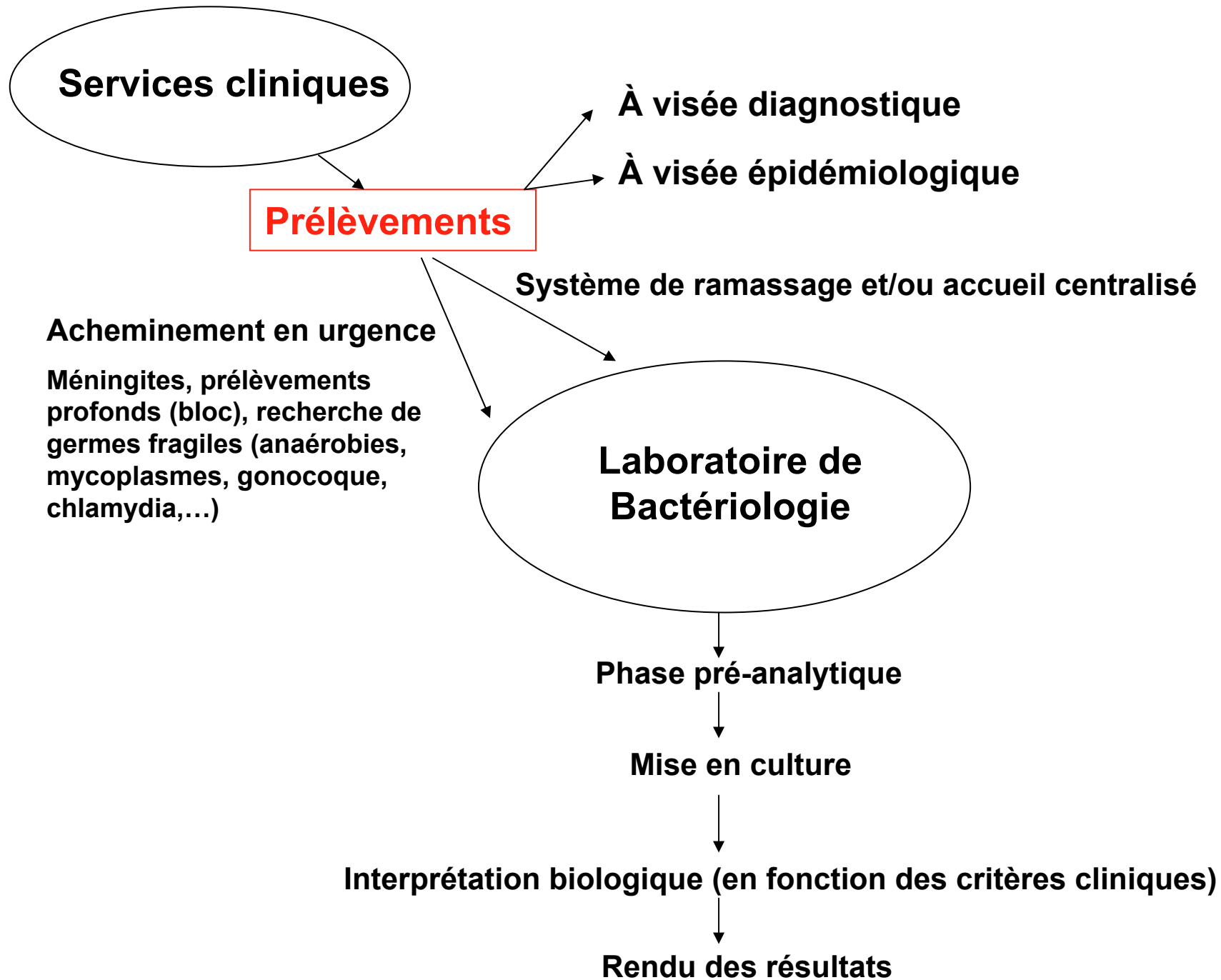


# Traitement des prélèvements en Bactériologie

**Marie-Cécile Ploy**

**Bactériologie-Virologie-Hygiène**

**CHU Dupuytren, Limoges**



# **Guide de bonne exécution des analyses**

## **GBEA**

**Arrêté de 1994**

**Les laboratoires doivent mettre en œuvre tous les moyens pour fournir des résultats de qualité et doivent pouvoir faire la preuve de la mise en œuvre de ces moyens**

✓ Organisation d'un laboratoire

personnel (organigramme)

circuit des prélèvements et des résultats

✓ Installation du matériel et locaux

✓ Maintenance et surveillance des appareils (températures des réfrigérateurs, congélateurs, étuves, calibration des automates,...)

