

Table ronde illustrée

Des prélèvements microbiologiques aux résultats

C. DUPIEUX-CHABERT, J. GRANDO, P. PAVESE

Et les infirmières ayant participé à la préparation des diapos

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

Intervenants : Dupieux-Chabert Céline ; Grando Jacqueline ; Pavese Patricia

Titre : Table ronde illustrée « Des prélèvements microbiologiques aux résultats »

Comment réaliser les prélèvements en sécurité

J. GRANDO

Service Hygiène Epidémiologie Infectiologie Prévention
Hospices Civils de Lyon

Risques infectieux lors d'un prélèvement

- **Pour le soignant ?**
- **Pour le patient ?**
- **Pour le prélèvement ?**

Prévention du risque infectieux pour le soignant

Prélèvement = manipulation de « liquide biologique »

(sang, urines, LCR, liquide de drainage, selles

→ Protection si risque de contact ou projection

= Application des Précautions Standard

(gants, masque, tablier, lunettes)

+ mise en place de Précautions Complémentaires si besoin

(gale, tuberculose, grippe,.....)

Prévention du risque infectieux pour le patient

Pour tout patient et pour tout soin :

Application des Précautions Standard

+ utilisation de matériel à Usage Unique

(vérification date de péremption et intégrité de l'emballage)

Prévention de la contamination du Prélèvement

- **Importance de la qualité du prélèvement**
 - ➔ Diagnostic juste et traitement adapté
 - ➔ Identifier le(s) micro-organisme(s) responsable(s) de l'infection

 - ➔ Attention aux contaminations environnementales
 - ➔ Désinfection des surfaces de soins
 - ➔ Attention aux contaminations par le microbiote du patient

Prévention de la contamination du prélèvement avec le microbiote du patient

- **Ponction transcutanée**

(hémoculture, ponction lombaire, pleurale, ascite...)

→ élimination de la flore cutanée

(Staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries, propionibactéries, ...)

→ désinfection de la peau avec un **antiseptique alcoolique** (contact abrasif + séchage)

et du bouchon du flacon si hémoculture

Prévention de la contamination du prélèvement avec le microbiote du patient

- **Prélèvement au contact des muqueuses, flore abondante**
 - ➔ élimination ou diminution de l'inoculum
 - **ECBU, patient non sondé** : élimination des microorganismes présents (méat et urètre)
 - ➔ **lavage au savon, rinçage + prélèvement du 2^{ème} jet**
 - **Crachat** : diminution du microbiote buccal
 - ➔ **rinçage abondant eau stérile/sérum phy**

Prévention de la contamination du prélèvement

- **Prélèvement sur un dispositif invasif**
 - ➔ désinfection du site de prélèvement avec un **antiseptique alcoolique** (contact abrasif)

Exemples

- ECBU patient sondé
- Hémoculture sur cathéter

Et pour finir

- **Attention à l'identitovigilance**

(coller les étiquettes après la réalisation du prélèvement, au lit du patient)

- **Compléter avec attention la fiche de demande d'examen**

- **Respecter les conditions d'acheminement du prélèvement**

Devenir des prélèvements au laboratoire

Indications et interprétation des résultats

C. DUPIEUX-CHABERT, P. PAVESE et les infirmières ayant participé à la préparation de la session

L'Examen CytoBactériologique des Urines (ECBU)

- **A réaliser uniquement si symptômes d'infection**
- **Modalités prélèvement : dépend du temps de transport vers le laboratoire**
 - Se référer aux recommandations de son laboratoire
 - < 2h : poudrier stérile/monovette sans conservateur
 - > 2h : monovette avec conservateur (borate)

Chaque laboratoire a son manuel de prélèvement

Examen recherché

Recherche avancée >>> Mémoriser les préférences Nouvelle recherche

12 résultat(s) de la recherche

CBN - INSTITUT DES AGENTS INFECTIEUX 24-MICROBIO AUTOMATISEE- (24430) 04 72 07 11 11 (37 11 11)

ECBU-mi-jet vol > 8 mL Code de demande : NU
CBU, Examen Cyto-Bactériologique des Urines

>> Pré-Analytique >> Analytique >> Informations complémentaires

1 Conditionnement

Acheminement vers le centre de tri récepteur

Délai max. d'acheminement : 12 heures

Conditions de transport :

Température : +17°C à +25°C



TUBE URINE PET BACTERJO KAKI 16X100 VIDE ...

