



Prélèvements en infectiologie . Les préconisations Les erreurs à ne pas commettre C. Delamare





JNI 16^{es} Journées
Nationales
d'Infectiologie
Nancy et l'interrégion Est

du mercredi 10 au vendredi 12 juin 2015

Centre Prouvé
Grand Nancy Congrès & Événements



Déclaration d'intérêts de 2012 à 2015

- **Intérêts financiers : aucun**
- **Liens durables ou permanents : aucun**
- **Interventions ponctuelles : BMS**
- **Intérêts indirects : Aucun**





Déclaration de liens d'intérêt avec les industries de santé en rapport avec le thème de la présentation (loi du 04/03/2002) :

Intervenant : Catherine DELAMARE

Titre : Prélèvements en infectiologie : Les préconisations et les erreurs à ne pas commettre

L'orateur ne souhaite pas répondre



Consultant ou membre d'un conseil scientifique : Gilead



OUI



NON



Conférencier ou auteur/rédacteur rémunéré d'articles ou documents



OUI



NON



Prise en charge de frais de voyage, d'hébergement ou d'inscription à des congrès ou autres manifestations : Astellas, MSD, ViiV



OUI



NON



Investigateur principal d'une recherche ou d'une étude clinique



OUI



NON



Objectif du prélèvement

- Diagnostic

Mettre en évidence et identifier le micro-organisme : bactérie, virus, champignon, parasite

- Thérapeutique

Etudier sa sensibilité aux antibiotiques (antifongique, antiviraux)

_Prescription d'un traitement adapté

- Suivi

- Prévention des infections nosocomiales



Le prélèvement : 3 phases


- **Pré-analytique**
 - Prescription
 - Prélèvement d'un échantillon
 - Recueil des éléments cliniques, transport, conservation de l'échantillon jusqu'au laboratoire
- **Analytique**
 - Processus technique permettant d'obtenir le résultat
- **Post-analytique**
 - Validation par le biologiste
 - Interprétation contextuelle
 - Communication du résultat au prescripteur (téléphone, format papier, dossier patient informatisé)

Analyses microbiologiques : Difficultés rencontrées

Notion de temps de rendu du résultat

- **Diagnostic direct**
 - Examen direct au microscope
 - Culture et identification
 - Détection d'un antigène
 - Détection d'une séquence nucléotidique (PCR)
 - Détection d'une toxine
- **Diagnostic indirect**
 - Réaction immunitaire témoignant de la multiplication d'un agent pathogène
 - Anticorps (sérologie) : tous les jours
- **Temps**
 - < 30 mn
 - 18-72 h
 - Quelques minutes
 - 40 mn à 2 h
 - Quelques minutes

Autres difficultés

- Environnement non stérile et flores commensales physiologiques
 - Zones anatomiques non accessibles
 - Germes de culture difficile
 - Matériel de prélèvement inadapté
 - Antibiothérapie préalable
 - Recherche de la porte d'entrée
- 

Prescription médicale

- Exigences de la norme NF ISO 15189
- Soit une ordonnance médicale soit un document électronique dématérialisé (prescription connectée)
- Identification du prescripteur et du service
- Identification du patient (nom, prénom, sexe, date de naissance)
- Analyse microbiologique demandée
- Nature de l'échantillon, site anatomique
- But de l'analyse : diagnostic, portage, BMR
- Contexte clinique : voyage, immunodépression, traitement....
- Degré d'urgence

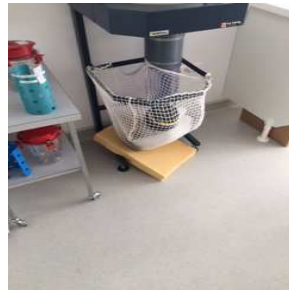
Réalisation du prélèvement

- **Manuel de prélèvement** mis a disposition des préleveurs (accréditation 15189)
- **Préleveur**
 - habilité
 - identifié
 - Respect des précautions standards et règles de soins et hygiène
- **Prélèvement**
 - Recueil des prélèvements dans des récipients stériles et étanches
 - Récipient transporté dans un sac plastique fermé hermétiquement
 - Triple emballage pour les agents hautement pathogène
 - Préciser la date et heure du prélèvement : prélèvement dès le début de l'infection
- **Quantité suffisante prélèvement**
 - Fonction du nombre des recherches demandées ex LCR
 - Ex hémocultures : 1/5 à 1/10 (vol/vol) 20 ml de sang augmente de 30% la positivité par rapport à 10 ml

