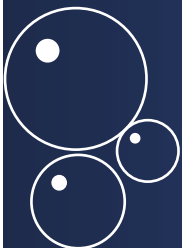


Les prélèvements bactériologiques : les problèmes...et les solutions

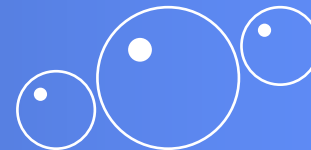


Dr O. Bellon

C.H.P.A Aix en Provence

Montpellier



juin 2010





Les enjeux du diagnostic bactériologique : Pourquoi prélever?



- **Pour faire un diagnostic?**
 - **Pour aider à faire un diagnostic?**
 - **Pour éliminer un diagnostic?**
 - **Pour faire des statistiques?**
 - **Pour faire du B... et faire plaisir à son biologiste?**
 - **Pour trouver des germes?**
 - **Pour aider à la mise en place d'une thérapeutique efficace?**
- 
- 




Pourquoi prélever?

- **Pour faire un diagnostic :**
 - **Indispensable dans certains cas :**
 - diagnostic de bactériémie
 - Diagnostic de certitude d'une légionellose
 - **Nécessité de réaliser le prélèvement**
 - Au bon moment
 - Dans de bonnes conditions
 - Connaître
 - Appliquer
 - **Nécessité de transmettre le prélèvement**
 - Correctement
 - Dans les temps
 - **La demande et le prélèvement**



Pourquoi prélever?

- **Pour faire un diagnostic :**
 - **Au bon moment :**
 - **Diagnostic direct :**
 - Lorsque le micro-organismes est présent : ex coqueluche
 - À l'endroit où le micro-organisme se trouve : ex ostéite
 - Lorsqu'il est encore vivant (pour les cultures) : antibiothérapie
 - En précisant quel micro-organisme chercher en fonction de la clinique pour mettre en place les milieux et techniques appropriées : ex légionelles. On ne trouve que ce que l'on cherche
 - **Diagnostic indirect :**
 - Lorsque les anticorps sont présents : ex légionellose
 - Deux sérums pour faire le diagnostic
 - Séroconversion
 - Augmentation significative du taux
- 



Pourquoi prélever?

- **Pour faire un diagnostic :**
 - Dans de **bonnes conditions**
 - **Qualité du prélèvement**
 - Bonne **prescription**
 - Prescription comprise
 - Bonne réalisation
 - Acte
 - support
 - Bon transport
 - Bonne technique au laboratoire

Prescription

- **Pharynx**

- Recherche d'un **germe désigné**
 - **diagnostic**
 - Recherche de strepto A
 - Recherche de VRS
 - Recherche de syphilis
 - Recherche de coqueluche
 - **portage**
 - Recherche de staphylocoque
 - Recherche de staphylocoque metiR
- Recherches de germes responsables **d'une pathologie** : angine
- Recherche **épidémiologique** et carte
 - Hématologie
 - Réanimation
- **Attention tous les écouvillons ne sont pas utilisables pour toutes es techniques**+++++



Pourquoi prélever?

– **Pour mettre en place un bon traitement pour le patient :**


- Actif sur la souche responsable de l'infection
- Préalable : **isoler la souche responsable de l'infection**
 - Pas d'antibiotiques préalables
 - Sinon le noter pour le biologiste
 - Limiter les contaminations
 - Peau
 - Urines
 - Etc
- **Utilisation de la souche :**
 - Antibiogramme
 - Typage
 - Statistiques d'épidémiologie

Pourquoi prélever?

- **Pour mettre en place un bon traitement pour les autres patients :**
 - Utilisation des résultats pour faire de **l'épidémiologie**
 - **Locale :**
 - Structure
 - Service
 - **Nationale : réseaux**
 - ONERBA
 - REUSSIR
 - AZAY
 - **Internationale :**
 - EARS
 - Mise en place d'un traitement en fonction des résultats attendus
 - CBU et *S. saprophyticus*




Pourquoi prélever?

