

PRELEVEMENTS MICROBIOLOGIQUES

BONNES PRESCRIPTIONS ET BONNES PRATIQUES

Florence BONFILS BIERER Laboratoire CBM



- **Définition des flores**
- **Indications : Pourquoi ?**
 - Plus efficace quand on sait ce qu'on cherche
 - Savoir ce que l'on attend
 - On traite un patient pas un résultat
- **Différents types de prélèvements : Quand ?
Comment ?**

Un être humain héberge 10^{14} bactéries en permanence

Flore commensale : bactéries d'un organe (peau, muqueuses)

Rôle : Protéger et lui assurer un bon fonctionnement : cutanée, génitale, respiratoire ou digestive variable en qualité et quantité

résidente espèce vivant en harmonie avec le corps humain de façon permanente

transitoire espèces présentes de façon brève. Instable se transmet facilement d'individu à individu. Responsable d'infections croisées à transmission manuportée à l'hôpital.

Ex : environnement Acinetobacter ou Pseudomonas ou ORL SAU ou Strepto A

Flore saprophyte (environnement) ne se développe pas dans l'organisme vivant et se nourrit des déchets générés au sein de celui-ci, parfois pathogène pour l'homme

Ex chez ID comme Clostridium, Legionella, Listeria

Pathogène Bactéries responsables d'une maladie même chez le sujet " sain " (ex typhoïde, choléra, tuberculose, méningite...).

Le pouvoir pathogène conditionne le type de maladie et va dépendre de l'espèce bactérienne responsable de l'**infection**.

Mécanisme différent comme EHEC,EIEC,ETEC ou EPEC

Origines

endogène : ses propres flores commensales

exogène : environnement, animal, alimentation, homme malade ou convalescent (contagiosité), homme porteur sain

INDICATIONS : Pourquoi ?

Prélèvements à visée diagnostique : instituer, modifier ou surveiller une thérapeutique

2 grands types

zones stériles (sang, LCR, per op...) prélevés à l'**aiguille** en traversant la peau ou muqueuse saine préalablement désinfectée et déposés dans flacons stériles

zones colonisées par flore (peau, muqueuses...), le prélèvement se fait par **écouvillon, aspiration** et la pathogénicité des germes retrouvés est moins facile

C'est la raison pour laquelle ces prélèvements superficiels doivent être limités le plus possible (indications de non prélèvements)

➡ Prélèvements inutiles car peu d'info bactériologique comme les CBU en absence de signes cliniques, sondes urinaires, vomissements, lqd de colostomie

A noter que certains prélèvements par écouvillonnage donnent résultats difficiles à interpréter : escarres, ulcères variqueux, lésions de gangrène superficielle, lésions bouche, gencives, brûlures, abcès péri rectaux

Ces prélèvements doivent être remplacés, après nettoyage soigneux de la lésion, par une aspiration à l'aiguille du lqd inflammatoire ou une biopsie

Prélèvements à visée épidémiologique

Pour MEE bactéries à l'origine d'IAS et/ou multiR aux ATB

BMR : EBLSE ,SARM, Acinetobacter R IPM, Pyo R Ticar/Cefta

BHR : EPC, ERV ou ERG

A bien distinguer des prélvs diagnostiques

Qui et quand dépister ?

- Systématiquement en Réanimation à l'entrée et une fois/semaine rapatriés ou ATCDTS hospit à l'étranger contact porteur EPC REG
- En situation épidémie locale ou régionale
 - Réa sortie
 - MCO entrée et une fois par semaine
 - SSR entrée

Renseignements cliniques

Primordial +++

Techniques bactériologiques étant très diverses

Permet au labo de distinguer :

- contamination par flore commensale
- colonisation
- infection réelle

selon

- ◆ localisation
- ◆ antibiothérapie
- ◆ terrain : ID, neutropénie
- ◆ signes cliniques
- ◆ voyage

PRECAUTIONS RECUEIL URINES

Adulte, enfant (UMJ, sondage AR, étui pénien, bricker...)