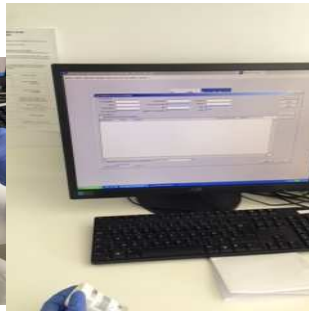


Exécution du prélèvement au laboratoire

Arrivée : J0



1- Arrivée



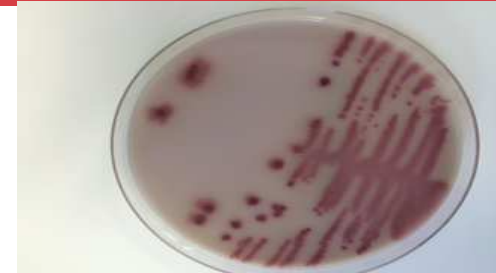
2- Enregistrement



3- examen direct et ensemencement

Exécution du prélèvement : J1

Culture



**Identification
Maldi-Tof**



antibiogramme



J2

Prélèvements au niveau des sites normalement stériles



Hémocultures : le prélèvement

- Eliminer les contaminants de l'air : environnement calme, porte de la chambre fermée
- Lavage et désinfection des mains du préleveur
- Port d'un masque chirurgical
- Port de gants non stériles
- Désinfection de l'opercule des flacons et du point de ponction
- Inoculer flacons aérobie et anaérobie
- Bien identifier les flacons et acheminement dès que possible

37° C pendant 5 jours y compris HACCEK



La sensibilité augmente avec le volume de sang

Chez l'adulte bactériémique : densité bactérienne très faible (50 % patients < 1 μ -organisme/ ml de sang)

Chez l'enfant à adapter en fonction du poids de l'enfant : Concentration bactérienne plus élevée que chez l'adulte mais diminue avec l'âge

Selon B.LAMY (2002)

1 seule paire de flacons prélevés :
la sensibilité est insuffisante

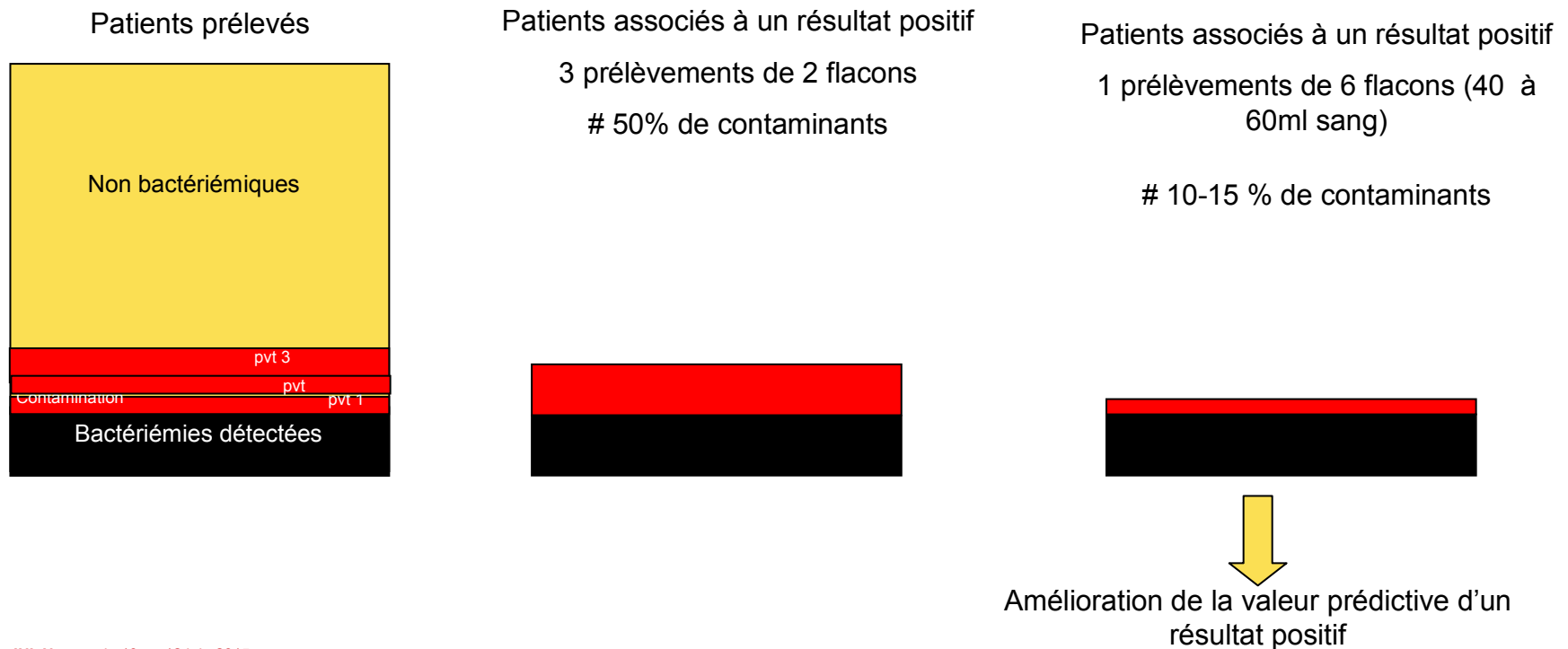
4 à 6 flacons correctement remplis
pour un volume optimum de 40-60 ml :
la sensibilité est optimale

