépharites : Les parasites susceptibles d'être trouvés dans les cils sont : Demodex folliculorum : prélèvements des cils à la pince à épiler, 5 à 10 cils par oeil, en prenant soin de prélever les cils des paupières supérieures et inférieures. Privilégier les cils comportant des manchons blanchâtres à leur base. Les déposer dans un pot stérile et les adresser rapidement au laboratoire. Pthirus pubis : après observation, des cils, les parasites sont prélevés à la pince à épiler, placés dans un pot stérile et adressés rapidement au laboratoire.

\*Infections de l'orbite : Le diagnostic biologique nécessite la ponction d'une collection ou de biopsies ciblées pour la mise en culture et l'amplification génique spécifique ou pan-fongique.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Transport au laboratoire sans délai à température ambiante.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 3 jours.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections oculaires. REMIC : Société Française de Microbiologie.





## EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES PRELEVEMENTS PERINATAUX

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile à bouchon vissant, 2 écouvillons (culturette/swab), flacons d'hémoculture...

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Circonstances pour faire des prélèvements à visée bactériologique

Une suspicion d'infection materno-foetale (IMF) est évoquée sur des éléments d'anamnèse obstétricaux et foetaux et sur des éléments cliniques néonataux. Les prélèvements bactériologiques doivent être effectués chez le nouveau-né (NN) lorsqu'il existe une infection maternelle, si l'accouchement a lieu dans un contexte de risque infectieux, ou si l'examen du NN fait suspecter une infection néonatale. Il n'y a pas lieu d'effectuer de prélèvement chez le NN dès lors qu'une antibioprophylaxie adaptée a été effectuée chez la mère lors de l'accouchement, que l'accouchement s'est déroulé normalement et que l'enfant est indemne de signes cliniques infectieux.

L'apparition d'un signe clinique impose la réalisation sans délai d'un examen clinique par le pédiatre et la réalisation d'examens complémentaires, ainsi que la mise en route d'une antibiothérapie si nécessaire après prélèvement d'une hémoculture. Chez les NN présentant des signes cliniques évocateurs d'infection, les prélèvements à réaliser sont :

\*une hémoculture : l'hémoculture est l'examen de référence recommandé pour établir le diagnostic étiologique de d'infection néonatale bactérienne précoce (INBP). Elle devra être prélevée dans un flacon aérobie pédiatrique avec un volume cible de 2 mL de sang et au minimum de 1 mL en raison d'un bas niveau de bactériémie chez le NN. Le prélèvement des hémocultures est réalisé idéalement avant traitement antibiotique, soit sur le cathéter ombilical, soit sur une veine périphérique. Le prélèvement de sang capillaire n'est pas recommandé. L'introduction des hémocultures dans l'automate doit se faire aussitôt après le prélèvement, y compris pendant les périodes de garde.

\*une ponction lombaire : la ponction lombaire est indiquée en cas de suspicion d'INBP, d'altération de l'état général, de signes cliniques neurologiques ou de signes de sepsis et si l'état général de l'enfant le permet. Elle est réalisée secondairement en cas d'hémoculture positive. A contrario, une hémoculture négative ne permet pas d'éliminer une méningite. En cas de méningite, une ponction lombaire de contrôle est effectuée 48h plus tard pour vérifier sa stérilisation et la normalisation de la glycorachie. En plus de la culture, des techniques d'amplification simple ou multiplex des acides nucléiques spécifiques peuvent permettre d'identifier les bactéries en cause, en particulier, Streptocoque du groupe B, E. coli et L. monocytogenes.

\*une biopsie placentaire : en cas de fièvre maternelle avec notion d'exposition à L. monocytogenes et/ou d'anomalies macroscopiques placentaires (micr-abcès), il est recommandé de réaliser un examen direct et une culture du placenta. Un échantillon de placenta peut être prélevé par biopsie d'une zone de 1 cm<sup>2</sup> d'aspect macroscopique anormal ou, à défaut, près du site d'insertion du cordon.

\*Le prélèvement du liquide gastrique et les prélèvements périphériques (oreilles, bouche, plis cutanés et/ou anus) ne sont plus recommandés dans la prise en charge du risque d'INBP chez les NN de plus de 34 SA. Il est cependant possible de réaliser un prélèvement du liquide gastrique pour culture dans certaines circonstances particulières à la demande du néonatalogiste. Pour les NN de moins de 34 SA, ces recommandations ne s'appliquent pas, mais les arguments ayant conduit à la





suppression du prélèvement du liquide gastrique sont valables pour les prématurés.