- . dégager méat pendant la durée du prlvt
- . antisepsie zone méatique ou vulvaire selon procédure service
- . recueillir UNIQUEMENT milieu du jet

Invasif Seuil bactériurie abaissé à

- . 100 UFC/ml pyélostomie, urétérostomie, cathétérisme, rein, cystoscopie
- . 10 UFC/ml ponction sus-pubienne

Patient sondé

- . peu de valeur diagnostique sauf si clinique +++ (colonisation multiple après 72 heures de pose) ou nécessité de changer sonde à demeure
- . désinfecter site alcool iodé , clamber sonde en aval, prélever urines par ponction directe

PRELEVEMENT SONDE A DEMEURE

1 Recommandations



Si possible avant l'instauration du traitement anti-infectieux

- Ne JAMAIS prélever dans le sac collecteur
- - Ne pas déconnecter la sonde du sac collecteur
- Si changement de sonde, prélever sur la nouvelle sonde et pas sur l'ancienne
- L'analyse microbiologique de l'embout de sonde n'est pas recommandé

2 Renseignements



- Date/Heure
- Anti-Infectieux:**
- Localisation :** Préciser sur « sonde à demeure »
- Signes cliniques:** Inf.urinaire,Fièvre, Pyélonéphrite ...
- Contexte :** Immunodépression, greffe, intervention chirurgicale récente, anomalie du tractus urinaire



3 Hygiène



PRELEVEUR

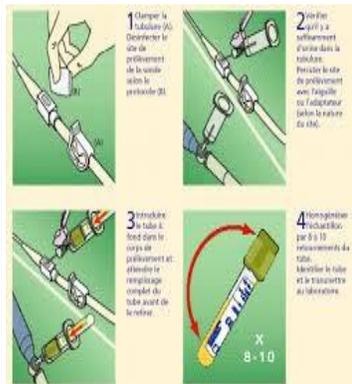
- Lavage des mains
- Soluté Hydro-Alcoolique
- Port de gant

PATIENT

- Désinfection



4 Prélèvement



Clamper la tubulure (A)

Vérifier la quantité d'urine présente dans la tubulure

Désinfecter le site de prélèvement de la sonde (B) selon le protocole recommandé

Percuter le site avec l'aiguille ou avec l'adaptateur (selon la nature du site)

Insérer le tube et le percuter

Maintenir le tube en position jusqu'à ce que le remplissage s'arrête

Prélever 2 Tubes Borate

Homogénéiser les tubes par 8 à 10 retournements

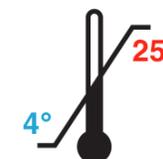


5 Identification

ETIQUETTE PATIENT	
Nom :	_____
Nom jeune fille :	_____
Prénom :	_____
Né(e) le :	__/__/__ Sexe <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F

6 Transmission

< 24H



L'urine n'a pas été recueillie par le biais d'une sonde urinaire

Leucocyturie	Bactériurie	Symptômes	Conclusion
Leucocyturie $\geq 10^4$/ml	Bactéries $< 10^3$ /ml	Pas de signes d'infection	Colonisation vraisemblable, infection urinaire possible
		Signes d'infection	Infection urinaire probable (antibiogramme)
	Bactéries $\geq 10^3$ /ml	Pas de signes d'infection	Colonisation vraisemblable, infection urinaire possible
		Signes d'infection	Infection urinaire probable (antibiogramme)
Leucocyturie $< 10^4$/ml	Bactéries $< 10^3$ /ml	Pas de signes d'infection	Absence d'infection urinaire
		Signes d'infection	Infection urinaire peu probable
	Bactéries $\geq 10^3$ /ml	Pas de signes d'infection	Colonisation vraisemblable, infection urinaire peu probable
		Signes d'infection	Infection urinaire probable (antibiogramme)

L'urine a été recueillie par le biais d'une sonde urinaire

Bactériurie	Symptômes	Conclusion
Bactéries $< 10^5$/ml	Pas de signes d'infection	Colonisation urinaire probable
	Signes d'infection	Infection urinaire très probable (antibiogramme)
Bactéries $\geq 10^5$/ml	Pas de signes d'infection	Colonisation vraisemblable, infection urinaire possible
	Signes d'infection	Infection urinaire très probable (antibiogramme)

PRELEVEMENTS PUS

Suppurations **superficielles** (escarre, ulcère, furoncle...) ou **profondes** (ostéomyélite, spondylodiscite, origine digestive...)

En plus de ces suppurations **primaires** on distingue suppurations **secondaires** post chirurgicales ou post traumatiques

Localisations variées et prélèvements divers : écouvillonnage, biopsie, pièce op, liquide

3 classes de prélèvements :

- Classe I zone stérile (cerveau, ganglion, bile, os..) si bonne condition aseptie lors du prlvt bactéries isolées impliquées dans infection
- Classe II zones profondes communiquant avec flores commensales pouvant « contaminer » prélèvement (origine digestive)
- Classe III zones superficielles donc contaminées directement par flore commensale surtout si fait par écouvillonnage (escarre, brûlures, morsures, plaie...)

