Cette fiche technique a pour but de décrire aux préleveurs les indications/recommandations des principaux types de prélèvements microbiologiques, et les recommandations pré-analytiques, en particulier les conditions de recueil et de transmission au laboratoire.

Références :
DE-LBM 374 REMIC
Fiche SFM : gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de COVID-19

Documents reliés :
MO-LBM 008 Réception et traitement des prélèvements en microbiologie
FT-CLI 038 Quand et comment prélever des hémocultures ?
Manuel de prélèvements en ligne Viskali
Procédures d'hygiène et bonnes pratiques de laboratoire

1 ECBU

1.1 Quand prélever un ECBU ?

Tableau I. Contexte et indications de l'ECBU.

	Indications de l'ECBU	
	Examen de diagnostic	Examen de dépistage
Contexte Clinique	Cystite aiguë à risque de complication [a]	Grossesse [e]
	Douleurs lombaires et fièvre [b]	Chirurgie – biopsie prostatique
	Douleurs pelviennes [c] Signes généraux	Chirurgie urologique ou bilan urodynamique
	Hyperthermie isolée [d] Troubles digestifs [d]	Chirurgie de hanche post-traumatique du sujet âgé [f]
	Tableaux cliniques sans symptomatologie urinaire au premier plan [d]	

a en présence d'une pathologie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire ou dans un contexte pathologique particulier, chez les hommes, les enfants, les femmes de plus de 65 ans avec co-morbidité ou en présence d'un terrain physiologique particulier (grossesse, cystite récidivante).
b évoquant une pyélonéphrite aiguë.
c chez l'homme, évoquant une prostatite.
d chez le nourrisson et le jeune enfant.
e confirmation d'une colonisation urinaire gravidique lorsque la BU est positive en leucocytes ou nitrites, ou lors du dépistage à la première consultation de suivi de grossesse, puis mensuel (à partir du 4ème mois) chez les femmes à haut risque d'infection urinaire gravidique, ou lors de cystite aigue de la femme enceinte.
f le dépistage des colonisations urinaires avant arthroplastie de hanche ou de genou n'est plus recommandé, excepté lors d'une chirurgie de hanche dans un contexte d'urgence chez le patient âgé.

Ne pas prélever sur le seul argument d'urines malodorantes et/ou foncées.

1.2 Recueil

L'urine, normalement stérile, peut être contaminée lors de la miction par la flore commensale qui colonise l'urètre et les organes génitaux externes. Un bon recueil limite cette contamination par une toilette soigneuse et s'effectue au milieu de la miction après élimination du premier jet ; si possible, il est fait sur les premières urines du matin (après quelques heures sans miction).

La technique du prélèvement doit être soigneusement expliquée au malade. Elle comporte :

- une toilette des organes génitaux externes détaillée dans la procédure de soins infirmiers,
- le recueil, effectué par la méthode de « milieu de la miction » dans un flacon stérile muni d'une canule intégrée ;
- Dès l'émission, remplir, un tube de CYTOLOGIE (tube conique bouchon jaune/rouge) et un tube BACTERIOLOGIE (bouchon kaki). Veiller à respecter les volumes préconisés par le fournisseur (abaques min et max visibles sur les tubes). Si le volume d'urine est inférieur au minimum préconisé ou supérieur au maximum préconisé, une non-conformité sera créée et le prélèvement ne sera pas traité.
- Homogénéiser les tubes par retournements. Les identifier avec une étiquette CHB.
- Jeter le flacon.
- Les fiches techniques du fournisseur indiquent une stabilité de l'échantillon : du tube cytologie de 72h ; du tube bactériologie de 48h.
  Le REMIC indique que « l'utilisation de milieux de conservation (acide borique par exemple) bloquant la multiplication microbienne et réduisant la cytolyse permet la conservation des microorganismes à température ambiante pendant 48h. Cependant, le non-respect des proportions volume d'urine et conservateur peut conduire à une inhibition bactérienne ». Un tableau de la même page du REMIC propose cependant un délai acceptable de 24h pour la conservation des bactéries et levures avec milieu de transport et de 12h pour la cytologie (« si la valeur des leucocytes est inférieure au seuil décisionnel, prévoir éventuellement un commentaire pour l'interprétation de l'ECBU »).
  Etant donné l'ensemble de ces préconisations, le laboratoire accepte de traiter les urines jusqu'à 48h à température ambiante après prélèvement, avec le commentaire d'interprétation suivant : « attention : si délai de transmission compris entre 12 et 24h : risque d'altération cytologique des hématies et des éléments nucléés ; si délai de transmission > 24h : s'ajoute le risque de destruction des micro-organismes ».
- Dans un contexte infectieux nécessitant un examen rapide pendant le week-end, le prélèvement est à transmettre au Laboratoire de Bactériologie du CHU.