- Le bon diagnostic permet de mettre en place le bon traitement :
 - **Pneumopathie franche lobaire aigue**
 - Pneumocoque ou légionelle?
 - **Suspicion d'infection enfant**
 - Mauvais prélèvement : traitement d'une infection urinaire....pour une infection autre
 - **Suspicion d'infection ostéo-articulaire :**
 - Pus superficiel de fistule : SAUR.....ostéite à *Citrobacter*.....
- 




Les prélèvements précieux

- **Invasifs :**
 - biopsies
 - **Ceux qu'on ne peut refaire :**
 - Cathéter
 - Site implantable
 - Prélèvements per-opératoire
 - **Ceux qu'on peut refaire mais qui n'auront plus la même signification**
 - Foyer septique nettoyé
 - Mise sous antibiotique préalable
 - Délai dépassé de positivité
- 



Ponction lombaire

- **Liquide céphalorachidien**
 - **Diagnostic d'affections diverses : prescriptions exactes ++++**
 - Infectieuses : méningite, d'encéphalite.....
 - Non infectieuses
 - **Volume nécessaire ++++**
 - Souvent insuffisant
 - Demander de garder du liquide pour analyses complémentaires ++++
 - **Renseignements cliniques ++++**
 - Herpes, cryptocoques
- 




Pvt ostéo-articulaires

- **Prélèvements**
 - par infirmiers
 - Par un médecin
- **Actes infirmiers.....**
 - Préparation
 - Explications
 - Transport



Os


- **Prélèvements per-opératoires**
 - Les prélèvements doivent être **multiples** =
 - **plusieurs pots**
 - **Une lame de scalpel par prélèvement...**
 - **dédoublés pour les examens**
 - anatomo-pathologiques
 - et bactériologiques,
 - transportés dans des flacons **stériles** hermétiquement clos.
 - placé dans un **milieu de transport** pour anaérobies,
 - liquide (milieu TGV®)
 - ou solide (Portagerm®, Culturette anaérobies®).
 - Les **écouvillons standard sont impropres** à la culture et ne sont utilisés que pour préparer extemporanément des frottis.
 - **En cas d'abcès** : prélever à la **SERINGUE**
- 

Matériel

- **Ciment**
- **Vis**
- **plaques**
- **Mis dans un pot stérile à la taille du matériel**
- **Pot fermé.....**
- **Apport rapide**
- **Un pot par matériel.....**




Fistule

- La majorité des auteurs s'accorde à **réfuser ce type de prélèvement** pour le diagnostic bactériologique d'infection de l'os profond
 - mauvaise corrélation existant entre les germes retrouvés au niveau de la fistule et ceux retrouvés dans les prélèvements profonds obtenus par ponction ou en per-opératoire.
 - Une exception est admise : les infections à *S. aureus*, à condition que la **même souche** soit retrouvée lors de **prélèvements itératifs**.
- 



Drain et liquide de drainage





- La culture de **l'extrémité proximale** d'un drain
 - retiré aseptiquement
 - Nettoyage et désinfection cutanée
 - semi-quantitative.
 - Les souches ne seront étudiées qu'en cas de nombreuses colonies identiques.
 - La mise en culture du **liquide de Redon n'est pas souhaitable.**
- 

Ponction articulaire

- Conditions rigoureuses d'asepsie-antiseptie,
 - soit par le chirurgien au bloc opératoire par ponction pré ou peropératoire,
 - soit par le radiologue qui pourra compléter le geste par une arthrographie sous contrôle télévisé.
 - soit au cabinet médical
- La **désinfection cutanée++++**
- L'anesthésie locale est possible a condition de **ne pas injecter de produit en intra-articulaire.**




Ponction articulaire

- La ponction se fait
 - en peau non infectée,
 - à distance d'une fistule.
 - L'aiguille de ponction ou le trocart doivent être de **diamètre suffisant** pour permettre l'aspiration d'un liquide épais.
 - La seringue peut être préalablement rincée avec un anticoagulant stérile.
 - pas toujours fait
 - Une seule utilisation (contamination)
 - Si l'aspiration n'est pas productive,
 - du soluté physiologique stérile sans conservateur est injecté puis ré-aspiré.
 - L'indiquer sur l'ordonnance ou le bon ++++++
- 
- 
- 
- 



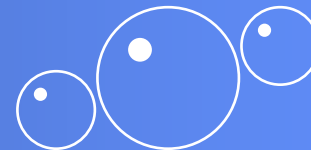
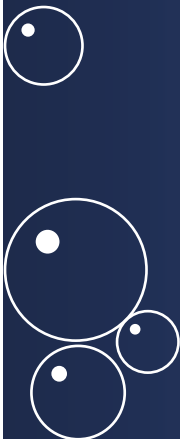
Ponction articulaire