INTERPRÉTATION PUS

Seule confrontation aux données cliniques permet interprétation FIABLE surtout pour classes II et III

Informations importantes pour interprétation

- nature et site lésion
- modalités de prélèvements quand ? Comment ?
- Contexte global : âge, état immunitaire, corticoïdes, diabète, infection en cours, ttt ATB récent ou en cours

Commentaires peuvent indiquer

- présence ou absence germes potentiellement pathogènes
- notion de contaminant vs pathogène
- données épidémio: source contamination, transmission, caractères épidémiques
- indications thérapeutiques
- conseil sur le suivi: contrôle ?

PRELEVEMENT CUTANE SUPERFICIEL : BACTERIOLOGIE

1 Recommandations



Si possible avant l'instauration du traitement anti-infectieux (par voie orale ou locale)

-Conseil Arrêt Anti-Infectieux :

Voie Orale : 7 J

Voie Locale : 3 J

-Ne pas faire de toilette ou de traitement local (crème, gels, savons ...) avant le prélèvement

2 Renseignements



-Date/Heure

-Anti-Infectieux:

-Pathologies associées : immunodépression, ...

-Signes cliniques: +++ Préciser +++

-Localisations : +++ Préciser +++

3 Hygiène



-Lavage des mains

-Soluté Hydro-Alcoolique

-Port de gant

-

ATTENTION
Ne concerne que
la Bactériologie

4 Prélèvement

A/ Prélever au niveau des lésions

B/ Ecouillonner avec **1 Eswab rose** .

- Si la lésion contient du liquide (pus ou liquide clair), recueillir ce liquide. Si nécessaire percer les vésicules ou pustules avec un vaccinostyle pour faire sortir le liquide.
- Si on suspecte une candidose, prélever au fond du pli
- Dans tous les cas, veiller à ne pas passer l'écouvillon sur la peau saine entourant la lésion

C/ Ouvrir le tube, déposer l'écouvillon, le casser au niveau du point de rupture (ligne colorée), revisser le bouchon pour fermer le tube et agiter.

-ATTENTION : PAS de boîte de pétri ni d'écouvillon sec pour la bactériologie.



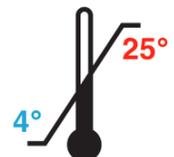
5 Identification

ETIQUETTE PATIENT	
Nom :	-----
Nom jeune fille :	-----
Prénom :	-----
Né(e) le :	__/__/__ Sexe <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F

Ne pas oublier de préciser les localisations

6 Transmission

< 24H



PRELEVEMENT PUS PROFOND ET OPERATOIRE

1

Recommandations



URGENT

-Si possible avant l'instauration du traitement anti-infectieux

-Transport rapide au laboratoire

2

Renseignements



- Date/Heure
- Anti-Infectieux**
- Pathologies associées** :
néoplasies, maladies auto-immunes, ...
- Préciser les **recherches spécifiques**:
BK, Nocardia, Actinomyces, Aspergillus,...

3

Hygiène Préleveur



- Lavage des mains
- Friction Hydroalcoolique
- Port de gant

4

Hygiène Patient



- Désinfection en 4 temps
- Selon le protocole de l'établissement

5

Prélèvement



Ecouvillon



Liquide



Solide



Eswab



Eswab



Flacon Bille

6

Identification

ETIQUETTE PATIENT	
Nom :	-----
Nom jeune fille :	-----
Prénom :	-----
Né(e) le :	__/__/__ Sexe <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F

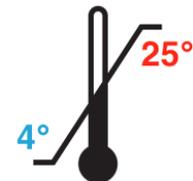
7

Transmission

< 2H



URGENT



PRELEVEMENT DEPISTAGE ET BMR

1 Recommandations



Si possible avant l'instauration du traitement anti-infectieux

-Conseil Arrêt Anti-Infectieux :

Voie Orale : 7 J / Voie Locale : 3 J

-Ne pas faire de toilette ou de traitement local
(crème, gels, savons ...) avant le prélèvement

2 Renseignements



-Date/Heure

-Anti-Infectieux

-**Pathologies associées** : immunodépression

-**Indication** : pré-opératoire, gîtes bactériens, Furunculose, épidémie, ...