\*autres prélèvements possibles : ECBU, prélèvements respiratoires, prélèvements conjonctivaux

#### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Transport au laboratoire sans délai à température ambiante.

Les prélèvements doivent être accompagnés de renseignements cliniques ainsi que de l'heure de naissance et de prélèvement.

#### REMARQUES

Lors de l'envoi des prélèvements du NN, il est nécessaire de préciser au biologiste l'état civil de l'enfant, mais aussi celui de la mère afin que la correspondance entre les résultats chez l'un et chez l'autre puisse être facilement établie. La demande sera accompagnée de renseignements cliniques sur le NN et sa mère, et les traitements éventuels.

#### DELAI DE RENDU

En fonction du type de prélèvement.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections materno-fœtales et périnatales. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES PLACENTAS

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 150 ml à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Prélèvement effectué le plus près possible de l'accouchement, idéalement en salle de naissance. Ils sont acheminés rapidement au laboratoire à température ambiante. Ils doivent être accompagnés de renseignements cliniques ainsi que de l'heure de naissance et de prélèvement. L'analyse bactériologique du placenta est recommandée dans la suspicion de listériose néonatale.

\*Prélèvement de placenta : en cas de fièvre maternelle avec notion d'exposition à *L. monocytogenes* et/ou d'anomalies macroscopiques placentaires (micr-abcès), il est recommandé de réaliser un examen direct et une culture du placenta. Un échantillon de placenta peut être prélevé par biopsie d'une zone de 1 cm<sup>2</sup> d'aspect macroscopique anormal ou, à défaut, près du site d'insertion du cordon.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Transport au laboratoire sans délai à température ambiante.

Les prélèvements doivent être accompagnés de renseignements cliniques ainsi que de l'heure de naissance et de prélèvement.

### REMARQUES

Lors de l'envoi des prélèvements du NN, il est nécessaire de préciser au biologiste l'état civil de l'enfant, mais aussi celui de la mère afin que la correspondance entre les résultats chez l'un et chez l'autre puisse être facilement établie. Le demande sera accompagnée de renseignements cliniques sur le NN et sa mère, et les traitements éventuels.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 4 jours.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections materno-fœtales et périnatales. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES PRELEVEMENTS VAGINAUX

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

Pour les frottis et les cultures, on utilise des écouvillons de nylon floqué (culturette/swab). L'utilisation de « culturettes doubles » permet de réaliser l'examen direct et la culture.






### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

La qualité des prélèvements et les renseignements cliniques conditionnent la qualité des résultats et leur interprétation. Les prélèvements effectués par le médecin gynécologue ou une sage-femme permettent de noter l'aspect des lésions.

Avant le prélèvement, il est évité toutes relations sexuelles au moins 24h avant et de faire une toilette intime avant le recueil, de faire une toilette vaginale dans les 48h qui précèdent, d'utiliser des tampons, d'utiliser des médicaments intra-vaginaux au moins 5 jours avant, et 24h avant pour les crèmes/gels. Enfin éviter les périodes de forts saignements menstruels.

### \*Auto-prélèvement vaginal :

Dans le cadre du dépistage chez des patientes asymptomatiques, le prélèvement recommandé est l'auto-prélèvement vaginal qui est réalisé par la patiente à son domicile ou dans l'établissement de soins. Il peut être utilisé pour le dépistage de la vaginose bactérienne, le dépistage de *S. agalactiae*.

Auto-prélèvement vaginal	<b>1- Lavage des mains</b>		
	Savon doux 	Savonner et rincer 	Sécher avec des essuie mains 
2- Sortez l'écouvillon en prenant soin de ne pas toucher son extrémité et en évitant de le déposer sur une surface	3- Tenir l'écouvillon dans la main en plaçant le pouce et l'index au niveau du capuchon de l'écouvillon	4- Ecarter les lèvres (replis de la peau dans la région génitale) avec les doigts d'une main et introduire l'écouvillon dans le vagin jusqu'à la moitié de l'écouvillon 	5- puis faire tourner l'écouvillon lentement environ 15 secondes en frottant contre la paroi vaginale 
		5- Retirer l'écouvillon et le place immédiatement dans son étui. Refermer fermement.	