✓ Réactifs (agréés, gestion des stocks, des dates de péremption des lots utilisés, conditions de stockage...)

✓ Informatique (confidentialité, sauvegarde des données, diffusion des résultats, ...)

✓ Archivage des résultats

✓ Gestion des déchets

## Analyses

- ✓ procédures pré-analytiques : conditions de prélèvement, d'acheminement au laboratoire
- ✓ conservation des échantillons
- ✓ exécution des analyses par des personnes habilitées (techniciens)
- ✓ validation des résultats par des personnes habilitées (biologistes)
- ✓ cas particulier des analyses médico-légales
- ✓ CQ externe et interne

**Contrôle National de Qualité  
Bactériologie - 05BAC1**

Opération clôturée le: 23/05/05

Référence à rappeler : 05BAC1 / 1715Z

CHU LIMOGES - HOPITAL DUPUYTREN  
LABORATOIRE DE BACTERIO-VIROLOGIE  
2 AVENUE MARTIN LUTHER KING  
87042 LIMOGES CEDEX

Identification bactérienne		Echantillon n° : 406	
Réponse du laboratoire :		Réponse attendue	
Bactérie commensale :		Enterococcus faecalis	
[GENF]	Enterococcus faecalis	Enterococcus faecalis	
Cet échantillon contenait un E. faecalis identifié par 39% des participants. Autres réponses : Enterococcus sp. (15,1%), streptocoque groupe D (28,8%), entérocoques autres espèces (1,2%).			
Recherche et identification de bactéries pathogènes :			
Salmonella groupe O:6,8 (C2)	Présence	Présence Salmonella Hadar	
Shigella sp.	Absence	Absence Shigella sp.	
Campylobacter sp.	Absence	Absence Campylobacter sp.	
Yersinia enterocolitica	Absence	Absence Yersinia enterocolitica	
99,7% des 926 participants ont signalé la présence d'une salmonelle. Détail des identifications : 64,4% Salmonella sp., 1,8% S. Hadar, 20,8% Salmonella groupe O:6 (C), 7,5% Salmonella groupe O:6,8 (C2), 1,5% Salmonella groupe O:6,7 (C1), 2% Salmonella OMB+, 2% autre sérotype ou séro groupe.			
Antibiogramme		Echantillon n° : 406	
Antibiogramme (maximum 6 antibiotiques testés) à réaliser sur la bactérie entéro-pathogène isolée.			
Réponse du laboratoire		Réponse attendue	
Souche pathogène testée : Salmonella groupe O:6,8 (C2)		Souche pathogène testée : Salmonella Hadar	
	Lu Transmis	ANTIBIOTIQUES Lu Transmis	
AMPICILLINE	R R	Amoxicilline	R R
AMOXICILLINE + ac.clavu.	I I	Amoxicilline + acide clavulanique	R R
CEFOTAXIME	S S	Cefalotine	R R
Ac.NALIDIXIQUE	R R	Ceftriaxone	S S
CIPROFLOXACINE	S S	Cefixime	S S
COTRIMOXAZOLE	S S	Cefotaxime	S S
		Gentamicine	S S
		Tobramycine	S S
		Tétracycline	R R
		Cotrimoxazole	S S
		Triméthoprime	S S
		Sulfamides	S S
		Acide nalidixique	R R
		Ofloxacin	S S
		Ciprofloxacine	S S
		Chloramphénicol	S S
		Nitrofuranes	S S
		Pénicilline haut niveau	
[RG10] Système VITEK 2 bioMérieux			

# HEMOCULTURES

**Sang normalement stérile**

**Inoculum bactérien faible (< 1UFC/ml) : examen direct à la réception des flacons inutile (cas particulier des fièvres à *Borrelia*)**