-**Localisations** : nez, anus, gorge, aisselle, ...

3 Hygiène



-Lavage des mains

-Soluté Hydro-Alcoolique

-Port de gant

4 Prélèvement

- Ecouvillonner avec **1 Eswab rose** au niveau de la localisation indiquée :
 - **Staphylococcus aureus** : nez, gorge, aisselle, ...
 - **SARM** : nez, gorge, aisselle, ...
 - **BLSE** : anus (Vérifier la présence de matières fécales sur l'écouvillon)
 - **BHR (EPC / ERV)** : anus (Vérifier la présence de matières fécales sur l'écouvillon)



Ouvrir le tube, déposer l'écouvillon, le casser au niveau du point de rupture (ligne colorée), revisser le bouchon pour fermer le tube et agiter

5 Identification

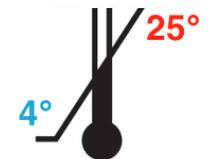
ETIQUETTE PATIENT	
Nom :	-----
Nom jeune fille :	-----
Prénom :	-----
Né(e) le : / /	Sexe <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F



Indiquer : la localisation sur l'écouvillon

6 Transmission

< 24H



CATHETER

Suspicion clinique : fièvre, signes locaux inflammatoires, signes indirects(sepsis après perfusion sur le cathéter, dysfonction du cathéter
complications : état de choc, thrombophlébite, endocardite, amélioration clinique rapide après le retrait du cathéter (24 heures)