Nature de prélèvement : Urine
Quantité optimale à prélever : 8 mL

Conditions de prélèvement

Utiliser les premières urines du matin prélevées au milieu de la miction. Préciser s'il existe des signes cliniques. Si volume = 8 ml, utiliser un tube BD pour urines chimie ocre

Réalisée en urgence : Non

Réalisée en garde : Oui

Réalisation : 1 jour

L H M J V S D

Principe de méthode : Culture

Méthode : Numérations des leucocytes et hématies réalisées sur l'UF1000 (bioMérieux), culture sur milieu chromogène avec numération bactérienne semi-quantitative

Code LOINC :

Conservation et pré-traitement

Ajouter aux favoris

Intérêt clinique :

Documents téléchargeables :

Prélèvement d'urines version 3

Fiche de demande : GHN IAJ - BACTERIOLOGIE 24H/24H REF 087023

Codification Nabm (à titre indicatif) : 5201 (B - 50)

Contact :

L'ECBU au CH de Vienne

PAGE 3 SUR 38

MANUEL DE PRELEVEMENT BACTERIOLOGIE

LABO 005 ANN/2

Protocole pour réaliser l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

 <p>Les doigts, les muqueuses sont recouvertes de millions de microbes invisibles... C'est normal... Les urines, elles sont normalement stériles c'est-à-dire qu'elles ne contiennent pas un seul microbe... Pour voir s'il y a des microbes dans les urines, il faut se mettre à l'abri de toutes les souillures. Vos doigts ne doivent pas effleurer les bords du flacon stérile et ne toucher que l'extérieur du couvercle</p>	 <p>Réaliser un geste d'hygiène des mains</p>
<p>Réalisez tout d'abord une toilette des organes génitaux avec le savon. Rincez-vous à l'eau claire. Essayez avec une compresse.</p>  <p>N'ouvrir le flacon qu'au dernier moment...</p> 	<p>Uriner le premier jet dans les toilettes et terminez en remplissant le flacon. Fermer hermétiquement le flacon. Nettoyer l'extérieur du flacon.</p>  <p>Puis réaliser un geste d'hygiène des mains</p> 

Identifier le flacon.
Apporter le flacon au laboratoire accompagné de la prescription et de l'heure du prélèvement.
Merci de respecter ces consignes, l'examen sera fiable et par conséquent utile.

Date de dernière mise à jour 14/02/2013



L'ECBU aux HCL



1 Se laver les mains avec soin, puis effectuer une toilette intime selon le protocole.



2 Ouvrir le pot de recueil et poser le couvercle avec la canule vers le haut.



3 Eliminer le premier jet d'urine dans les toilettes puis recueillir l'urine dans le pot.



4 Referrer le pot avec le couvercle bleu et le remettre à l'infirmière ou au laboratoire.



Patient

Attention :
ne pas toucher la canule du couvercle.

Attention :
ne pas soulever l'étiquette.

1 Recueillir l'urine dans le pot puis bien le refermer avec le couvercle bleu équipé de la canule. Une fois le pot fermé, la canule plonge dans l'urine.

× 8 - 10

3 Attendre le remplissage complet du tube, le retirer et l'homogénéiser par 8 à 10 retournements afin d'assurer une bonne dissolution de l'additif dans l'échantillon.

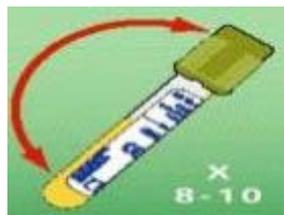
2 Homogénéiser le pot. Soulever l'opercule autocollant protecteur (ne pas l'enlever). Insérer le tube BD Vacutainer® au niveau de l'orifice et percuter le bouchon.

4 Replacer l'opercule autocollant protecteur sur l'orifice du couvercle. Identifier le tube et le transmettre au laboratoire.

Attention :
Dans le cas d'un prélèvement simultané d'un tube urine de biochimie et d'un tube urine de microbiologie / cytologie toujours prélever les tubes selon l'ordre suivant :