Le recueil itératif par sondage évacuateur est à éviter dans la mesure du possible car il constitue un risque d'infection. Il doit respecter le protocole défini par le CLIN : il ne faut en particulier jamais renouveler une tentative infructueuse avec la même sonde.

Chez un patient porteur d'une sonde à demeure, effectuer une ponction directe sur le site de prélèvement de la sonde selon les règles du protocole défini par le CLIN ; en particulier, **ne jamais prélever dans le sac collecteur**.

2 Coproculture

A partir de matières fécales émises dans un récipient propre, transférer, dans un flacon à coproculture de 100 ml, avec étiquette d'inviolabilité, la valeur de quelques grammes de selles à l'aide d'une spatule.

Un fragment purulent muqueux ou sanglant est choisi lorsqu'il en existe. Attention à bien refermer le pot après le recueil.

Pour une demande d'examen de parasitologie, prévoir 2 flacons : le flacon « frais » et un second flacon MIF, à demander au laboratoire au préalable, et remplir le bon CHU adéquat.

Identifier les flacons avec les étiquettes du patient.

3 Ecouvillons rectaux et recherche de BMR

Acceptation de l'échantillon : Matière fécale visible sur l'écouvillon

Identifier avec étiquette patient.

4 Prélèvements génitaux

4.1 Chez la femme

En toute rigueur, il nécessite la pose d'un spéculum sans lubrifiant ni antiseptique.

Selon les indications, prélever :

- Pour les culs de sac vaginaux et exocol : **3 écouvillons stériles avec conservateur**.
- Pour l'endocol : 2 **écouvillons stériles avec conservateur**.

Identifier chaque prélèvement avec les étiquettes de la patiente.

Pour les recherches de mycoplasmes, chlamydiae, HSV, il est nécessaire de se procurer auprès du laboratoire des flacons spéciaux (milieu de transport) et d'écrire explicitement sur la prescription la demande de mycoplasme, chlamydiae et/ou HSV sur la feuille de demande.

4.2 Chez l'homme

Le prélèvement urétral est abandonné au profit du 1er jet urinaire (urine de la nuit ou au moins 2h après la dernière miction). En cas d'écoulement constaté, recueillir celui-ci sur un écouvillon stérile avec conservateur. Identifier avec étiquette patient.

4.3 Recueil d'un écoulement spontané

En cas d'écoulement constaté, recueillir celui-ci sur 3 écouvillons stériles avec conservateur. Identifier avec étiquette patient.

5 Expectoration et ORL

Eviter, dans la mesure du possible la contamination par la salive ou les sécrétions des voies respiratoires supérieures : en effet, >50% des expectorations sont contaminées par salive ➔ c'est pourquoi les indications à retenir sont: échec de traitement empirique, diagnostic de surinfections de bronchite.

Le recueil se fait dans un flacon stérile, identifié avec une étiquette-patient.

Attention à bien refermer le pot après le recueil.

Expectoration spontanée : le recueil des crachats doit être fait si possible, le matin au réveil du malade, après brossage des dents, rinçage de la bouche et gargarisme avec un liquide aseptique si possible avec kiné.

Au cours d'une bronchoscopie (acte médical) **:** aspiration bronchique à l'aide d'un cathéter protégé.

Ponction transtrachéale (acte médical) **:** ce mode de prélèvement est effectué comme le précédent en milieu hospitalier sous anesthésie locale. Assez traumatisant pour le malade, son emploi reste limité aux pneumopathies graves.

Tubage (acte infirmier) **:** le tubage gastrique doit se faire en respectant les règles décrites dans la procédure de soins infirmiers.

BK : Les recherches de BK sont transmises au laboratoire de bactériologie du CHU. Un flacon spécifique est nécessaire, accompagné du formulaire de demande d'examen de ce laboratoire.

Cas particulier des prélèvements de salive pour protocole URC
Utiliser les écouvillons fournis par l'URC. Prévenir l'unité de recherche clinique au 2496 pour la récupération et l'envoi des échantillons.

6 Gorge

6.1 Quand prélever ?

En cas d'aplasie: 1 fois/semaine
Pour tout autre cas, préciser le contexte clinique : angine, bilan de suspicion d'IST,…

6.2 Prélèvement

Matériel : 1 écouvillon stérile avec conservateur

Écouvillonnage des amygdales ou, en leur absence, des piliers du voile du palais

Ecouvillonnage des ulcérations, exsudats, fausses membranes, si présents.

Remettre l'écouvillon dans son étui en prenant soin de ne pas toucher le bord du tube.

Identifier l'écouvillon avec une étiquette-patient.

7 Fosses nasales

Matériel : 1 écouvillon stérile avec conservateur

Ouverture de l'écouvillon.

Demander au patient de respirer très calmement.

Introduire avec délicatesse l'écouvillon dans la narine, assez profondément pour atteindre les choanes.