Au dessus de 6 flacons :
la sensibilité n'est pas meilleure

Nb flacons	Bactériémies détectées (%)
2	75
4	81
6	89
8	90
12	92

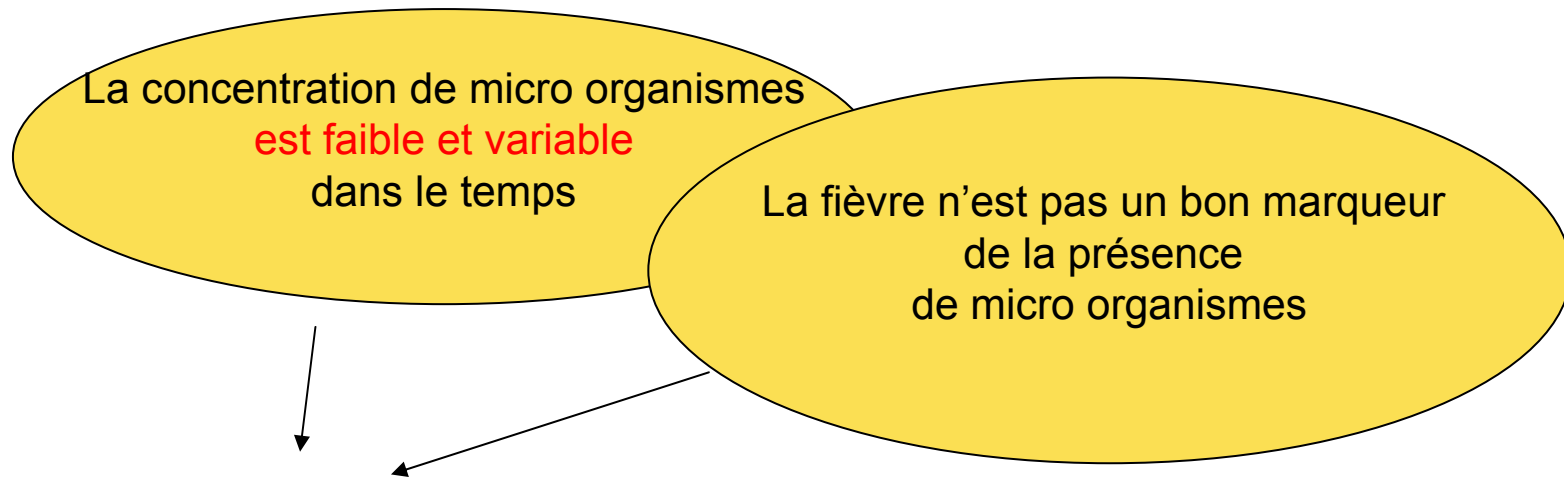
Pour une sensibilité \geq 95%

La répétition des prélèvements augmente le taux de contamination



Hémocultures : quand prélever?

Difficultés de détection d'une bactériémie



Le moment optimal est difficile à déterminer

**Seule recommandation en absence de données bibliographiques :
Prélever avant l'instauration de toute antibiothérapie**

Les erreurs à ne pas commettre

- Mal respecter la désinfection de l'opercule des flacons et du point de ponction
- Palper la veine après l'étape de désinfection
- Privilégier le prélèvement sur cathéter (souvent colonisé) plutôt que la ponction veineuse directe
- Prélever après l'instauration d'une antibiothérapie
- Mal remplir les flacons (50% des flacons sont mal remplis)

Bactériémie liée à un dispositif médical vasculaire (cathéter, chambre implantable)

- **Principe de diagnostic : isoler la même bactérie au même moment dans des échantillons prélevés par ponction veineuse et à partir du dispositif**
 - **Hémocultures qualitatives appariées avec différentiel de délai de positivité (périphérique / DM)**
 - Contrainte : les deux hémocultures doivent contenir le même volume de sang
 - Un seul flacon (aérobie)
 - Si hémoculture prélevée sur KT est positive plus de 2 h avant celle prélevée en périphérie : colonisation du KT responsable de l'état septique du patient

Diagnostic des infections du SNC



Renseignements cliniques

-Age

- Nouveau né : *S. agalactiae*, *E. coli* K1, *Listeria monocytogenes*
- Nourrissons et enfants (3 mois à 5ans) : *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*
- Enfant > 5 ans et adulte : *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*

-Terrain : immunodépression (recherche de levures)

-**Méningites nosocomiales** : *S. aureus*, Staphylocoques à coagulase négative, *Propionibacterium*, *S. pneumoniae*, Entérobactéries, *Pseudomonas*

-**Contexte clinique** : purpura, voyage, piqure de tiques

-**Eventuel traitement antibiotique antérieur** (risque de méningite bactérienne « décapitée »)