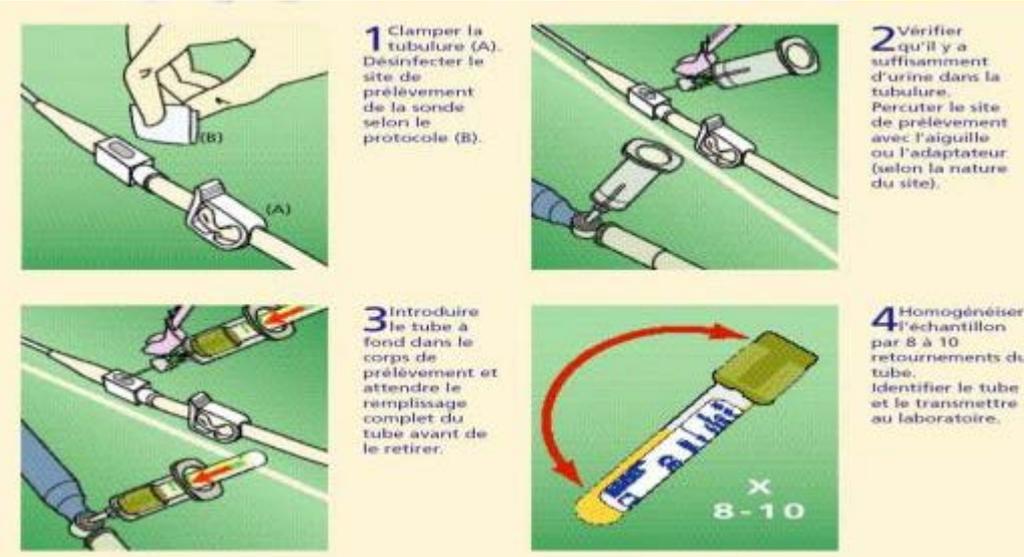
- 1) Le tube de Biochimie (bouchon sécurité beige)
- 2) Le tube de Microbiologie / Cytologie (bouchon sécurité vert kaki)

Attention :
Pour assurer une bonne conservation de l'urine, il est important de la transférer dans le tube de microbiologie / cytologie (bouchon vert kaki) dans les 15 minutes qui suivent le recueil.



Attention volume minimum à remplir!
Agiter après remplissage

L'ECBU chez le patient sondé



1 Clamper la tubulure (A). Désinfecter le site de prélèvement de la sonde selon le protocole (B).

2 Vérifier qu'il y a suffisamment d'urine dans la tubulure. Percuter le site de prélèvement avec l'aiguille ou l'adaptateur (selon la nature du site).

3 Introduire le tube à fond dans le corps de prélèvement et attendre le remplissage complet du tube avant de le retirer.

4 Homogénéiser l'échantillon par 8 à 10 retournements du tube. Identifier le tube et le transmettre au laboratoire.

X
8-10

Le chemin de l'ECBU au laboratoire



J0 :

- **Examen direct** : nombre de leucocytes? Coloration de Gram pour observer si bactéries
- **Ensemencement** de l'échantillon avec une oese sur une gélose chromogène

- Puis **incubation** à 37 ° C jusqu'au lendemain...

Le chemin de l'ECBU au laboratoire



J1 :

Observation des colonies et de leur couleur

Rose = Un bel *Escherichia coli*!!

= IDENTIFICATION

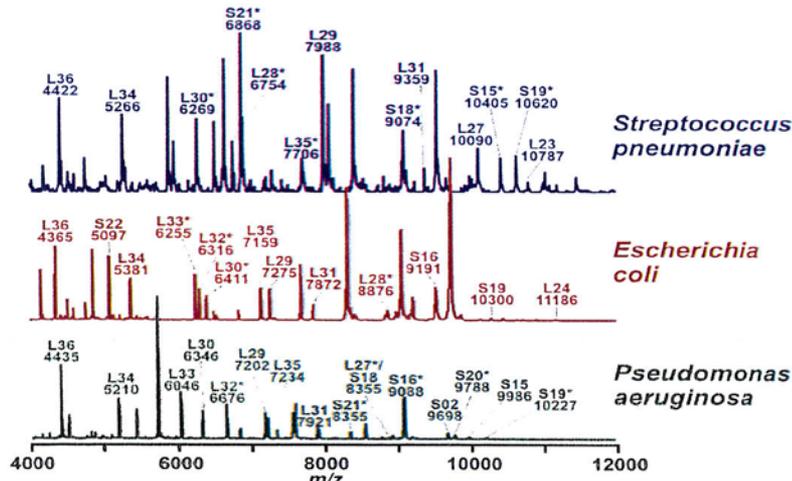
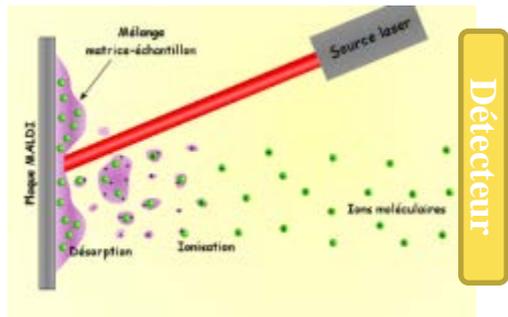


Résultats à J1 = IDENTIFICATION

- Avant...