**Bactériémie transitoire (sauf en cas d'endocardite, bactériémie continue)**

**Corrélation sensibilité et volume de sang recueilli**

**Généralement 2 à 3 séries d'hémocultures 24h (espace de 30 à 60 minutes)**

**Coût : B85 si négatif + B60 si culture positive + antibiogramme**

**Durée d'analyse : 5j en moyenne**

**incubation prolongée en cas d'endocardite (HACEK), de brucellose**

## HEMOCULTURES



**Ensemencement direct dans le service (précautions d'asepsie)**

**Flacons aérobies et anaérobies contenant un milieu de culture adapté à toutes les bactéries**

**Nécessité de dilution du sang : dilution de substances à activité antibactérienne (complément, macrophages, antibiotiques, ...)**

**Les flacons contiennent du SPS : anticoagulant**

**Culture possible de toutes les bactéries sauf mycobactéries (milieux spéciaux)**

**Incubation au laboratoire dans des automates à 35°C sous agitation**

**Analyse en continu (lecture tous les 1/4 d'heure)**

**Possibilité d'analyser le temps de positivité (infections sur cathéter)**



# ECBU



**Urines normalement stériles**

**Contamination facile par des bactéries de la flore commensale**

**Acheminement rapide au laboratoire**

**Coût : B70 : comprend l'analyse cytologique, la mise en culture, l'identification et l'antibiogramme**

**Possible screening par utilisation de bandelettes (leucocytes, nitrites)**

**VPN > 90%**

**Nécessité de connaître le contexte clinique**

**ID, ponction sus-pubienne, pathologie rénale ou urologique, femme enceinte, diabétique, patient sondé, ...**

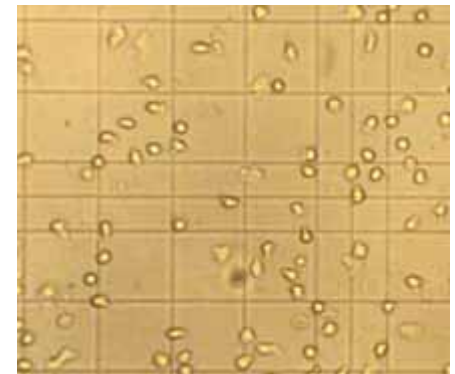
**Analyse cytologique : leucocytes et hématies /ml, cristaux, cellules pavimenteuses**

**Analyse bactériologique : ensemencement d'1 seul milieu**

**de culture +/- milieu enrichi**

**Culture quantitative : seuil de significativité :  $10^3$  UFC/ml**

**Résultat rendu en 48h**



## Coproculture

Naturellement contaminée :  $10^{12}$  bactéries / g de selles

Acheminement rapide au laboratoire (sinon +4°C une nuit max)

Parfois écouvillonnage rectal (nnés, recherche de BMR)

Possible recueil sur papier filtre

Recherches ciblées

*Salmonella, Shigella, Campylobacter, Yersinia*

*Klebsiella oxytoca*

Recherches particulières

*S. aureus, Clostridium difficile*, Bactéries multi-résistantes (bacilles, entérocoques), *E. coli* 0157H7, *E. coli* entéropathogènes chez l'enfant, *Vibrio cholerae*, ...

Nécessité du contexte clinique, des aliments en cause si TIAC

## **Coproculture**

**Coût : B180 : comprend la mise en culture, l'identification et antibiogramme**

**B80 pour recherche de *C. difficile***

**B60 Recherche de la toxine pour *C. difficile***

**Examen direct possible (présence de leucocytes)**

**Milieux sélectifs et milieux d'enrichissement**

**Délai de rendu des résultats : 72h au minimum, 5j pour *C. difficile***

# Liquide céphalo-rachidien

Analyse en **urgence** : pronostic vital en jeu, pas de délai pour le traitement et/ou la prophylaxie, germes fragiles

Acheminement immédiat au laboratoire

Analyse macroscopique : liquide « eau de roche », trouble, hémorragique,...