-**Chirurgie ORL ou neurochirurgie**

Prélèvement et transmission des échantillons

Echantillon

Liquide céphalo-rachidien

Prélèvement/Recueil

Acte médical

Ponction lombaire réalisée avec une asepsie rigoureuse

Quantité de LCR : 3 ml recueillis dans 3 tubes stériles

Tube 1 : 1 ml destiné à la cytologie et chimie

Tube 2 : 1 ml destiné à la bactériologie

Tube 3 : 0,5 ml destiné à d'autres examens : recherche virale, ou électrophorèses des protéines



Transmission

Sans délai (moins de 30 minutes à 20° C environ)

Les erreurs à ne pas commettre

- Ne pas numéroter les tubes
- Ne pas prioriser les analyses en cas de quantité insuffisante de prélèvement
- Ne pas adresser le prélèvement immédiatement : 50% des polynucléaires sont lysés après 2h à température ambiante
- Exposer le prélèvement au froid : fragilité de certaines bactéries (méningocoque)
- Ne pas prélever une hémoculture en cas de syndrome méningé fébrile
- Se contenter de l'examen directe (GRAM) dont la sensibilité n'est que de 60 à 80% et ne pas prescrire les PCR LCR méningocoque et pneumocoque (LCR purulent et prédominance PNN) + PCR sang (tube EDTA)
- Oublier les infections virales : PCR HSV et entérovirus (liquide clair avec prédominance lymphocytaire)

Liquides de ponctions : articulaire, synoviale, pleural, péricardique, Kyste, paracentèse)

Prélèvement/Recueil

Acte médical

- Prélèvement par ponction dans des conditions d'asepsie rigoureuse pour éviter une contamination par la flore commensale cutanéomuqueuse
- Seringue bouchée stérilement et hermétiquement (3 ml de liquide sans bulle d'air) ou milieu de transport spécial pour les bactéries anaérobies.
- Tube stérile normal pour les bactéries aérobies.
- Tube avec anticoagulant pour l'examen cytologique



Transmission

Transport rapide : < 30 minutes (pour protéger les anaérobies) à température ambiante (20° C)



16^{es} JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Les erreurs à ne pas commettre

Prélever avec des écouvillons :

- Augmentation du risque de contamination
- Mauvaise conservation des germes anaérobies
- Ne pas associer 2 hémocultures avant traitement



Autres prélèvements : urines et prélèvements respiratoires

BU : bandelette urinaire

- Dépistage rapide de bactériurie (activité nitrate réductase) et leucocyturie (activité leucocyte-estérase)
- Réaliser le test immédiatement après le prélèvement
- Relèvent du décret d'actes infirmiers (n'est pas sous la responsabilité du biologiste)
- Peut être utilisée :
 - Cystite aigue simple
 - Femme enceinte : dépistage bactériurie asymptomatique
 - Si BU - : stop
 - Si BU + : ECBU
- Sauf si haut risque d'infection urinaire

ECBU : examen cytobactériologique des urines

- Diagnostic de l'infection urinaire
- Analyse la plus fréquemment réalisée au laboratoire
- **Situations anatomo-cliniques influençant le mode de recueil, l'interprétation, la réalisation d'un ATBG :**
 - Miction du milieu du jet
 - Dispositif collecteur : poche chez le nourrisson, uretérostomie, cathéter sus-pubien à demeure
 - Urine sur sonde à demeure
 - Urine recueillie sur sondage (cathétérisme) extemporané
- **Recherches particulières**
 - Mycobactéries
 - Schistosomes (examen parasitologique sur les urines de 24h)
 - Urine du 1^{er} jet (chlamydia, gonocoque)



Flacon de recueil stérile sans conservateur



Tube borate

Préconisations pour le prélèvement ECBU miction de milieu de jet

- Si possible > 4 heures après la miction précédente (temps de stase suffisant dans la vessie)
- Se laver soigneusement les mains
- Faire une toilette intime à l'aide de compresses imbibées d'une solution antiseptique (type Dakin^R).
- N'ouvrir le flacon stérile qu'au dernier moment
- Eliminer le 1er jet d'urine dans les toilettes (20ml)
- Recueillir le milieu du jet dans le flacon sans toucher le bord supérieur
- Fermer hermétiquement le flacon et nettoyer l'extérieur
- Tout flacon ouvert n'est plus stérile, si le prélèvement n'a pu être réalisé, recommencer avec un nouveau
- Identifier le flacon

**Parce que c'est un
prélèvement facile,
naturel,
il doit être fait avec
beaucoup de soin**



JNI
16^{es} JNI, Na

**Adresser rapidement le flacon d'urine au laboratoire : délai < 2h à 15-25° C.
Si analyse différée, durée maximale de conservation : 24 heures à 2-8° C ou à température ambiante si tube borate**