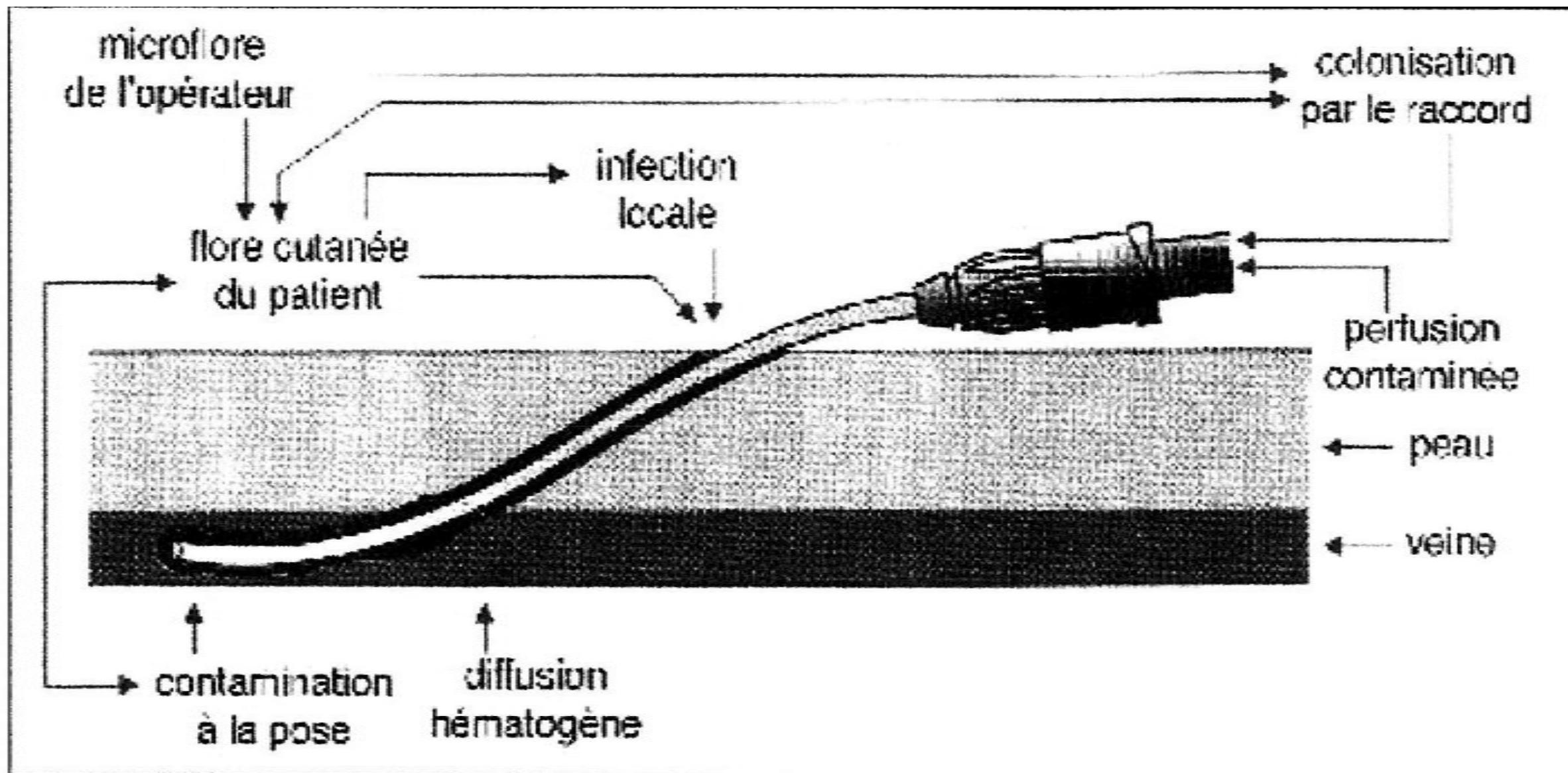
4 mécanismes d'infection

- ◆ colonisation par voie cutanée (pose/ insertion)
- ◆ contamination endoluminale (manip raccords)
- ◆ contamination voie hématogène (bactériémie)
- ◆ contamination solution perfusée

Temps colonisation

- ◆ extraluminaire courte durée 7 à 20 j
- ◆ endoluminaire durée prolongée > 15-30 j

SCHEMA CATHETER



MICROBIOLOGIE CATHETER

Confirmation microbiologique

- ◆ Cathéter en place : hémocultures et culture à partir du site d'insertion
- ◆ Cathéter retiré : culture du cathéter

Résultat indiquera

- ◆ Colonisation ou pas du KT
- ◆ Seuil technique significatif (Brun Buisson) $\geq 10^3$ UFC/ml
- ◆ Interprétation pour les BFLC
- ◆ Présence germes pathogènes même s'il n'y a pas colonisation du KT

DEFINITIONS

Colonisation

Croissance d'une bactérie pathogène à un seuil non significatif ($<10^3$ ufc/ml) sans signe clinique d'infection et hémocultures périphériques stériles

Infection locale (non bactériémique)

Culture du cathéter positive ($\geq 10^3$ ufc/ml)

Signes inflammatoires locaux (purulence à l'orifice ou tunellite)

Régression des signes infectieux dans les 48 heures suivant l'ablation

Hémocultures stériles

Septicémie liée au cathéter

Association d'une bactériémie/fongémie (BFLC)

Survenant dans les 48h encadrant le retrait du cathéter ou

Associée à un suspicion diagnostique d'infection de cathéter (si celui-ci n'est pas retiré d'emblée)

HEMOCULTURE

Plus le nombre de flacons est correct plus le % de + augmente

➤ 2 flacons 73%

➤ 4 flacons 90 %

➤ 6 flacons 98 %

Volume total de sang mis en culture est le paramètre le + important

➤ Adulte 30 à 40 ml (8 à 10 ml /flacon)

➤ Enfant fonction poids (0,5 ml à 6 ml)

Jamais dans le Cath sauf si immédiatement après la pose

20% bactériémies nosocomiales sont sur KT

Hémoc sur VVC sur prescription (pré purge 10 ml post rinçage 10 ml serum physio)

Attention prlvrt sur VVC augmente risque infectieux et risque perturber résultat

ATS alcoolique (Biseptine) + efficace, temps contact + court que Bétadine alcoolique ou Chlorhexidine alcoolique

Détersion : savon ATS (Biseptine ou Bétadine scrub) + eau

Rinçage : eau stérile

Séchage : compresse stérile 30 "

Antisepsie : en respectant temps contact préconisé (Bétadine alcoolique ou Chlorhexidine alcoolique)

PRELEVEMENT HEMOCULTURES

1 Recommandations



URGENT

Si possible avant l'instauration du traitement anti-infectieux

- Soigner l'hygiène (Désinfection matériel/Préleveur/Patient) pour éviter les contaminations
- Transmission rapide au laboratoire

2 Renseignements



- Date/Heure
- Anti-Infectieux:**
- Localisation :** Veine périph, KT, ...
- Pathologies associées :** immunodépression...
- Endocardigte**
- **Hémocultures appariées :** suspicion Inf sur matériel (KT,...)