- Le liquide articulaire est recueilli
 - dans **3 flacons stériles** pour
 - analyse cytologique,
 - chimique
 - et bactériologique.
 - Pour la **cytologie** :
 - Faire un flacon à bille agité durant 2 minutes chrono ++++
 - Ou un tube avec anticoagulant **SOLIDE (pas de dilution)** et **STERILE**.
 - **L'inoculation immédiate de flacons d'hémoculture sur place**
 - Permet d'attendre l'apport au laboratoire
 - Préserve les germes fragiles
 - Dilue l'antibiotique éventuel
 - **MAIS ne remplace pas l'envoi du liquide articulaire au laboratoire.**
- 



Pvt difficiles à réaliser

- **Hémocultures**
 - Contaminants
 - Quantité de sang prélevée
 - méthodologie



Mode de prélèvement


- Il est impératif de **limiter la contamination**
 - microbienne du prélèvement de sang
 - du préleveur au sang (VHC, VIH).
- Les **principales étapes** :
 - désinfection de l'**opercule** des flacons
 - désinfection du **point de ponction**
 - avec un **produit adapté** ;
 - lavage ou **désinfection des mains** du préleveur ;
 - port de **gants** ;
 - ne plus palper la veine après cette étape ;
 - prélever le sang
 - **identifier correctement** l'ensemble des flacons.

Mode de prélèvement

- La ponction veineuse est la seule méthode valable pour prélever le sang en vue de sa mise en culture.
- Les autres sites de prélèvement, notamment les recueils de sang à travers un cathéter, augmentent de façon significative la fréquence des contaminants.



Quantité de sang prélevé

- **La quantité de sang à prélever doit être suffisante.**
 - En effet, la **densité des bactéries** présentes dans le sang est généralement très faible chez l'adulte, de l'ordre de **1 UFC/ml** au cours des épisodes bactériémiques.
 - Il existe une relation directe entre le volume de sang inoculé dans les flacons d'hémoculture et le rendement de la technique.
 - Un volume de 20 ml de sang prélevé augmente le pourcentage de positivité ++++
- 







Poids des hémocultures

- **Flacons aérobie :**

- Sur 63 flacons pesés :

- **21 corrects (33%)**

- 5 au moins 10 ml

- 16 ente 5 et 10 ml

- **42 incorrects**

- 22 moins de 2 ml.....dont 68% moins de 1ml

- **Flacons anaérobie :**

- Sur 64 flacons pesés :

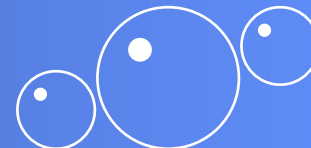
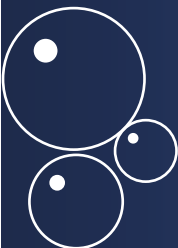
- **16 corrects (25%)**

- 3 au moins 10 ml

- 13 ente 5 et 10 ml

- **48 incorrects**

- 25 moins de 2 ml.....dont 50% moins de 1ml



Résultats comparatifs CHPA/Pôle médecine

	Mauvais < 5 ml	Incorrect De 5 à 10 ml	Correct de 10 à 20 ml	Idéal > 20 ml	Nombre de couples
CHPA	26%	26%	35%	13%	181
Pôle médecine et nephro	10,5%	32.8%	40%	15.7%	64

Résultats du pôle médecine meilleurs que CHPA mais à faire progresser...

audit hemocs semaines 30 et 31
2008


1

Cultures

- **Durée de la culture**
 - 5 jours dans la majorité des cas
 - 10 jours pour la culture de levures
 - 28 jours pour la recherche des bactéries du groupe HACEK responsable d'endocardite (*Haemophilus aphrophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella kingae*)
 - 42 jours pour la recherche de *Brucella*, *Legionella*.
- Préciser la demande sur le bon++++



Limites de la méthode :

- toutes les bactéries ne poussent pas dans ces milieux
 - *Legionella*,
 - Mycoplasmes,
 - *Leptospira*,
 - *Bartonella*,
 - mycobactéries.
- 



