

Modalités de Prélèvements en Bactériologie

1. Objectifs :

Les principaux objectifs des analyses de microbiologie médicale sont de :

- ❖ **Mettre en évidence et d'identifier** les microorganismes pathogènes et de mesurer leurs sensibilités aux antibiotiques ;
- ❖ **Détecter la persistance ou le portage** (colonisation) de bactéries, soit parce qu'elles sont multirésistantes aux antibiotiques, soit en raison de leur pouvoir pathogène. Cette utilisation particulière de l'analyse microbiologique est destinée à prévenir la dissémination de ces bactéries au patient lui-même ou à des sujets réceptifs (rôle dans la prévention des infections nosocomiales) ;
- ❖ **Etudier les modifications du micorbiote** des patients, ou bien l'épidémiologie d'un service clinique à l'occasion de protocoles épidémiologiques bien déterminés.

2. Fiche de renseignement :

Les prélèvements pour analyse bactériologique doivent être effectués **sur prescription médicale**. Une ordonnance et une fiche de renseignement **doivent toujours accompagner le prélèvement**.

Elles doivent comporter :

- Le nom et la qualité du prescripteur ;
- L'identité du malade (nom, prénom, sexe, date de naissance) doit être précisée. Éventuellement doivent être indiqués : le numéro d'identification, la date d'hospitalisation ou de transfert dans d'autres établissements ;
- L'analyse microbiologique doit être prescrite clairement sur l'ordonnance. **La nature exacte de l'échantillon biologique**, son origine anatomique et son mode de recueil (exemple : urine sur sonde) doivent être décrits ;
- Le but de l'analyse doit être explicité: diagnostic étiologique d'une infection, recherche de colonisation en vue de la prévention d'infection nosocomiale ou maternofoetale, choix ou poursuite d'une thérapeutique, suivi sous traitement, contrôle après traitement, ou recherche d'une modification de la flore commensale ayant une incidence sur la prise en charge du malade ou comportant un risque pour son entourage ;
- Les renseignements utiles à la qualité de l'analyse et à la validation des résultats sont nécessaires : recherche de microorganismes particuliers ;état physiologique du malade ; séjour en pays d'endémie ;

- Le degré d'urgence du prélèvement et de l'analyse doit également être mentionné.

Exemple de fiche de renseignement pour suppurations

Service clinique :

Hospitalisation ☐

Consultation ☐

Date du prélèvement :

Nom :

Prénom :

Age :

Sexe : masculin ☐ féminin ☐

Site :

Nature du prélèvement :

Seringue : ☐

Ecouvillon : ☐

Autre :

Signes cliniques :

Antibiothérapie actuelle

Oui ☐

non ☐

Modalités de l'antibiothérapie :

Analyse bactériologique antérieure :

Oui ☐

non ☐

Site :

Bactérie isolée :

Antibiogramme (particularités)

3. Exécution du prélèvement :

3.1. La façon de réaliser le prélèvement dépend de l'objectif de l'analyse:

Les méthodes de prélèvement dépendent de l'objectif de l'analyse, de la localisation anatomique de l'infection, de la nature des bactéries recherchées et des méthodes analytiques utilisées par le laboratoire de microbiologie.

❖ Prélèvements à visée diagnostique :

Les prélèvements invasifs : sont réalisés lorsque l'infection est localisée dans un site anatomique profond. Ex : liquides de ponction ;

Les prélèvements non invasifs : sont d'obtention aisée. Ex : urines, selles.

Pour le diagnostic spécifique de certaines infections bactériennes, on recourra plus volontiers au **sérodiagnostic ou séologie**. La sérologie vise à **déceler et/ou à quantifier la présence des anticorps spécifiques** produits par l'organisme en réponse à l'infection bactérienne.

Les anticorps sont surtout recherchés dans **le sang** mais peuvent également être décelés dans d'autres liquides : **LCR, liquide articulaire**.

Il s'agit de la recherche de bactéries dont la culture est difficile ou impossible. Ex : *Chlamydia pneumoniae*, *Leptospira* spp, *Treponema pallidum*.

❖ Les prélèvements destinés à prévenir la survenue d'infections nosocomiales :

Dans ce cas, les prélèvements les mieux adaptés sont **des écouvillonnages** de la peau, des muqueuses et de plaies pour lesquels les bactéries recherchées sont nommément désignées.

❖ Les prélèvements destinés à connaître la flore résidente ou les modifications de flore d'un service hospitalier :

Un protocole particulier doit être mis en place au cas par cas avec les cliniciens et les hygiénistes.

3.2. Moment du prélèvement :

Les prélèvements doivent être effectués **avant toute prise d'antibiotiques** et dès le début du processus infectieux.

En cas d'échec d'un traitement préventif ou curatif institué sans analyse microbiologique préalable **une fenêtre thérapeutique** doit être observée.

3.3. Le site du prélèvement :

Le site anatomique le plus approprié est généralement **le foyer infectieux initial** lui-même et **ses localisations secondaires**.

Les prélèvements de la porte d'entrée, des voies d'excrétion ou d'évacuation de l'infection (fistule, drainage) peuvent également être réalisés.