#### \*Prélèvement vaginal après pose du spéculum :

Chez la femme, dans le diagnostic des infections hautes, il est important d'éviter les contaminations de l'échantillon par les micro-organismes du bas appareil.

Après la pose d'un spéculum, les prélèvements sont réalisés à 2 niveaux :

Prélèvement vaginal : Le cul-de-sac vaginal postérieur pour la recherche d'un déséquilibre de la flore vaginale (vaginose bactérienne) ou d'une vaginite (*Trichomonas vaginalis*, par exemple), voire d'une mycose.

Prélèvement d'endocol : se fait obligatoirement après pose du spéculum. Après exposition du col, il faut réaliser un nettoyage soigneux à l'aide d'une compresse imprégnée d'un antiseptique (à renouveler une fois), puis rincer avec une compresse imprégnée de sérum physiologique. Ceci évite la contamination du prélèvement par la flore vaginale.

Toute lésion visible doit être prélevée.

#### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Les prélèvements doivent être transportés rapidement (dans les 2h à température ambiante) au laboratoire.

#### REMARQUES

Pour un examen complet bactériologique des prélèvements vaginaux, nous recherchons de façon systématique par mise en culture *Streptococcus agalactiae* (Streptocoque du groupe B), *Neisseria gonorrhoeae* et *Gardnerella vaginalis*.

*Streptococcus agalactiae* (Streptocoque du groupe B) est recherché au niveau du tiers vaginal inférieur lors de la dernière consultation avant la date prévue de l'accouchement (34-35<sup>ème</sup> semaine). La demande est alors une recherche de Streptocoque B et non pas un prélèvement vaginal pour examen bactériologique complet. Dans ce cas, l'emploi d'un spéculum n'est pas recommandé.

#### DELAI DE RENDU

En moyenne 3 jours.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections uro-génitales et sexuellement transmissibles. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES STERILETS

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 150 ml à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

En cas de port de stérilet, il s'agit de retirer celui-ci sans toucher les parois du vagin avant sa mise en culture. Le stérilet entier mis dans un poudrier stérile doit être envoyé pour analyse en prenant soin de couper au préalable les fils.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Les prélèvements doivent être transportés rapidement (dans les 2h à température ambiante) au laboratoire.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 5 jours. Les prélèvements sont conservés 3 semaines pour rechercher les Actinomyces.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections uro-génitales et sexuellement transmissibles. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## RECHERCHE DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS ET NEISSERIA GONORRHOEAE PAR PCR


### RECUEIL DE L'ECHANTILLON


Kit spécifique à demander au laboratoire.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*


**Xpert® CT/NG Prélèvement d'un échantillon endocervical**

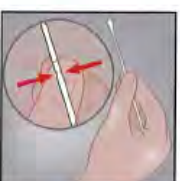
- 1** Le kit de prélèvement d'échantillon vaginal/endocervical Xpert® CT/NG contient


  - Ⓐ Kit de prélèvement individuel
  - Ⓑ Écouvillon de nettoyage
- 2** Éliminez l'excès de mucus de l'endocol et de la région environnante en utilisant l'écouvillon de plus grande taille emballé individuellement Ⓒ. Jetez l'écouvillon.


- 3** Ouvrez l'emballage Ⓐ qui contient le tube de réactif de transport d'écouvillon Xpert fermé par un bouchon rose et l'écouvillon de prélèvement emballé individuellement. Mettez le tube de côté avant de prélever l'échantillon.


Retirez le film de protection de l'emballage de l'écouvillon de prélèvement.



- 4** Tenez l'écouvillon dans la main en plaçant le pouce et l'index au milieu de la tige de l'écouvillon.


- 5** Insérez l'écouvillon de prélèvement dans le canal endocervical. Tournez l'écouvillon dans le sens horaire pendant 10 à 30 secondes, à l'intérieur du canal endocervical. Sortez délicatement l'écouvillon.



- 6** Dévissez le bouchon du tube de transport.

Déposez immédiatement l'écouvillon de prélèvement d'échantillon dans le tube de réactif de transport.