Les erreurs à ne pas commettre

Ne pas préciser

- le mode de recueil
- Le terrain : âge, sexe, grossesse.....
- Les renseignements cliniques : atteinte neurologique, sondage extemporané, anomalie du tractus urinaire, intervention chirurgicale, fièvre, frisson , douleurs des fosses lombaires

Chez le patient sondé à demeure

- Prélever dans le sac collecteur (pullulation microbienne)
- Déconnecter la sonde du sac collecteur (rupture du caractère clos du système de drainage)

Chez le nourrisson et le jeune enfant de moins de 2 ans à l'aide d'un collecteur à usage unique (poche)

- Laisser le système en place plus de 30 mn

A éviter le sondage aller-retour chez le patient incontinent

- Chez la femme préférer le prélèvement après toilette génitale soigneuse
- Chez l'homme risque de prostatite – préférer le recueil par collecteur pubien voire cathétérisme sus-pubien

Utiliser la bandelette urinaire

- chez les patients sondés : absence de production de nitrate réductase dans les infections à Pseudomonas, candida, entérocoque, acinetobacter
- Vessie neurologique : leucocyturie chronique

Traitements médicamenteux : interférence



Les infections broncho-pulmonaires

Bronchites-bronchiolites-pneumonie aigue communautaire-exacerbations de pathologies respiratoires chroniques comme bronchite chronique et mucoviscidose et pneumonies acquises sous ventilations mécaniques

Prélèvements broncho-pulmonaires pour examen bactériologique ou mycologique

Expectoration

- Le matin, au lever après lavage bucco-dentaire dans un effort de toux
- Peu contributif : 50% sécrétions contaminées par la salive
- Intérêt : échecs du traitement empirique, diagnostic des surinfections bronchiques, infections chez les patients atteints de mucoviscidose
- Cas particulier : recherche de BK à répéter 3 jours de suite
- Aspiration endo-trachéale et endo-bronchique par sonde d'intubation** (en réanimation chez patient intubé-ventilé)
- LBA sous fibroscopie** : diagnostic des PAC chez immunodéprimé et PAVM, histoplasmoses et mycoses
- Prélèvement distal protégé** sous fibroscopie évite la contamination par flore de l'oropharynx
- Liquide pleural**



- Apporter au laboratoire dans un délai < 2 H à 15-25° C
- Si analyse différée, conservation du recueil à 2-8° C.

Prélèvements pour recherche de virus

Infections respiratoires hautes : Adénovirus, Rhinovirus, Coronavirus

- Sécrétions nasales : aspiration , lavage, ou écouvillonnage

Infections respiratoires basses : VRS, Métapneumovirus A et B, Parainfluenza virus 1-4, grippe A, B et C

- Aspirations trachéo-bronchique
- LBA
- prélèvement nasal



Transmettre les sécrétions telles que au laboratoire pour la recherche d'antigènes et PCR < 4h sinon utiliser un milieu de transport spécifique entre 2 et 8° C



16^{es} JN, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Les erreurs à ne pas commettre

•Expectoration :

- Ne pas adresser le flacon dans un délai inférieur à 2h au laboratoire en raison de la prolifération des bactéries de la flore commensale et de la fragilité de *S. pneumoniae*
- Prélever après un traitement anti-infectieux

PAC

Oublier de réaliser des hémocultures

A éviter les expectorations

Recherche de virus

Prélever sur écouvillon avec milieu de transport pour bactéries (gel)

•Prélèvements fortement colonisés par les flores commensales : peau téguments, muqueuses, selles



Plaies , escarres, brulures, abcès ouvert, ulcère et pus profonds

Renseignement cliniques : Terrain, circonstances de développement de la lésion ou de la plaie, signes locaux (douleurs, inflammation, adénite, fièvre)

Echantillons

Pus, sérosité.

Prélèvement/Recueil

- Cureter le bord de la lésion ou la biopsier
 - Nettoyer la plaie, éliminer les exsudats, appliquer de la polyvidone iodée, laisser sécher et rincer à l'eau physiologique stérile
 - Placer le prélèvement dans un tube stérile \pm quelques gouttes d'eau physiologique stérile (si le prélèvement est de faible volume)
- Aspirer à la seringue la sérosité produite par la lésion puis aspirer 1 ml d'eau physiologique stérile pour éviter le dessèchement
- Ecouvillonner : 2 écouvillons avec milieu de transport
 - Précautions d'asepsie pour éviter de contaminer le prélèvement par les bactéries se trouvant normalement sur la peau



Transmission

< 2 heures à température ambiante (20° C)