- Maintenant : Maldi-Tof



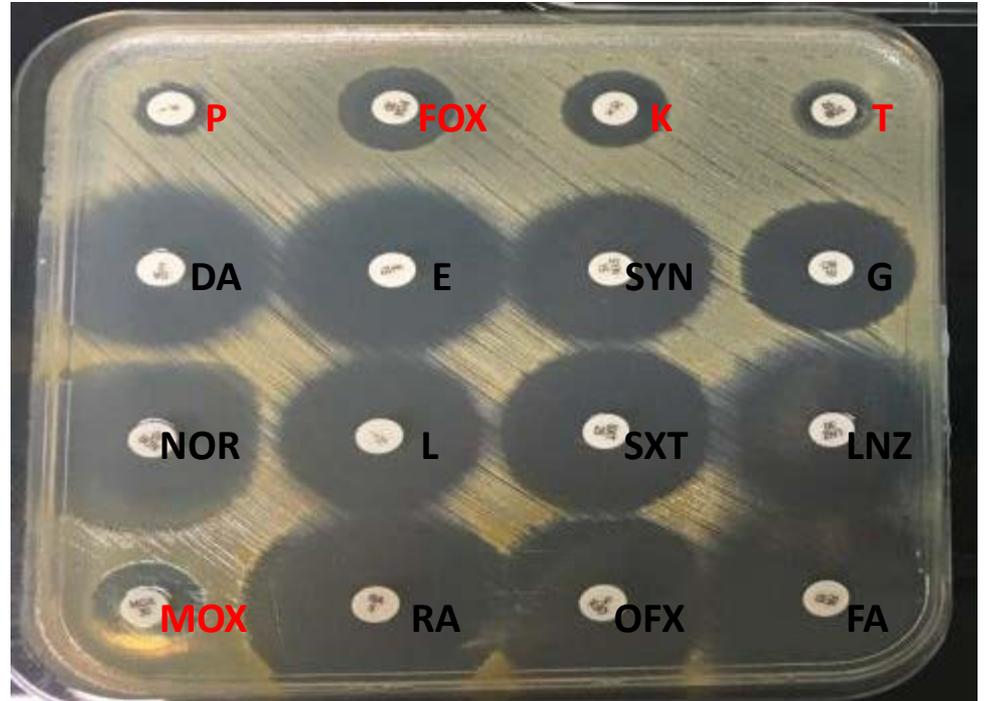
Le chemin de l'ECBU au laboratoire

- Réalisation de l'ANTIBIOGRAMME

La bactérie identifiée est-elle sensible aux antibiotiques les plus fréquemment utilisés ?



Résultats à J2 = ANTIBIOGRAMME



Les hémocultures



Diagnostic d'une bactériémie ou d'une fongémie
Souvent grave +++

Prélèvement des hémocultures

- **Film**
- **Attention**
 - Protocole d'antisepsie
 - Nombre de flacons prélevés
 - Volume 10 mL/flacon
 - Flacon aérobie puis anaérobie



Prélèvement des hémocultures



PEC des hémocultures au laboratoire

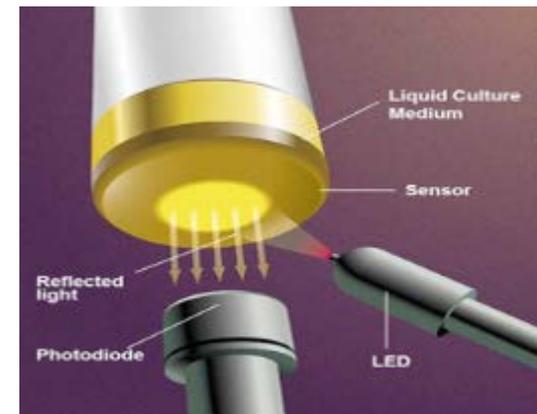
Au labo : on ne fait rien directement sur les hémocultures
Incubation dans des **automates** d'hémocultures



Comment l'automate détecte un flacon positif ?

Technologie Colorimétrique

- Les microorganismes croissent dans le bouillon et produisent du CO_2
- Le CO_2 produit entraîne une diminution de pH dans le flacon
- Le Sensor contient un indicateur coloré qui vire du gris vert au jaune



Que deviennent les flacons d'hémoculture ?

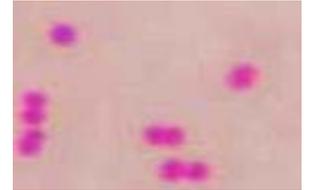
- Flacons non positif au bout de 5 jours : jetés

- Et quand le flacon est positif ?