- 7** Après avoir identifié la ligne de cassure, cassez la tige de l'écouvillon contre la paroi du tube. Jetez la partie supérieure de la tige de l'écouvillon.


- 8** Rebouchez le tube de réactif de transport d'écouvillon et serrez bien le bouchon.

Étiquetez le tube de transport avec les informations d'identification de l'échantillon, notamment la date du prélèvement, comme requis.



Il est possible de pratiquer l'auto-prélèvement vaginal pour cette recherche..

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Les prélèvements doivent être transportés au laboratoire à température ambiante dans le milieu de transport approprié.

### REMARQUES

En cas de recherche de Neisseria gonorrhoeae positive, il est nécessaire de nous faire parvenir un prélèvement vaginal associé pour l'isolement du germe en culture et la réalisation de l'antibiogramme.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 1 jour.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections uro-génitales et sexuellement transmissibles. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES PRELEVEMENTS URETRAUX

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

Pour les frottis et les cultures, on utilise des écouvillons de nylon floqué (culturette/swab). Pour le premier jet d'urines 1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Réalisé chez l'homme en cas de patient symptomatique, le prélèvement urétral doit être réalisé le matin avant toute toilette, ou au moins 2h après la dernière miction. Il faut prélever avec des écouvillons « fins » et avec douceur, afin de limiter le caractère inconfortable du prélèvement. Chez la femme, le prélèvement urétral est rarement réalisé car les autres prélèvements sont suffisants pour étayer le diagnostic. Ce prélèvement peut être utile lorsque la patiente présente des signes de dysurie ou de pollakiurie non expliqués par une cystite et qui peuvent être la manifestation d'une IST.

En cas d'écoulement urétral, le prélèvement au méat doit être fait avant le 1er jet d'urine.

Premier jet d'urine : Environ 10 ml du premier jet d'urine sont recueillis chez un patient n'ayant pas uriné depuis plus d'une heure. Dans le cas d'urétrites dites « subaiguës » avec absence d'écoulement urétral, le recueil du premier jet d'urine doit se faire plus de 3h après la dernière miction.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Les prélèvements doivent être transportés rapidement (dans les 2h à température ambiante) au laboratoire.

### REMARQUES

Le recueil du premier jet urinaire dans un poudrier stérile à bouchon vissant peut remplacer l'écouvillonnage douloureux : Il est important de bien signaler sur le bon de demande qu'il s'agit d'un premier jet d'urines pour recherche microbiologique des infections sexuellement transmissibles et des infections uro-génitales.

La qualité des prélèvements et les renseignements cliniques conditionnent la qualité des résultats et leur interprétation. Les prélèvements effectués par le médecin permettent de noter l'aspect des lésions.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 3 jours.

\*Société Française de Microbiologie.

Infections uro-génitales et sexuellement transmissibles. REMIC : Société Française de Microbiologie.





## EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DES SELLES - COPROCULTURE

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 150 ml à bouchon vissant avec spatule.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Le prélèvement est réalisé dans les premiers jours de la maladie et, si possible, avant le début de l'antibiothérapie. La prescription d'une seule coproculture est en général suffisante. Les selles sont recueillies dès leur émission. Une aliquote de la selle, du volume d'une noix, est prélevée à l'aide d'une spatule ou d'un flacon cuillère puis transférée dans un conteneur hermétique propre à usage unique. La partie muco-purulente ou sanglante doit être privilégiée, en cas de présence.

Un écouvillonnage rectal peut se révéler utile notamment chez le nourrisson et le petit enfant et en particulier dans le cadre d'un SHU lors d'un arrêt du transit intestinal après la phase diarrhéique.

Les biopsies de muqueuses rectale ou colique (si réalisée dans un contexte diarrhéique) sont analysées comme des matières fécales. Chez des patients non immunodéprimés, il n'y a pas de supériorité à rechercher les bactéries entéro-pathogènes à partir de biopsies par rapport au prélèvement standard.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Le prélèvement doit être acheminé rapidement au laboratoire avec les renseignements cliniques. En cas de prise en charge techniques, les selles séro-sanglantes et liquides sont conservées à +4°C etensemencées dans les 12h au maximum.

Les prélèvements sont conservés 3 jours au laboratoire après ensemencement.