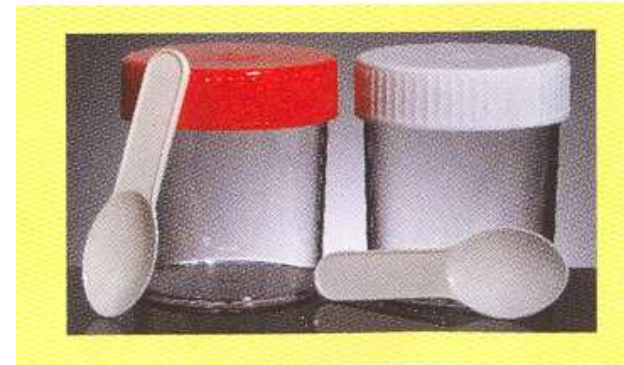
Les erreurs à ne pas commettre

- Prélèvements par écouvillonnage des escarres car ils reflètent la colonisation bactérienne souvent massive, préférer les biopsies osseuses ou de tissus profonds
- Prélever les escarres quand ils ne sont pas au stade III ou IV
- Utiliser des écouvillons sans milieu de transport
- Ulcération buccale : prélever en superficie

Diagnostic des gastro-enterites

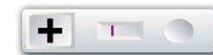
- Gastro-entérites le plus souvent virales : rotavirus, norovirus, adénovirus 40 et 41
- Syndrome diarrhéique (>3 selles liquides/jour)
- Coproculture si fièvre > 40° C, glaire et ou sang dans les selles, douleurs abdominales, retour de zone d'endémie, TIAC

- 10¹² bactérie/g de selles
- 400 espèces avec prédominance d'anaérobies
- 5 à 10% entérobactéries



Examen des selles

- **Examen bactériologique des selles : Coproculture**
 - standard à minima : *salmonella* spp, *shighella* spp, *campylobacter* spp (*yersinia* spp chez enfant et adulte < 20 ans)
- **Des recherches spécifiques peuvent être associées à la coproculture :**
 - recherche de rotavirus, adenovirus, norovirus
 - Recherche antigène et toxine C. difficile
 - Diarrhée sanglante : E. coli producteurs de Shiga-toxine EHEC
 - Parasitologie : 1 prélèvement par jour pendant 3 jours



Coproculture-parasitologie- Antigène et Toxines A et B de *Clostridium difficile*-recherche de virus

- Recueillir les selles dans flacon stérile fourni par le laboratoire
- Prélever, avec la spatule, une noix au minimum de selles dans le pot a vis transparent
- Préférer un échantillon sanglant ou muco-purulent
- En cas de selle liquide transvaser directement dans le pot a vis
- Identifier le pot
- Noter la date et l'heure du prélèvement



Acheminer rapidement au laboratoire dans un délai < 2h à 15-25° C

Si analyse différée :

Durée maximale de 12 heures à 2-8° C pour une coproculture

24 heures à 2-8° C pour une recherche seule d'antigène et de Toxines A et B de *Clostridium difficile*

48 heures à 2-8° C pour une recherche de Rotavirus/Adenovirus

Les erreurs à ne pas commettre

- Prescrire des diagnostics de gastro-entérites virales en cas d'épidémie
- Penser que la coproculture standard comprend la recherche de toxine de *Clostridium difficile*
- Ne pas indiquer de renseignements cliniques :
 - Diarrhée post antibiotique : Antigène et toxines A et B de *Clostridium difficile*.
 - Voyage récent et syndrome cholériforme : *Vibrio cholerae*
 - TIAC (≥ 2 personnes ayant partagées un repas) : *S. aureus* et *Bacillus cereus*
- Prescrire une parasitologie des selles moins de 3 jours après prise de charbon, substances laxatives ou suppositoires

Infections uro génitales et IST

OBJECTIFS

•Chez les asymptomatiques

- Lors d'un diagnostic d'IST chez une personne ou son partenaire
- Conduite à risque (rapports non protégés)
- En cas de prise de risques réguliers : HSH, prostitution
- Avant l'arrêt du préservatif en cas de relation sexuelle stable
- Lors d'une consultation pour contraception ou grossesse
- Au cours de l'exploration d'une hypofertilité ou d'un arthrite
- Incarcération
- Procédure médico-légale (abus sexuel)

•Chez les symptomatiques

- Toute symptomatologie uro-génitale
- Cas particulier de la femme enceinte consultant pour leucorrhée ou vulvo-vaginite (candidose et vaginose bactérienne)

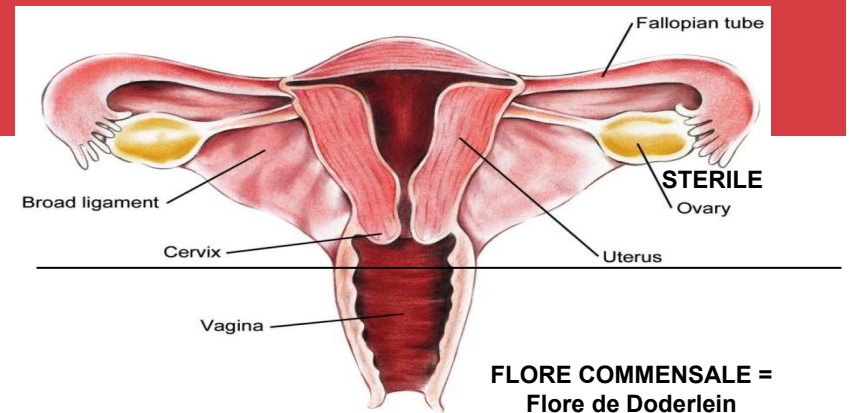


Rappel : La flore génitale

La flore génitale féminine (adulte)