3 Hygiène



PRELEVEUR

- Lavage des mains
- Soluté Hydro-Alcoolique
- Port de gant

PATIENT

- Désinfection en 4 temps



4 Prélèvement



Corps de
Pompe
spécial+ Ailette

Flacons



- Fréquence **1 seul** prélèvement /24h
- Nombre **4 ou 6** flacons Biomérieux
- BacT/Alert soit 2 ou 3FA (Aérobie)+2 ou 3 FN (Anaérobie)
- Volume **10 ml** de sang par flacon
- Ordres **FA** (vert) → **FN**(Orange) → Autre tube de sang

5 Identification



Coller ici
en
vertical

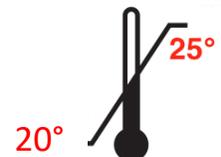


Ne pas coller
d'étiquette
Ne pas masquer

6 Transmission

URGENT

<12h



Prélèvement : Déroulement Standard

- 1  Hygiène Préleveur : Lavage des mains – Friction hydro-alcoolique – Port de gant
- 2  Préparer les flacons : A/ Vérifier la date de péremption B/ Contrôler le culot
C/ Retirer la capsule de protection D/ Désinfecter les bouchons E/ Laisser sécher 30 sec
- 3 Retirer l'adaptateur BacT/ALERT (corps de pompe) au dispositif de prélèvement (aillette). Visser à fond
- 4 Désinfection en 4 temps (selon les recommandations de l'établissement)
- 5 Pratiquer la ponction veineuse
- 6 Placer l'adaptateur d'abord sur le flacon aérobie (FA=Vert) ; Remplir jusqu'au trait de remplissage = 10ml
Procéder de la même façon pour les autres flacons de manière à prélever au total 2 à 3 paires de flacons aéro/ana.
- 7 Prélever les autres tubes de sang si nécessaire
- 8 Retirer le dispositif de prélèvement. Désinfecter à nouveau les bouchons des flacons
- 9 Identifier les flacons. **+++ ATTENTION au collage des étiquettes : suivre les recommandations +++**
- 10  Remplir le bon de demande en prenant soin de préciser :
Date et heure de prélèvement / signes cliniques : endocardite ?
Localisation du prélèvement = Voie veineuse périphérique, KT, ...
- 11  Acheminer le prélèvement au laboratoire le plus rapidement possible - < 12hT° ambiante

Prélèvement : Hémocultures différentielles

Hémocultures appariées

But = Savoir si l'infection est due au Dispositif Intra-Vasculaire (DIV = KT / PAC...)

MOYEN = Prélever des hémocultures sur voie veineuse périphérique et sur DIV en même temps puis voir si les hémococs sur DIV se positivent AVANT (<12h) les hémococs sur voie veineuse. Si c'est le cas, l'infection vient



1

PONCTION
VEINEUSE

1 Poche

1 Bon de demande

INDISPENSABLE

Indiquer distinctement sur le bon et les flacons : la localisation de chaque prélèvement



2

DISPOSITIF
INTRAVASCULAIRE
Pas de purge

2 Localisations
différenciées

Acheminement
En MEME Temps

SINON

INTERPRETATION IMPOSSIBLE

Prélèvement : Endocardite

1



2



3



+

+

> 1 Hr

> 1 Hr

24 HEURES



Préciser **impérativement** la notion d'endocardite sur le bon de demande (incubation prolongée au laboratoire)

ANTIBIOGRAMMES CIBLES

Nouvelles résistances entraînent prescription ATB à trop large spectre (plus fort) et donc favorise émergence résistances

Contexte clinique et résultats, liste limitée ATB adapté et non plus catalogue

ATB pertinents pour la cible en épargnant ATB critiques

En cas d'infection urinaire aiguë sans signe de gravité: *fosfomycine ou pivmécillinam, efficace et peu de résistance (Escherichia coli) voire nitrofurantoïne éventuellement Bactrim* But réduire la prescription C3G, Fluoroquinolones entraînent des résistances.

CE QU'IL FAUT RETENIR

1^{ère} question est celle de la **prescription** (savoir ce que l'on cherche, ce que l'on attend, pour quoi en faire)

Contexte clinique +++++

Prélèvement +++ au **bon moment, bonnes conditions, préanalytique +++** (mauvais prlvt peut entrainer erreur DG ou mise en place ttt non nécessaire ou inadapté)

Bien regarder les résultats et l'interprétation

ATBG ciblé pour éviter la pression de sélection

Dépistage BMR...précautions +++

Discuter avec son biologiste