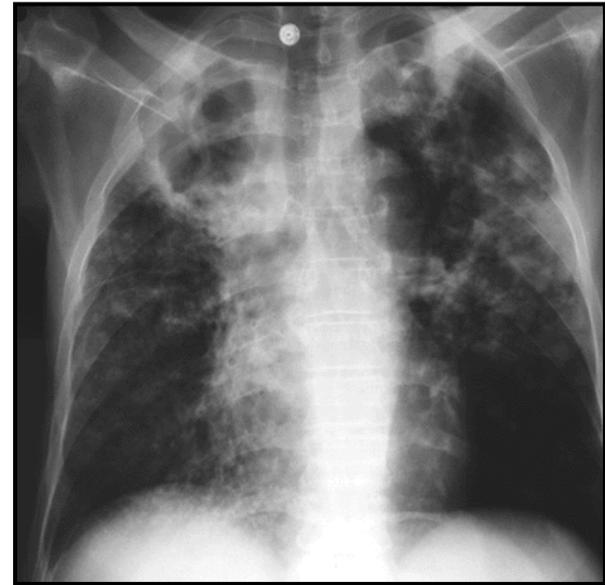
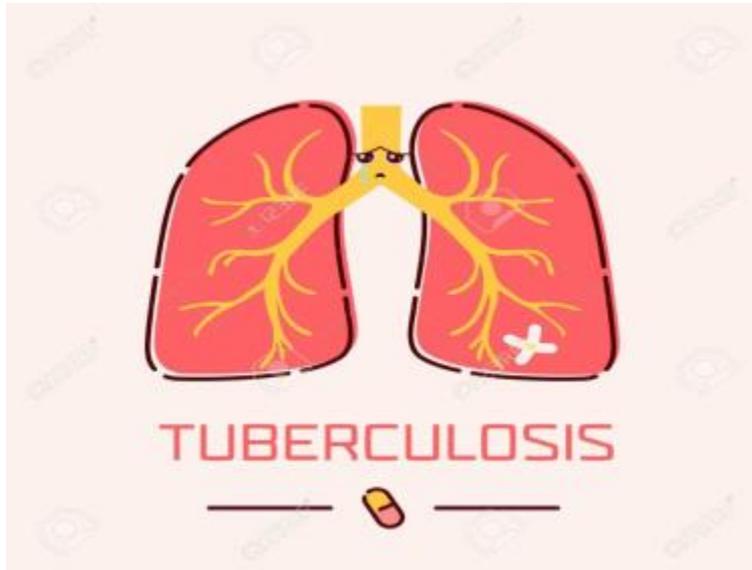


- Coloration de Gram -> service appelé systématiquement
- Ensemencement de milieux de culture

- 12-24h plus tard : **identification** (idem ECBU)
- 24h de plus après : **antibiogramme** (idem ECBU)



Les crachats - recherche de BK



Les crachats - recherche de BK

Examen Cytobactériologique des crachats (ECBC) – LBMMS – Octobre 2012

1



Consignes avant ECBC

- Recueil le matin au réveil, à jeun
- Avant toute cigarette
- Oter tout chewing-gum, la (les) prothèse(s) dentaire(s) si nécessaire

2



Effectuer un rinçage abondant de la bouche avec de l'eau stérile ou du sérum physiologique

3



Faire inspirer et expirer de grands volumes d'air par la bouche au patient - Répéter 2 ou 3 fois.

4



Faire ensuite tousser le patient de façon à évacuer les expectorations profondes.

5



Pas de salive

Recueillir les expectorations obtenues en fin de toux dans un **poudrier de 30 ou 125mL**

6



- Fermer hermétiquement le poudrier et étiqueter le prélèvement.
- Remplir le bon de demande d'examen

7



Acheminer l'ECBC le + rapidement possible au laboratoire (<2h). Sinon, conserver le prélèvement à +4°C pendant 12h maximum.



Particularités recherche de BK :