- 10^8 à 10^9 germes/ml sécrétions vaginales
- 2 à 5 x plus de germes anaérobies
 - Lactobacilles 95%
 - Anaérobies : *Gardnerella vaginalis*, Peptostreptococci, *Prevotella*, *Bacteroides*
 - *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum*
- Vaginose bactérienne : infection
 - Déséquilibre de la flore
 - Disparition des lactobacilles au profit de *Gardnerella vaginalis*+/- flore anaérobie

Vaginite : Inflammation vaginale d'origine bactérienne, parasitaire (*Trichomonas vaginalis*,) mycosique (*Candida albicans*)



Prélèvements IST (1)

1- 1^{er} jet d'urine (*Neisseria gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* par PCR)

- 10 ml d'urine chez un patient n'ayant pas uriné depuis plus de 2 heures

2- Prélèvement urétral (*N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *uréaplasma spp*, *Trichomonas vaginalis*)

Chez l'homme

- Recueil de l'écoulement du méat urétral de préférence le matin avant toute émission d'urines et au moins 2 heures après la dernière miction
- Avant le 1^{er} jet d'urine

Chez la femme

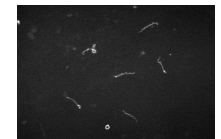
- Rarement réalisé (sauf dysurie et pollakiurie non expliquée par une cystite)



3- prélèvement d'ulcérations génitales : Tréponème pallidum, *C. trachomatis* LGV, *H. Ducreyi*, HSV

• grattage de l'ulcération sans faire saigner (écouvillon, vaccinostyle ou curette)

- Centre : *Tréponème pallidum*
- En bordure : *H. Ducreyi*



- ± recueil de la sérosité sur le bord avec un vaccinostyle



16^{es} JNI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015



Transmission < à 2 heures à 20° C

Prélèvements IST (2)

4- Prélèvement vaginal et endocol

- Cul de sac vaginal postérieur (alternative auto-prélèvement vaginal):

- recherche d'une vaginose bactérienne (*Gardnerella vaginalis*) ou mycoplasmes
- vaginite à *Trichomonas vaginalis*, mycose

- Endocol (après nettoyage de la glaire cervicale) :

- recherche de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*



5- autres prélèvements

- Prélèvement ano-rectal sous anoscopie

- Prélèvement oro-pharyngé pour recherche de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*



Transmission < à 2 heures à 20° C

6- Prélèvements spécifiques chez la femme enceinte

1) **Recherche de *Streptococcus agalactiae***

Niveau vaginal inférieur

34-35 SA

Sans speculum

2) **En cas d'antécédants d'accouchements prématurés rechercher une vaginose en début de grossesse**

3) **En présence de menace accouchement prématuré ou rupture prématurée des membranes rechercher les micro-organismes à risque pour l'enfant**

S. agalactiae, *E. coli*, *H influenzae*,

4) **Suspicion d'infection chorioamniotique ascendante**

Prélèvement endocol : recherche des micro-organismes à risque pour l'enfant

Les erreurs à ne pas commettre

- Oublier que la recherche de certains pathogènes nécessite des milieux spéciaux (Mycoplasmes , C. trachomatis et N. gonorrhoeae, HPV, HSV par PCR)
- Prélever avec un écouvillon en milieu de transport bacterio (gel) pour les recherches destinées à la biologie moléculaire (PCR)
- Ne pas adresser le prélèvement rapidement au laboratoire pour la culture (et antibiogramme) de N. gonorrhoeae qui est très fragile et Trichomonas vaginalis
- Oublier la fréquence des coïnfections
- Oublier de prescrire les sérologies : HIV, HBV, HCV, TPHA-VDRL

PRELEVEMENTS PERINATAUX

PLURI-ORIFICIELS CHEZ LE NOUVEAU-NE

Renseignements :

Heures de naissance et de prélèvement, renseignements cliniques

Echantillon

Aspiration gastrique + 1 ou 2 sites cutanés ou orificiels (narine, conduit auditif, anus...)

Prélèvement/Recueil

- Aspiration gastrique : quelques ml de liquide avec une sonde gastrique
- Sites cutanés et orificiels : écouvillonnage. Milieu de transport si acheminement différé

Germes à rechercher : *Streptococcus agalactiae* , *E. coli* K1, *Haemophilus influenzae* , *Listeria monocytogenes*, bactéries anaérobies (10 à 30% des endométrites du post partum) , gonocoque, ± pneumocoque, ± Méningocoque ± *S. aureus*.