Cytologie éléments et hématies / mm<sup>3</sup>

Coloration May-Grünwald-Giemsa après cyto centrifugation : formule leucocytaire

Coloration de Gram après cyto centrifugation

Milieux de culture enrichis

Antigènes solubles

pneumocoque

méningocoques (A, B, C)

*Haemophilus influenzae*

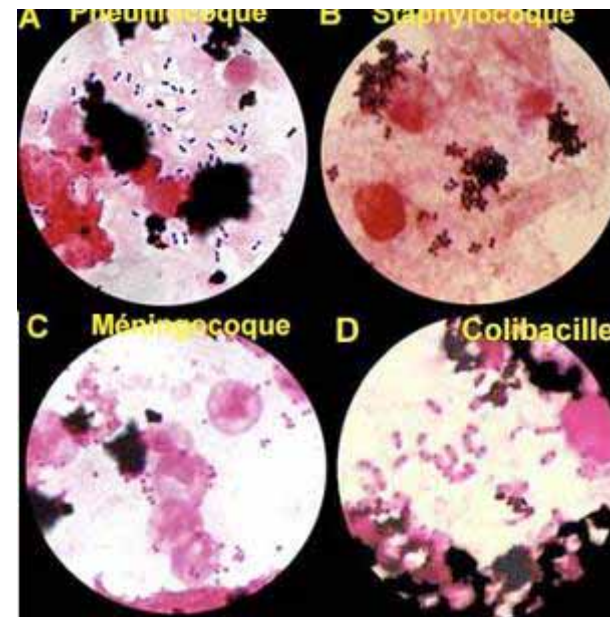
*E. coli* K1 (nné)

Coût : B200

cytologie, ED, culture, identification, antibiogramme

+ B60 antigènes solubles

Délai de rendu des résultats : au moins 72h



## **Prélèvements sur écouvillon**

**Nature des prélèvements variée**

**Acheminement au laboratoire : 2 h maximum**

**Gorge, nez, prélèvements périphériques nnés, prélèvements génitaux, prélèvements ophtalmologiques,...**

**Prélèvements cutanés**

**si possible préférer le recueil de suppurations (seringue)**

**difficulté d'interprétation microbiologique (contamination flore cutanée), pertinence des prélèvements d'escarre?**

**nécessité absolue du site de prélèvement et de renseignements cliniques**

**Prélèvements au bloc opératoire : préférer des biopsies ou liquides ou pièces opératoires**

**Très mauvais mode de prélèvements pour la recherche d'anaérobies ou de germes fragiles**

**B110 à B200 selon la localisation**

## **Prélèvements broncho-pulmonaires**

**Expectorations, aspirations bronchiques, lavage broncho-alvéolaire, brosse**

**Acheminement au laboratoire : 1h max**

**Analyse cytologique quantitative sur expectorations (nombre de cellules et de polynucléaires par champ)**

**Prélèvements pouvant être contaminés par la flore oropharyngée**

**Coloration de Gram**

**Expectorationsensemencées que si <10 cellules/champ et > 25 polynucléaires/champ**

**Ensemencement sur milieux riches et milieux sélectifs**

**Culture quantitative : par exemple 10<sup>6</sup> UFC/ml**

**Recherches particulières : *Legionella*, mycobactéries, ...**

**Coût : B200**

**analyse cyto-bactériologie, identification et antibiogramme**

**Rendu des résultats : 48 à 72h, 10j pour les légionelles**

## Antigènes urinaires

Recherche d'antigènes solubles de pneumocoque ou de légionelles (*L. pneumophila* sérogroupe 1)