3 jours de suite
tubage gastrique possible

La recherche de BK au laboratoire

LABORATOIRE DE SECURITE BIOLOGIQUE DE NIVEAU 3

- **MYCOBACTERIES**

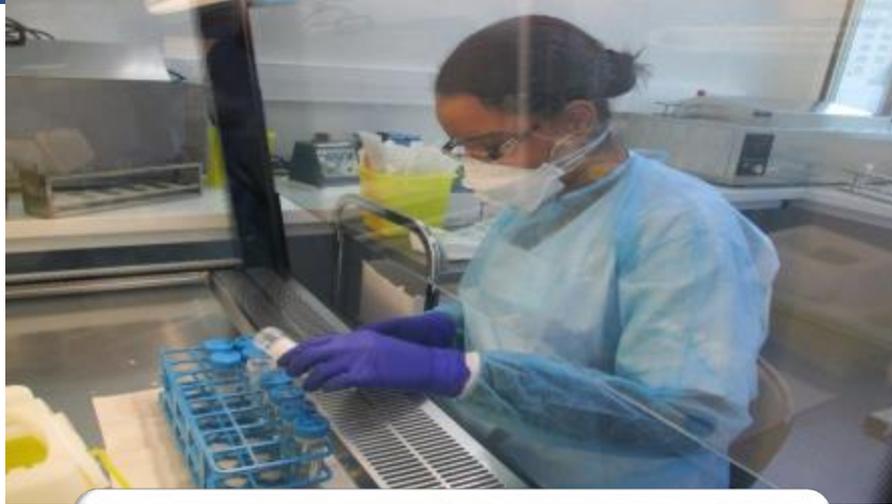
La recherche de BK au laboratoire

Présentation du LSBN3

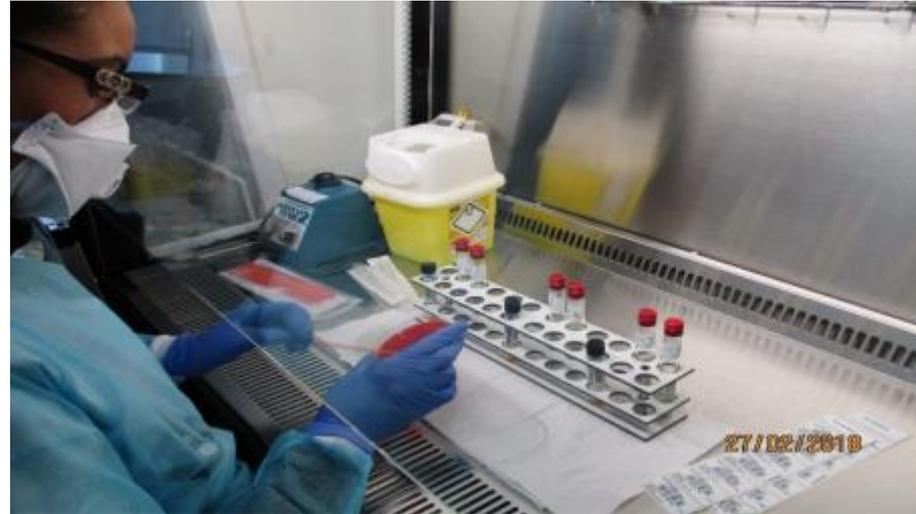
- Le laboratoire LSBN3 est une boîte étanche et lumineuse (fenêtres fermées, étanchéité des sols, des cloisons et des plafonds) qui se décompose en 4 parties :
 - 1 - Sas personnel
 - 2 - Sas matériel
 - 3 - L'intérieur du LSBN3
 - 4 - Pièce à autoclave
- Le laboratoire est en dépression, il y a un gradient de dépression entre les locaux les plus exposés vers ceux les moins exposés
- Le laboratoire de mycobactéries de l'IAI est utilisé pour la mise en culture des échantillons suspectés de contenir de mycobactéries ainsi qu'aux subcultures et au stockage des souches de mycobactéries isolées



La recherche de BK au laboratoire



Mise en culture



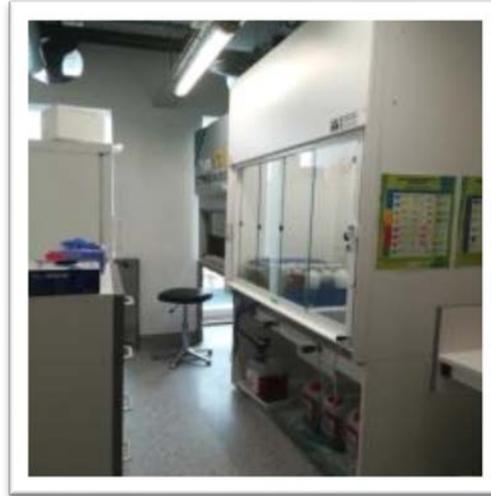
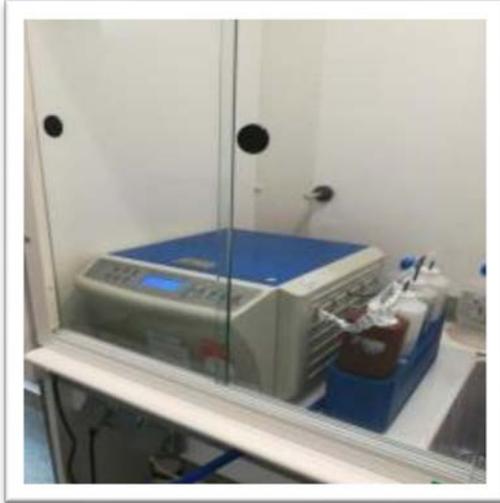
La recherche de BK au laboratoire