3.4. Une quantité suffisante d'échantillon est nécessaire pour une analyse complète :

Une trop petite quantité d'échantillon **ne permet pas toujours** au laboratoire de réaliser de façon satisfaisante les examens microscopiques et les cultures appropriés. Des volumes insuffisants peuvent donc donner lieu à des résultats faussement négatifs.

3.5. Les méthodes de prélèvement :

Les prélèvements seront réalisés avec **du matériel stérile** à usage unique, selon **les règles d'hygiène et d'asepsie appropriées**. Les techniques de prélèvement dépendent du type de lésion.

✓ **Les prélèvements invasifs** : sont les mieux interprétables :

- **Sang périphérique** : prélèvement par ponction veineuse franche au pli du coude pour hémoculture ou sérologie. Le sang est recueilli sur **tube à hémolyse** (sérologie) ou dans des **flacons d'hémoculture** (hémoculture).
- **Les liquides de ponction** (céphalorachidien, articulaire, péricardique, ascite), le cathétérisme, Il est souvent utile de compléter ces prélèvements par des hémocultures.

Exécution d'une ponction lombaire



✓ **Les prélèvements non invasifs :**

Les urines, les selles, les écouvillonnages (plaies et suppurations) ,
expectorations, prélèvements de la sphère ORL (pharyngé, auriculaire, sinusal...).

Écouvillon



3.6. La contamination des prélèvements :

Des précautions particulières doivent alors être prises pour éviter la contamination du prélèvement par les bactéries commensales et a fortiori par les bactéries de l'environnement. Ces flores peuvent inhiber la multiplication in vitro des bactéries pathogènes ou être prises à tort pour des agents pathogènes opportunistes.

Afin de réduire au maximum l'interférence de ces flores, trois stratégies sont utilisées :

- Protéger le dispositif de prélèvement. Ex : utilisation de brosses ou de cathéters télescopiques.
- Détruire le plus efficacement possible cette flore commensale : utilisation des **antiseptiques** sur la peau et les muqueuses;
- Utiliser des conditions de culture inhibant en partie la flore commensale. Ex : utilisation de **milieux sélectifs** (coproculture par exemple).

3.7. Les récipients contenant les échantillons :

Des récipients **stériles** à usage unique et **étanches** sont utilisés pour contenir les échantillons. Chaque récipient doit être **identifié par une étiquette** comportant au minimum le nom, le prénom du malade, ainsi que la date et l'heure du prélèvement, la nature de l'échantillon et le site anatomique du prélèvement. Le récipient sera transporté dans un sac plastique fermé hermétiquement, comportant un compartiment séparé pour la prescription.

Récipients propres pour le recueil des selles (coproculture)



Récipient stérile pour le recueil du LCR



Flacons d'hémoculture



3.8. Délai de transport et conservation des échantillons :

En règle générale, les bactéries **ne résistent pas à la dessiccation et au froid**. Les petits échantillons et les biopsies doivent être acheminés au laboratoire en moins de 2 heures, afin de préserver la survie des microorganismes les plus fragiles et d'éviter qu'ils ne soient inhibés par des bactéries plus résistantes à l'environnement extérieur.

Des milieux de transport doivent être utilisés dans le cas d'infections probablement causées par des bactéries fragiles, ou pour des délais de transport de plus de 2 heures.

3.9. Conservation des échantillons :

La conservation à + 4°C inhibe la multiplication bactérienne. Elle est, cependant, bien adaptée aux selles et aux urines.

En revanche, ce mode de conservation est controversé pour les échantillons d'origine pulmonaire qui peuvent contenir des **bactéries pathogènes fragiles**, telles que *Haemophilus influenzae*.

D'autres espèces bactériennes, telles que *Neisseria meningitidis* et

N. gonorrhoeae, sont classiquement considérées comme particulièrement **sensibles au froid**.

De même, les échantillons génitaux, oculaires, respiratoires, ou céphalorachidiens destinés à la culture des bactéries ne doivent pas être conservés à 4°C, mais à **température ambiante** (environ 20°C).

3.10. Les milieux de transport :

Ils sont destinés le plus souvent **au maintien de la viabilité des microorganismes** ou parfois à la conservation de l'intégrité de molécules microbiennes (ADN ou antigènes de surface).

Certains de ces milieux sont nécessaires à la recherche de bactéries nommément désignées, telles que les Chlamydia.

Les milieux de type **Stuart** conviennent pour maintenir la viabilité de la plupart des bactéries, y compris des anaérobies strictes. Ils empêchent la dessiccation, inhibent les radicaux libres oxygénés et limitent la croissance bactérienne.

3.11. Les transferts d'échantillons :

Certaines techniques d'analyse sont difficiles à maîtriser ou trop coûteuses lorsqu'elles ne sont pas pratiquées quotidiennement. **Elles nécessitent donc la mise en place d'une organisation d'acheminement rapide** des échantillons ou des cultures vers des laboratoires de référence.

L'emballage, la signalisation et le transport des échantillons de matériel infectieux doivent être effectués selon **les procédures légales nationales et internationales**. Ainsi sont assurés la sécurité des personnes et le maintien tant de la viabilité des microorganismes à cultiver que de l'intégrité de structures bactériennes à détecter.