Pvt difficiles à faire et à interpréter

- **Expectorations**

- **Pluri microbiens**

- **Décontamination**

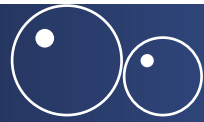
- 10^8 bactéries /ml de sécrétion pharyngée

- **Apport rapide**

- **Effort de toux**

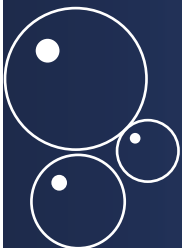
- **Pas salive**

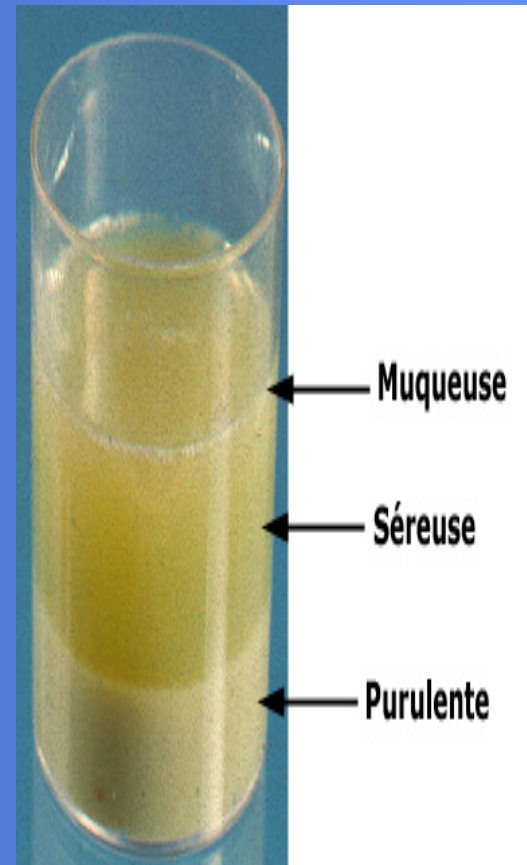
- **Bien dénommé car taux différents +++++**

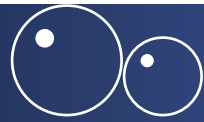


Prélèvements BP

- **Conditions générales :**
 - si possible le matin au réveil
 - après ablation des appareils dentaires ou brossage dentaire
 - au moins un bain de bouche avec de l'eau distillée stérile
 - avant toute antibiothérapie sinon le préciser sur le bon ++++
 - résultats très dépendants de l'opérateur ++++
 - transport rapide avec un bon bien rempli.







Prélèvements BP

- **Expectorations**

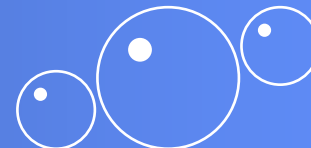
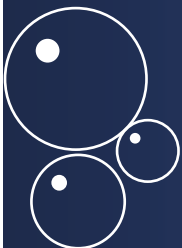
- **au niveau du laboratoire**

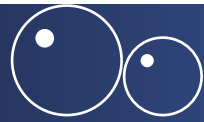
- **qualité jugée en fonction de l'examen direct avec quantification du nombre de leucocytes et de cellules :**

- **classe 1 : cellules >25 et GB <10**

- **classe 3 : cellules et GB >25**

- **classe 5 : cellules <10 et GB >25**

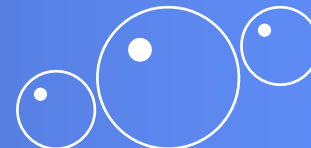
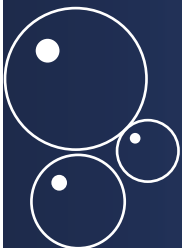


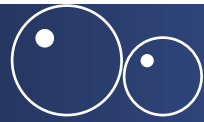


Prélèvements BP

- **LBA- FIBRO**

- état clinique ++++
- fibro-aspiration ou LBA
 - protocoles très différents
 - valeur très variable en fonction
 - du niveau prélevé
 - du volume prélevé
 - de la qualité du préleveur
 - seuil : 10 000/mL.