•Autres prélèvements :

- méconium, placenta (fragment de placenta) , écoulement de lochies
- Hémocultures
- LCR
- ECBU



NI, Nancy, du 10 au 12 juin 2015

Transmission

Dans l'heure suivant la naissance, à t° ambiante (20° C). Bonne conservation à + 4° C.

Les erreurs à ne pas commettre

- Réaliser un prélèvement de lochies : très mauvais prélèvement qu'il faut remplacer le plus possible par un prélèvement d'endocol + milieu de transport
- Oublier :
 - Prélèvement respiratoire pour recherche de *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealitycum* chez le prématuré
 - Prélèvement conjonctivaux en cas de conjonctivite néonatale (germes des IST)

Prélèvements ORL (gorge, oreille, nez, pharynx)

Sites de prélèvements possibles :

Gorge/Pharynx : amygdales, piliers du voile du palais, ulcération, fausses membranes par écouvillonnage

Bouche pour la recherche de **Candida** : langue, palais, face interne des joues

Oreille :

- **conduit auditif externe** (otite externe ou moyenne) par écouvillonnage après nettoyage du conduit auditif à l'aide d'un premier écouvillon humide
- Auriculaire à l'aide d'un cathlon monté sur seringue ou par aspiration

Nez :

- **Nasal (écouvillonnage des 2 narines)**
- **naso-pharyngé**
- pus de sinus à la seringue réalisé par un médecin spécialiste



Les erreurs à ne pas commettre

- Effectuer un prélèvement de gorge en cas d 'epiglottite due a *H. influenzae* et *S. aureus* car risque de spasme pharyngo-laryngé
- Rechercher le portage de *N. meningitidis* dans la gorge du fait de la fréquence du portage sain
- Si suspicion de diphtérie : prélever les fausses membranes au centre (se placer à la périphérie)
- En cas d'otite : ne pas préciser s'il s'agit d'otite externe ou moyenne

Prélèvement oculaire

Préciser :

- localisation de l'infection : segment antérieur ou postérieur, infections péri-oculaires
- contexte épidémiologique (âge, terrain, origine géographique, séjours en zone d'endémie filarienne)
- Recherche : Chlamydia, Aspergillus, Mycobactéries, Nocardia et amibes libres

Echantillon/Prélèvement/Recueil

- Conjonctivite : écouvillonnage
- Blépharite (croûtes palpébrales, cils) : à la pince stérile

A faire par l'ophtalmologiste :

- Orgelet : pus prélevé à la pipette ou à l'écouvillon après ouverture avec un vaccinostyle
- Dacryocystite : recueil du pus au niveau des points lacrymaux palpébraux
- Ulcère de cornée : prélèvement à l'écouvillon après anesthésie locale
- Prélèvements intraoculaires ou péri orbitaires



Transmission

Prélèvements apportés au laboratoire à température ambiante. S'ils ne peuvent êtreensemencés rapidement, utiliser un milieu de transport adapté à la bactérie recherchée (ex: milieu pour Chlamydia)

Les erreurs à ne pas commettre

Ne pas penser à :

- *Chlamydia trachomatis* dans les conjonctivites du nourrisson, du petit enfant et chez les patients originaires d'Afrique et de pays en voie de développement.
- la recherche d'amibes libres dans les kératites chez les porteurs de lentilles

-Prélever après une antibiothérapie locale ou générale

-Prélever en présence de fluorescéine et oxybuprocaine pour des prélèvements destinés à une recherche par PCR (inhibiteurs)

Prélèvement de morsure

Prélèvement/Recueil

- Inutile de faire un prélèvement dans les 6 premières heures suivant une morsure non infectée cliniquement.
- Aspirer la sérosité à l'aiguille et si nécessaire aspirer ensuite 1 ml d'eau physiologique stérile pour éviter le dessèchement de la seringue
- Prélèvement possible à l'écouvillon.

Les erreurs à ne pas commettre

- **Ne pas indiquer l'animal mordeur qui oriente sur les bactéries à suspecter en dehors de *Pasteurella multocida***
 - rongeurs : *Streptobacillus moniliformis*, *Spirillum minus*
 - En cas de morsure humaine forte chance de retrouver *Eikenella corrodens*
- **Ne pas prévoir un milieu de transport pour anaérobies :**
 - Les bactéries anaérobies sont présentes dans 30 à 40 % des cas



Conclusion

- Le prélèvement est une étape clef du diagnostic microbiologique
- Importance du dialogue clinico-biologique
- Toutes les indications sont dans le manuel de prélèvement réalisé par le laboratoire et destiné aux préleveurs
- Ne pas respecter les consignes du laboratoire induit la réalisation d'un prélèvement ininterprétable
- Importance du temps et conditions de transport, du temps et températures de conservation
 - Risque de perdre les micro-organismes fragiles
 - Risque de multiplication des bactéries dans le prélèvement faussant l'aspect quantitatif
 - Risque de contamination par les flores