Incubation



La recherche de BK au laboratoire

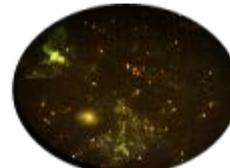
Colorations



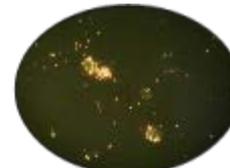
+



++

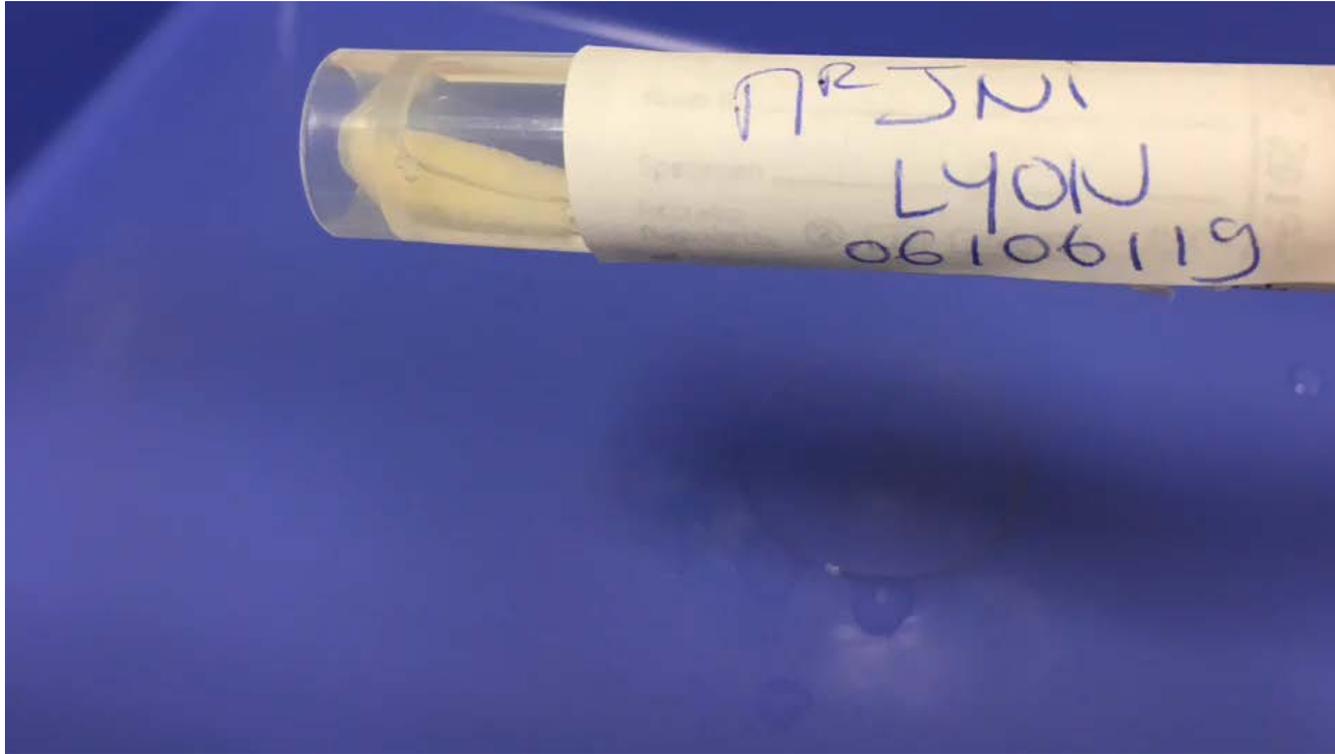


+++



++++

Recherche de BMR/BHRe



Bien avoir des traces de matières fécales sur l'écouvillon

Recherche de *Clostridium difficile*

Prélèvement de selles : une « noix » peut être suffisant
Envoi au laboratoire sans urgence



Recherche de *Clostridium difficile*

Examen recherché : difficile

Recherche avancée >> | Mémoriser les préférences | Nouvelle recherche

2 résultat(s) de la recherche

CBN - INSTITUT DES AGENTS INFECTIEUX | 24-MICROBIO AUTOMATISEE- (24430) | 04 72 07 11 11 (37 11 11)

SELLES-Clo difficile toxines

Code de demande : NCD
Coproculture, Selles, Antigène Clostridium difficile, Toxines Clostridium difficile

>> Pré-Analytique

1 Conditionnement



ECOUVILLON FECALSWAB Ref BD 22058 / HCL ...