### REMARQUES

1 seul recueil suffit. Les selles moulées (solides) ne sont pas mises en culture sauf si recherche de portage spécifique selon le contexte clinique à préciser. En bactériologie, la prescription d'une coproculture doit être envisagée après avoir éliminé une cause non infectieuse de diarrhée grâce à l'examen clinique et l'interrogatoire. Il est important de noter que seuls des renseignements cliniques pertinents communiqués au laboratoire permettent d'orienter la recherche vers des agents pathogènes particuliers : veuillez préciser tout voyage récent en pays tropical, toute prise d'antibiotiques en cours ou récemment, un syndrome cholériforme, diarrhée sanglante, syndrome hémolytique et urémique (SHU), syndrome pseudo-appendiculaire, toxi-infection alimentaire (TIAC), cas groupés de gastro-entérites, cas groupés de gastro-entérites nosocomiales...

En cas de recherche de Clostridium difficile toxigène associée à la coproculture, les écouvillons ou les spatules en bois sont des inhibiteurs d'amplification moléculaire et sont donc à proscrire.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 4 jours.

\*Société Française de Microbiologie.

Gastro-entérites. REMIC : Société Française de Microbiologie.





## RECHERCHE DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXINOGENE

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 150 ml à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

La prescription d'une seule coproculture est en général suffisante. Les selles sont recueillies dès leur émission. Une aliquote de la selle, du volume d'une noix, est prélevée à l'aide d'un flacon cuillère puis transférée dans un conteneur hermétique propre à usage unique. La partie muco-purulente ou sanglante doit être privilégiée, en cas de présence.

Les écouvillons ou les spatules en bois sont des inhibiteurs d'amplification moléculaire et sont donc à proscrire.

Les biopsies de muqueuses rectale ou colique (si réalisée dans un contexte diarrhéique) sont analysées comme des matières fécales. Chez des patients non immunodéprimés, il n'y a pas de supériorité à rechercher les bactéries entéropathogènes à partir de biopsies par rapport au prélèvement standard.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Le prélèvement doit être acheminé rapidement au laboratoire avec la fiche de renseignements cliniques.

### REMARQUES

Veillez préciser soigneusement l'antibiothérapie (antibiotiques, posologie et durée de traitement). Un seul recueil suffit. Les selles moulées (solides) ne sont pas réalisées.

La recherche des Clostridium difficile s'effectue à partir des selles. En cas de présence de Clostridium difficile, les toxines sont recherchées par une technique de biologie moléculaire. Les écouvillons ou les spatules en bois sont des inhibiteurs d'amplification moléculaire et sont donc à proscrire.

En cas de présence de Clostridium difficile toxigène : le service est prévenu afin de mettre en place des conditions d'isolement. L'isolement est levé 48 heures après la fin des signes cliniques sans contrôle.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 1 jour.

\*Société Française de Microbiologie.

Gastro-entérites. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## RECHERCHE D'ADENOVIRUS ET ROTAVIRUS

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile de 150 ml à bouchon vissant avec spatule ou 1 poudrier stérile de 50 ml à bouchon vissant.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Les selles sont recueillies dès leur émission. Une aliquote de la selle, du volume d'une noix, est prélevée à l'aide d'une spatule ou d'un flacon cuillère puis transférée dans un conteneur hermétique propre à usage unique. La partie mucopurulente ou sanglante doit être privilégiée, en cas de présence.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Le prélèvement doit être acheminé rapidement au laboratoire avec la fiche de renseignements cliniques. Ce prélèvement peut éventuellement être conservé à +4°C pendant 24 à 48h.

### REMARQUES

1 seul recueil suffit.

### DELAI DE RENDU

Dans la journée.

\*Société Française de Microbiologie.

Gastro-entérites. REMIC : Société Française de Microbiologie.



## PRELEVEMENTS DE DEPISTAGE-PORTAGE-RECHERCHE DE BACTERIES MULTIRESISTANTES

BMR : Bactérie Multi-Résistante

SARM/SAMR : Staphylococcus aureus Résistant à la Méthicilline/Staphylococcus aureus Méthicilline Résistant

EB-BLSE : Entérobactérie productrice de Béta-Lactamase à Spectre Etendu

ERC3G : Entérobactéries résistantes aux Céphalosporines de 3ème Génération

PARC : Pseudomonas aeruginosa Résistant Ceftazidime

ABMR : Acinetobacter baumannii MultiRésistant aux  $\beta$ -lactamines

GISA : Glycopeptides Intermediate Staphylococcus aureus

ERV(G) : E. faecium Résistant Vancomycine (Glycopeptides)

EPC : Entérobactérie Productrice de Carbapénémase

BHRe : Bactérie Hautement Résistantes aux antibiotiques Emergentes (EPC et E. faecium résistant au Glycopeptides)

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

1 poudrier stérile à bouchon vissant ou 1 écouvillon (culturette/swab).