Délai de rendu des résultats : 20 min



25 euros / patient/test

# Mycobactéries

## Prélèvements

expectorations de qualité

tubages gastriques 3j de suite

urines 3 j de suite

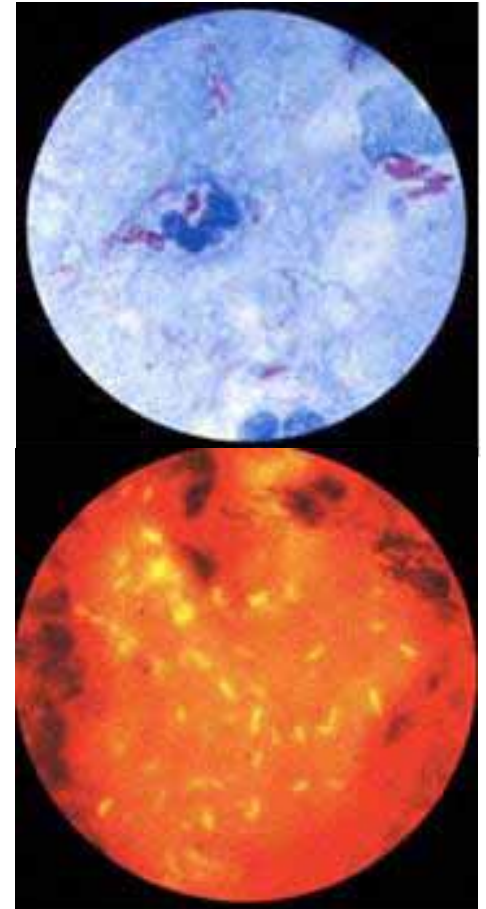
biopsies, liquides de ponction, ...

## Décontamination

Examen direct : auramine et Ziehl (BAAR)

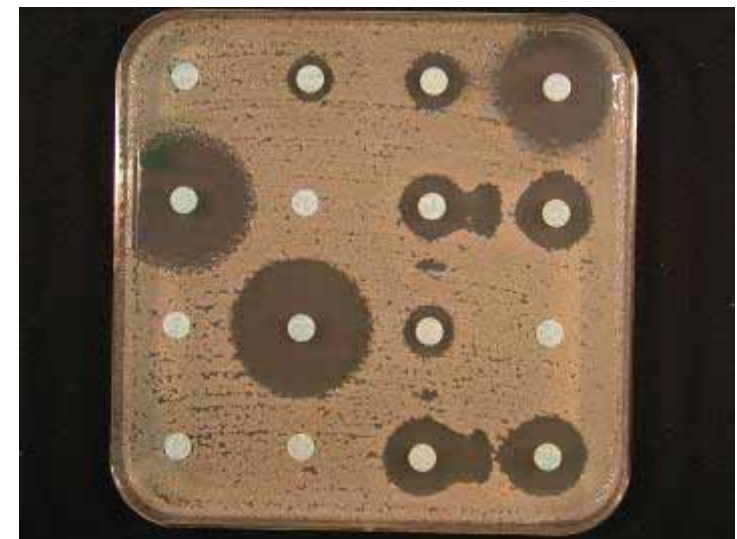
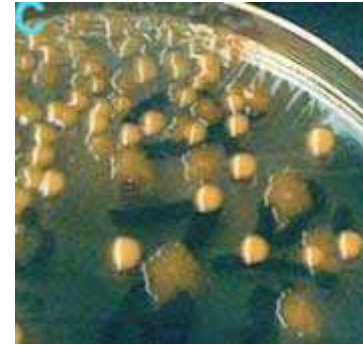
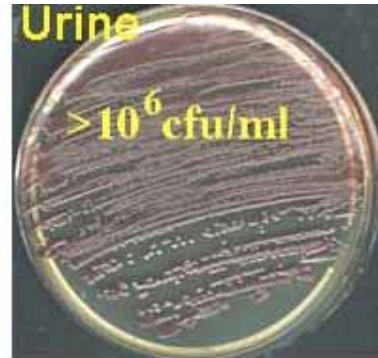
Culture en milieu solide et en milieu liquide (raccourcit les délais de culture)