Acheminement vers le centre de tri récepteur

Délai max. d'acheminement : 12 heures

Conditions de transport :

Température : +17°C à +25°C

Nature de prélèvement : Selles
Quantité optimale à prélever :

Conditions de prélèvement

>> Analytique

Réalisée en urgence : Non

Réalisée en garde : Oui

Réalisation : 4 heures

L M M J V S D

Principe de méthode : Immunochromatographie

Méthode : Test Immunochromatographique et si nécessaire PCR

Code LOINC :

>> Informations complémentaires

Intérêt clinique :

Documents téléchargeables :

Fiche de demande : GHN IAI - BACTERIOLOGIE 24H/24H REF 087023

Codification Nabm (à titre indicatif) : 237 (B - 50)
5292 (B - 60)
N131 (AHC/BHN - 450)

Contact :

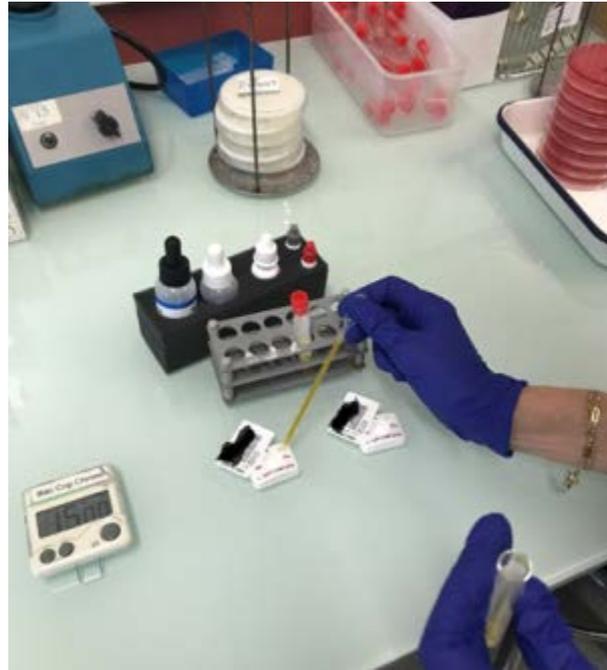
Recherche de *Clostridium difficile*

Test immuno-enzymatique sur membrane qui permet d'obtenir des résultats en seulement 25 min

Dilution d'un petit échantillon du prélèvement avec le conjugué

Dépôt, incubation 15 min à température ambiante

Lavage puis ajout substrat -> 10 min -> lecture



Recherche de *Clostridium difficile*

Lecture :

ligne en pointillés -> confirme que le test a fonctionné normalement

ligne de gauche -> présence de la **GDH** glutamate déshydrogénase (= **présence du *Clostridium***)

ligne de droite -> présence d'une **toxine** (= **responsable des diarrhées**)

Test négatif

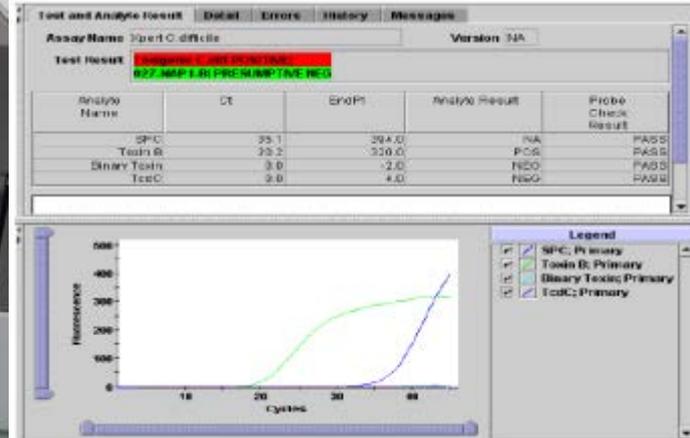


Test positif



Recherche de *Clostridium difficile*

- Si présence de *Clostridium difficile* mais absence de la toxine
 - Vérification en biologie moléculaire « PCR » = amplification de l'ADN de la bactérie et des gènes codant les toxines



- **Prise en charge des prélèvements en bactériologie**

Clostridium difficile

Ag urinaire pneumo ou légio...

Tests rapides, résultats dans la journée

Autres prélèvements (culture)

J0 : coloration de Gram et mise en culture

J1 : identification

J2 : antibiogramme

Pour les hémocultures : rajouter le temps que le flacon soit détecté positif par l'automate