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT\*

Qui prélever ?

\*Les patients hospitalisés dans les services à risque élevé de transmission croisée et dans lequel les BMR évoluent de façon endémo-épidémique. Cette situation, différente pour chaque type de BMR, dépend de l'écologie locale.

\*Les patients transférés de services, hôpitaux, régions, pays à forte incidence de BMR (EPC et ERV).

\*Les patients à haut risque d'infection (par exemple pour le SARM : dialysés chroniques, porteurs de cathéter central de longue durée, greffés hépatiques).

\*Pour les BHRe, les patients contacts de cas connus (définis par la prise en charge par la même équipe paramédicale que le cas index)

\*Certains patients devant bénéficier d'une chirurgie cardiaque ou orthopédique programmée à risque de portage de SARM (venant de réanimation, de structure de long et de moyen séjour) ou SASM.

\*Il est recommandé de dépister les BHRe à l'entrée pour tout patient rapatrié ou ayant été hospitalisé à l'étranger dans l'année qui précède, pour tout patient ayant des antécédents de portage de BHRe ou pour tout patient connu contact d'un patient BHRe. Il est possible de dépister les EPC chez des patients ayant séjourné à l'étranger sans hospitalisation en fonction de critères d'analyse de risque.

Quand prélever ?

\*La fréquence de prélèvement en cours d'hospitalisation est fonction de la durée moyenne de séjour et de la situation épidémiologique.

\*En cas de situation épidémique, la fréquence de dépistage s'effectuera selon un rythme défini avec un dépistage qui doit être poursuivi après transfert du patient dans un autre secteur d'hospitalisation ou dans un autre établissement. Lorsque le patient est contact d'un patient BHRe, il faudra prévenir l'EOH de l'établissement d'accueil pour organiser au moins trois dépistages hors exposition.

Il est recommandé de ne pas réaliser de dépistage systématique dans les secteurs à faible fréquence de BMR.



### Quels sites prélever ?

- \*Écouvillonnage nasal : recherche de SARM
- \*Écouvillonnage ano-rectal : recherche EB-BLSE, PARC, ABMR, BHRe
- \*Prélèvement de gorge ou aspiration trachéale (si dispositif intra-trachéal) : recherche de PARC, ABMR

### Comment prélever ?

Prélever avant toute toilette ou antisepsie, à l'aide d'écouvillons stériles.

\*Pour le prélèvement nasal, écouvillonner les fosses nasales (un seul écouvillon pour les deux côtés).

\*Pour le prélèvement ano-rectal, réaliser un écouvillonnage de la marge anale afin de récupérer sur l'écouvillon des matières fécales visibles à l'œil. Ce prélèvement peut être fait par le patient lui-même. L'infirmier vérifiera alors la présence de matières fécales sur l'écouvillon. Ce prélèvement peut aussi être remplacé par un prélèvement de selles. En l'absence de matières fécales visibles, le prélèvement devra être considéré comme non conforme et il conviendra de demander un nouveau prélèvement.

\*En cas de stomie, le prélèvement sera également fait à l'orifice de stomie.

\*Pour le prélèvement de gorge : l'émission du son « A » par le patient permet de diminuer le réflexe nauséeux. Il peut être utile d'abaisser la langue pour dégager le pharynx et éviter tout contact salivaire.

### CONSERVATION ET TRANSPORT\*

Transport au laboratoire sans délai à température ambiante.

Les prélèvements doivent être accompagnés de renseignements cliniques, du type de BMR recherché, du site prélevé ainsi que de l'heure de prélèvement.

### REMARQUES

Il est important de préciser sur le bon si le patient est connu pour être porteur d'une BMR ou s'il a été en contact avec un patient porteur de BHRe (E. faecium résistant aux Glycopeptides, EPC) et préciser quel type de BMR est recherché (la technique de recherche varie en fonction de la BMR recherchée).