Remettre l'écouvillon dans son étui en prenant soin de ne pas toucher le bord du tube.

Identifier l'écouvillon avec une étiquette-patient.

8 Lésions et suppurations cutanées

Au préalable, une détersion au sérum physiologique de la zone à prélever et éventuellement une désinfection des zones proximales sont nécessaires.

Selon les cas, réaliser une biopsie de la lésion ou cureter le bord actif de la lésion et placer le prélèvement dans un flacon stérile.
Possibilité d'ajouter quelques gouttes de sérum physiologique dans le flacon **SAUF** si demande de PCR: ne rien ajouter.

Eventuellement, aspirer à l'aiguille fine le liquide inflammatoire produit pas la lésion.

Identifier avec étiquette-patient.

L'écouvillonnage n'est pas une procédure adéquate et doit être évité autant que possible (si réalisé : il est préférable de faire 2 écouvillons).

9 Prélèvement sur cathéter ou CIP

Ecouvillon du point d'insertion du cathéter ➔ seulement si aspect purulent ou inflammatoire, en complément des hémocultures différentielles

Au retrait : Envoi en microbiologie uniquement si suspicion d'infection

Identifier avec étiquette-patient.

10 Ponction

10.1 LCR

Le prélèvement est effectué par un clinicien qui transfère dans **3 tubes stériles conique à jupe (bouchon rouge), 0.5 ml/tube, sans anticoagulant: 1 bioch, 2 bactério, 3 cyto**

En cas de demande spécifique: prélever si possible 0.5 mL/demande supplémentaire dans un nouveau tube stérile conique à jupe.

Identifier avec étiquette-patient.

LCR à remettre en **main propre** à un membre du personnel du laboratoire pour assurer une prise en charge rapide et à transporter dans une pochette rouge pour distinguer le bilan urgent.

Les recherches de BK sont transmises au laboratoire de bactériologie du CHU. Un flacon spécifique est nécessaire, accompagné de la pochette de demande d'examen de ce laboratoire.

10.2 Autre ponction

Le prélèvement d'une ponction est un acte médical réalisé par un praticien expérimenté.

Prélever en conditions d'asepsie chirurgicale 1 flacon stérile conique à jupe (bouchon rouge), ± tube EDTA, ± paire d'hémocultures.

Identifier avec étiquette-patient.

11 Collection close

Prélever à la seringue et en asepsie.
Identifier avec étiquette-patient.

12 Poche de CGR ou plaquettes en cas de choc transfusionnel

Faire un nœud pour éviter le refoulement du sang du patient.

Cocher et renseigner tous les éléments cliniques constatés sur la feuille de déclaration de choc transfusionnel.
Identifier avec étiquette-patient.

13 Généralités concernant les renseignements cliniques

Noter le type de prélèvement.
Apporter le plus de précisions possibles à la demande :

- le site de ponction
- l'aspect du site de ponction
- la température du patient
- la prise d'antibiotique et/ou antifongique
- le contexte clinique
- recherches spécifiques
- pour la coproculture : notion de retour d'un pays infesté + notion de voyage récent
- pour la recherche de BMR/BHR : patient connu (préciser le type de BMR/BHR), patient contact BHR (préciser le type de BHR), patient de retour de réanimation, recherche spécifique d'un type de BMR ou BHR
- ...

14 Transmission des prélèvements

Un **examen urgent** est à remettre en **main propre** à un membre du personnel du laboratoire pour assurer une prise en charge rapide.

Nature de prélèvement	Conditions de transmission optimales	Conditions de transmission acceptables
Hémoculture	24h, t° ambiante	36h, t° ambiante (validation fournisseur)
Coproculture	24h, 2 à 8°C (validation données CHU Rouen)	48h, 2 à 8°C (validation données CHU Rouen)
ECBU	12h, t° ambiante	48h, t° ambiante
Gorge	24h, t° ambiante	/
Cutané	Biopsie : 2h, t° ambiante Ecouvillon : 24h, t° ambiante	/
LCR	Sans délai, t° ambiante	2h, t° ambiante
Respiratoires	2h, 2 à 8°C	24h, 2 à 8°C
Dispositifs intra-vasculaires	4h, 2 à 8°C	24h, 2 à 8°C
Génitaux	24h, t° ambiante (état frais : 2h, t° ambiante)	48h, t° ambiante (état frais : 2h, t° ambiante)
Collections closes	4h, t° ambiante	24h, 2 à 8°C
Ecoulements, liquides ascite, péritonéaux, pleuraux, péricardiques, dialyse	4h, t° ambiante	24h, 2 à 8°C
Poche	2h, t° ambiante	24h, 2 à 8°C
Ecouvillon BMR/BHR	24h, t° ambiante	/
Osseux maxillo-facial	Sans délai, t° ambiante	2h, t° ambiante

DES QUE POSSIBLE