Antibiogramme en 8-10 j





# Et quand ça pousse ...



## **Délais ?**

**Quand la culture est positive**

**identification : 24h**

**antibiogramme : 24h**

**Délai de rendu des résultats :**

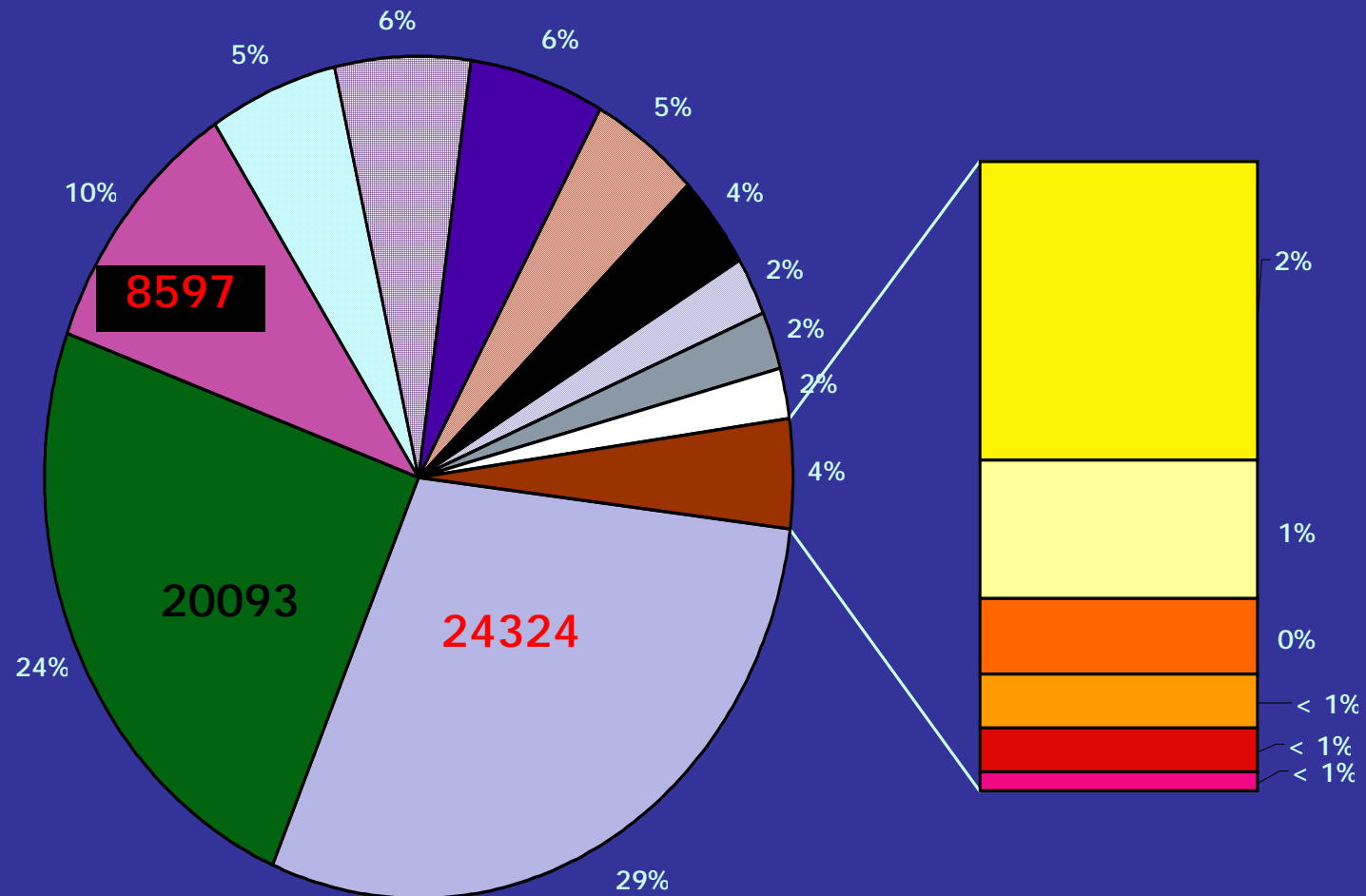
**48h au minimum si négatif**

**5 - 10 j anaérobies, biopsies osseuses, légionelles**

**5j hémocultures, voire 3 semaines**

**jusqu'à 8 semaines pour les mycobactéries**

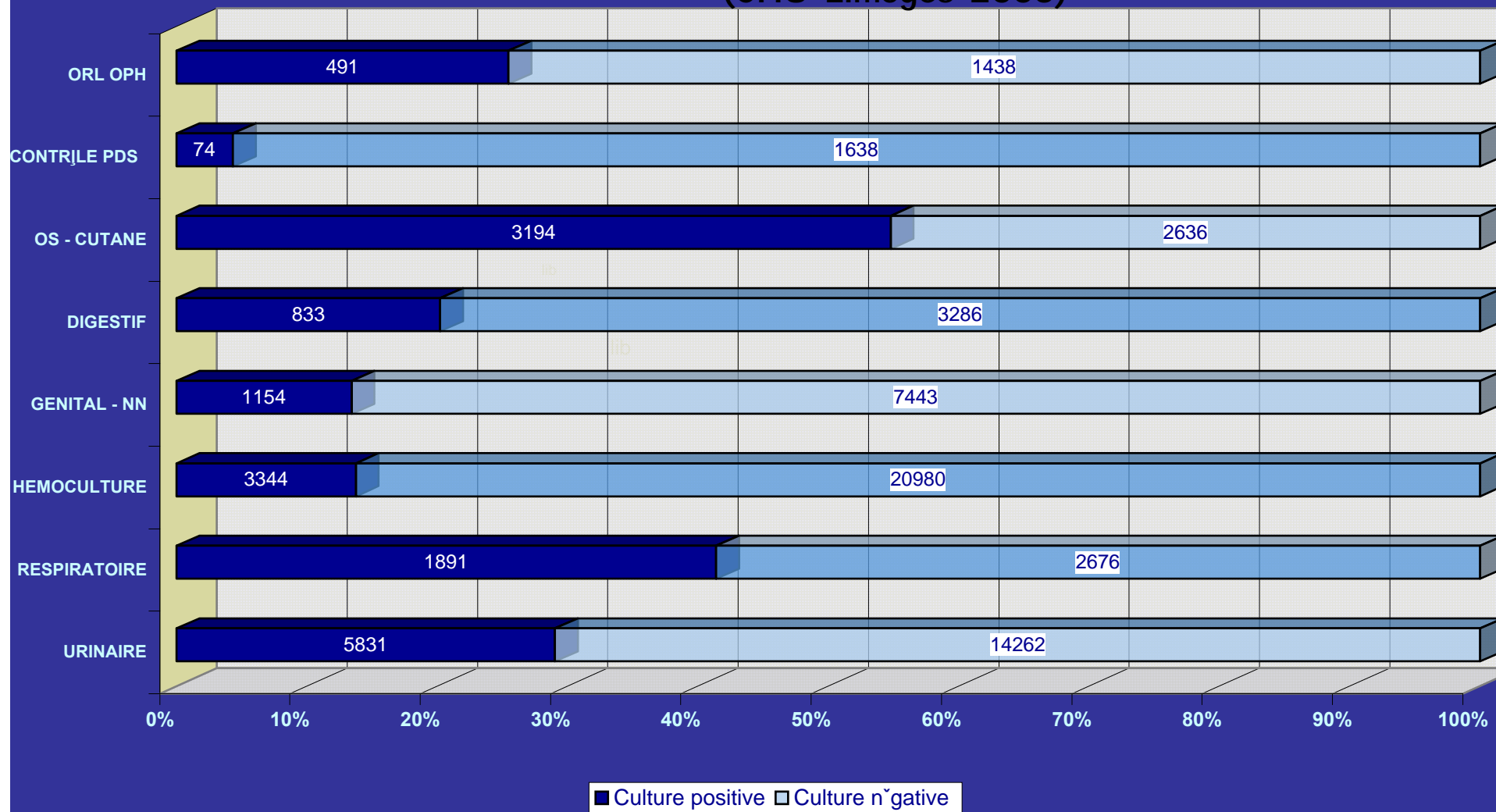
# Répartition par types des prélèvements (CHU Limoges)



- HÉMOCULTURE
- GENITAL - NOUVEAU NE
- PEAU - TISSU MOU
- DIGESTIF
- MYCOBACTERIES
- PDT SANGUINS - BOUE DE TISSUS - CONTROLE
- OS - ARTICULATION
- CARDIO-VASCULAIRE
- DIVERS
- URINAIRE
- RESPIRATOIRE
- SEROLOGIE
- MATERIEL
- ORL - STOMATOLOGIE
- SYSTEME NERVEUX
- MEDECINE DU TRAVAIL
- OPHTALMOLOGIE

**82990 prélèvements**

## Pourcentage de cultures positives en fonction du type de prélèvement (CHU Limoges 2005)



*75942 prélèvements*

# Importance de la collaboration entre le laboratoire et les services cliniques