Dans le cadre d'un dépistage organisé, les prélèvements de dépistage BHRe doivent arriver au laboratoire lundi, mardi ou mercredi avant 14h.

### DELAI DE RENDU

En moyenne 3 jours.

\*Société Française de Microbiologie.

Prélèvement de dépistage-portage – recherche de bactéries multirésistantes.

REMIC : Société Française de Microbiologie.



## PRELEVEMENTS DE DEPISTAGE COVID/GRIPPE/VRS en PCR

### RECUEIL DE L'ECHANTILLON

Écouvillons spécifiques fournis par le laboratoire selon les techniques utilisés :

- ECOUVILLON UNIVERSAL VIRUS TRANSPORT KIT 3 ML BD (bouchon rouge) pour la technique GeneXpert
- KIT VITAPCR BIOSYNEX (bouchon Orange) pour la technique VITA.

### CONDITIONS DE PRELEVEMENT

Les prélèvements à réaliser pour le diagnostic initial COVID-19 sont les suivants (Recommandations de la SFM V4 19/03/2020 et Avis SFM prélèvement oro-pharyngé 08-09-2020):

- Un prélèvement systématique des voies respiratoires hautes (nasopharyngé NP, oro-pharyngé OP, aspirations)
- Un prélèvement des voies respiratoires basses (crachats, liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA), aspiration trachéo-bronchique) en cas d'atteinte parenchymateuse.

### Prélèvement nasopharyngé (NP)

Le prélèvement NP (référence pour Covid) consiste à introduire l'écouvillon profondément dans la narine (jusqu'au nasopharynx : environ jusqu'à la moitié de la longueur du nez à l'oreille) et de récupérer autant de cellules que possible par rotation de l'écouvillon : Introduire délicatement l'écouvillon dans la narine parallèlement au plancher nasal jusqu'au nasopharynx. Gratter les parois nasales par rotation à l'aide de l'écouvillon.

Pour la technique GeneXpert :

Matériel : écouvillon avec milieu de conservation à demander au laboratoire (spécifiques : ne pas utiliser les écouvillons Cepheid pour la recherche de grippe-VRS, ni les écouvillons classiques de bactériologie)

#### Contre-indications (relatives):

- Maladie de Rendu-Osler-Weber
- Thrombopénie sévère ( $< 15. 10^9/L$ )
- Caustérisation et/ou chirurgie nasale récente

Consultez le médecin traitant en cas de doute

**ARRÊTEZ** pendant la procédure et essayez par l'autre narine si: résistance à l'insertion de l'écouvillon ou douleur chez le patient



**1** Penchez légèrement la tête en arrière et insérez l'écouvillon. Appuyez l'écouvillon légèrement sur la partie inférieure du nez.



**2** Appliquer l'écouvillon sur le nasopharynx. Cela correspond à environ la moitié de la distance entre le nez et l'oreille.



**3** Tournez l'écouvillon au moins 3 fois sur lui-même pour absorber suffisamment de matière.



**4** Retirez l'écouvillon de la cavité nasale.



**5** Cassez l'écouvillon dans le tube correspondant au niveau de la ligne rouge. Fermez le tube et ajoutez les données du patient sur le tube.



Source : Procédure de prélèvement d'un échantillon nasopharyngé pour le diagnostic de COVID-19 V. 05/03/2020. CNR Pathogènes respiratoires UZ Leuven

Introduire l'écouvillon dans le tube de milieu de transport. Casser la tige de l'écouvillon, bien refermer le tube et l'identifier avec l'étiquette du patient.



(source : Eswab, COPAN)