Prélèvements BP

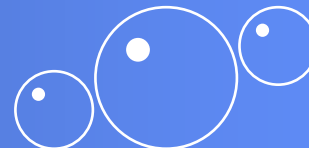
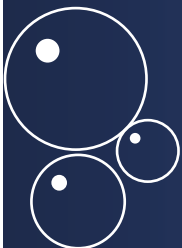
- **Brossage**

- aveugle ou protégé
- brosse mise au lit du patient dans 1ml de liquide (sérum Physio ou Ringer lactate stérile puis agitation
- apport immédiat au laboratoire
- seuil 1000/mL ou 100/mL si antibiotiques




- **Biopsies**

- In vivo ou post-mortem





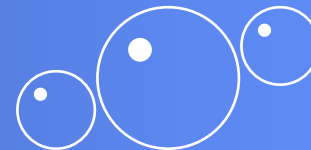
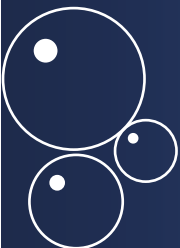
Prélèvements broncho-pulmonaires

- **Bactériologie dans le cadre d'infections non virales**
 - Examens **spécifiques** lors de certaines infections virales :
 - Grippe, SRAS
 - CMV, herpès
 - Examens **spécifiques** lors de certaines infections parasitaires :
 - pneumocystis
 - infections fongiques
- 




Prélèvements broncho-pulmonaires

- Examens **spécifiques** lors de certaines infections bactériennes dues à :
 - mycoplasmes
 - chlamydiae
 - légionelles
 - bordetella
 - mycobactéries.





Bonnes pratiques de prélèvement

- **Cathéter**
 - **apport rapide dans le laboratoire**
 - moins de 2 heures
 - dessiccation facile
 - multiplication dans le sang
 - coagulation dans le cathéter
 - **noter tous les éléments nécessaires au biologiste**
+++++
- 

cathéters



- **Multiplicité des « cathéters »**
- **Intra-vasculaires ou non**
- **Hétérogénéité des prélèvements malgré un même protocole**

Pvt inutiles....

- **Prescription....** Pas de prélèvement sans prescription.....formation des prescripteurs+++
 - Sonde urinaire
 - Recherche de germe porteur de BLSE sur escarres
 - Sécrétions dans pansement
 - Prélèvements mal faits...
 - Urine dans la poche....
 - Écouvillon sur escarres
 - Prélèvement déjà fait quelques heures ou minutes...avant
 - Prélèvements
 - non contributifs au vue de la clinique
 - non ciblés par la clinique
- **Coût élevé sans apport de bénéfice pour le patient (voir néfaste)**

Conservation des prélèvements

- **Idéal** : avoir un laboratoire polyvalent, sur place et ouvert jour et nuit.....
- **Dans la réalité** :
 - Certaines analyses peuvent se conserver d'autre non : fonction du matériel disponible :
 - Urines
 - Lames immergées
 - Borate
 - 4°C
 - Pus
 - Milieux de transport
 - Fragiles
 - anaérobies




• **la règle d'or. : délai le plus court possible entre le prélèvement et son ensemencement**

Conservation des prélèvements

- **Les prélèvements faits en garde à conserver**
 - Si le résultat ne change pas la thérapeutique
 - Si c'est bactériologiquement possible
- **les prélèvements à traiter immédiatement, en urgence**
 - Pour le diagnostic : ponction lombaire




Conclusion

- **Pour traiter nos patients correctement il faut :**
 - **Savoir ce que l'on cherche**
 - **Le demander clairement**
 - **Faire des prélèvements de qualité**
- 



Conclusions

- **Ne prélever que si c ' est nécessaire**
 - **respecter les conditions de prélèvement et de transport**
 - **L'analyse et interprétation en fonction de la clinique : donc la transmettre**
 - **étudier à mauvais escient peut entraîner des erreurs de diagnostic**
 - **un traitement antibiotique non nécessaire peut être dangereux pour le patient et/ou l 'environnement (population) : utilisés à tort ils deviendront moins fort**
- 

Conclusion

- **Travail d'équipe**
- **Savoir**
 - **Se tenir au courant des protocoles**
 - Du service
 - de la structure
 - Nationaux : le nouveau REMIC arrive
- **Appliquer**
- **Évaluer pour évoluer : EPP**
- **Prélèvement nécessaire, bien fait, bien transporté, bien analysé.....et bien utilisé**