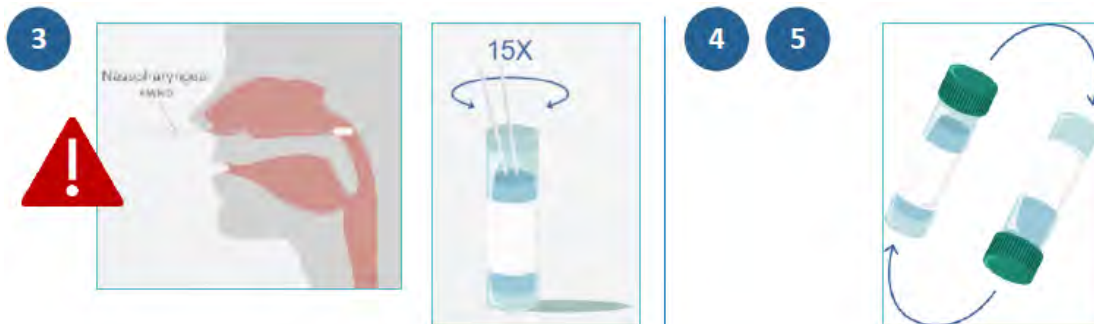
**Pour la technique VITA PCR :**

Matériel : kit disponible en sachet rouge avec étiquette, contenant 1 écouvillon et 1 flacon tampon à bouchon orange (sample collection buffer).

Prélever le patient de façon identique puis insérer l'écouvillon dans le flacon de tampon bouchon orange.

Tourner l'écouvillon contre les parois au moins 15x en appuyant sur les bords.

ELIMINER l'ECOUVILLON. Revisser et AGITER 10x

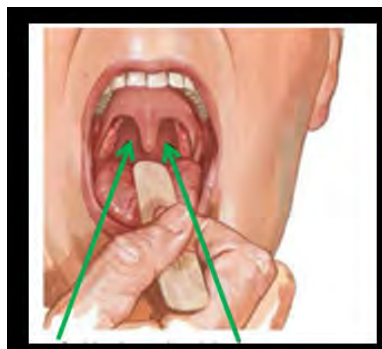


### Prélèvement oro-pharyngé (OP)

Le prélèvement OP peut remplacer le NP :

- lorsqu'il existe des contre-indications (patients avec traumatisme ou chirurgie nasaux récents, individus à risque d'épistaxis, en cas de thrombopénie sévère)

- Intérêt en pédiatrie :  
alternative chez l'enfant possible. Classiquement, d'aspiration supportées chez l'enfant Il est indispensable postérieur et les régions la langue.



peut être proposé comme >6 ans si le NP n'est pas le NP ou la réalisation nasopharyngée sont bien < 6 ans.

d'écouvillonner le pharynx amygdaliennes, en évitant





(Avis SFM 08-09-2020)

### Aspiration nasopharyngée (≠ lavage nasopharyngé).

Equipement nécessaire :

- Poche bleue en plastique souple à changer entre chaque patient et bocal rigide relié au vide mural :



à positionner dans



- Kit aspirateur de mucosité pédiatrique réf. 258100110120 de AMBU :  
Attention ! 2 sondes d'aspiration sont présentes dans le kit : CH10 et CH6 – la sonde CH10.

Utiliser la sonde d'aspiration CH10 (embout noire) déjà connectée au flacon pour un adulte (réserver la sonde d'aspiration CH6 pour les prélèvements chez les petits enfants)

- Introduire la sonde d'aspiration stérile dans une narine. Aspirer les mucosités, après branchement de la tubulure (embout vert) sur le vide mural de façon à récupérer quelques ml de mucosités dans le piège. Si les sécrétions sont insuffisantes, rincer la cavité nasale avec quelques ml de sérum physiologique.
- A la fin du prélèvement, dévisser le bouchon blanc associé à la sonde d'aspiration et la tubulure de branchement au vide, le jeter. Sur le tube, dévisser le bouchon jaune présent à l'autre extrémité et le visser sur l'orifice du tube pour le fermer. Bien visser le bouchon jaune sur le tube.
- Identifier le tube avec l'étiquette du patient.



Le kit aspirateur de mucosité pédiatrique est à demander à la pharmacie sur un bon de demande exceptionnelle.

### Prélèvement des voies respiratoires basses

1. Expectoration : crachat si contributif. En poudrier vissé
2. Liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA), aspiration trachéo-bronchique en cas d'atteinte parenchymateuse. Matériel adapté avec flacon de recueil vissé.

### CONSERVATION ET TRANSPORT



Les prélèvements doivent être transportés au laboratoire à température ambiante dans le milieu de transport approprié le plus rapidement possible idéalement 1h, 24h max à T° ambiante.

#### REMARQUES

Les automates réalisant les tests 1 par 1, merci de nous les faire parvenir au fur et à mesure.

#### DELAI DE RENDU

En moyenne 4h.