JNI 16es Journées Nationales d'Infectiologie
Nancy et l'interrégion Est
du mercredi 10 au vendredi 12 juin 2015
Centre Prouvé
Grand Nancy Congrès & Événements

Prélèvements en infectiologie : Les préconisations Les erreurs à ne pas commettre

C. Delamare

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 ☐

	OUI	NON
Consultant ou membre d'un conseil scientifique : Gilead	☑	☐
Conférencier ou auteur/rédacteur rémunéré d'articles ou documents	☐	☑
Prise en charge de frais de voyage, d'hébergement ou d'inscription à des congrès ou autres manifestations : Astellas, MSD, ViiV	☑	☐
Investigateur principal d'une recherche ou d'une étude clinique	☐	☑

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

- **Temps**
  - < 30 mn
  - 18-72 h
  - Quelques minutes
  - 40 mn à 2 h
  - Quelques minutes

- **Diagnostic indirect**
  - Réaction immunitaire témoignant de la multiplication d'un agent pathogène
    - Anticorps (sérologie) : tous les jours

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

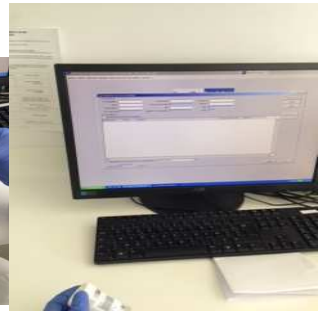
- Exigences de la norme NF ISO 15189
- Soit une ordonnance médicale soit un document électronique dématérialisé (prescription connectée)
- Identification du prescripteur et du service
- Identification du patient (nom, prénom, sexe, date de naissance)
- Analyse microbiologique demandée
- Nature de l'échantillon, 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

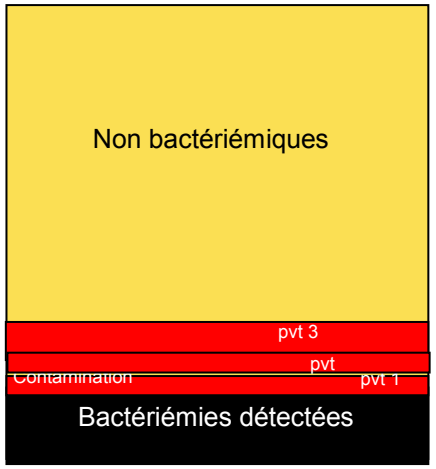
Au dessus de 6 flacons :
la sensibilité n'est pas meilleure

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

Pour une sensibilité≥ 95%

La répétition des prélèvements augmente le taux de contamination

Patients prélevés



Patients associés à un résultat positif

3 prélèvements de 2 flacons

50% de contaminants

Patients associés à un résultat positif

1 prélèvements de 6 flacons (40 à 60ml sang)

10-15 % de contaminants

Amélioration de la valeur prédictive d'un résultat positif

Hémocultures : quand prélever?
Difficultés de détection d'une bactériémie

La concentration de micro organismes
est faible et variable
dans le temps

La fièvre n'est pas un bon marqueur
de la présence
de micro organismes

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 destine a la cytologie et chimie
Tube 2 : 1 ml destine a la bacteriologie
Tube 3 : 0,5 ml destine 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, péritonéal, ascite, péricardique, Kyste, paracentèse)

Prélèvement/Recueil

Acte médical

- Prélèvement par ponction dans des conditions d'asepsie rigoureuse pour éviter une contamination par la flore commensale cutanéo-muqueuse

-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)

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 cytobacteriologique 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 1er 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 a 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

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% secrétions 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, histoplasmose et mycose
- **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 a 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 secrétions telles que au laboratoire pour la recherche d'antigènes et PCR < 4h sinon utiliser un milieu de transport spécifique entre 2 et 8° C

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 ± 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)

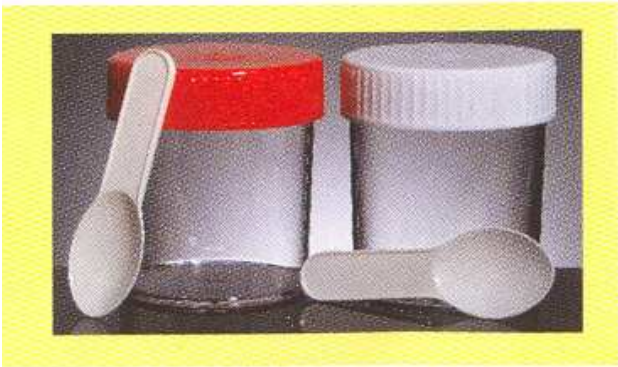
Les erreurs à ne pas commettre

- 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

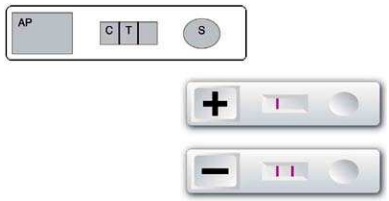
- 10^{12} bactérie/g de selles
- 400 espèces avec prédominance d'anaérobies
- 5 à 10% entérobactéries



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

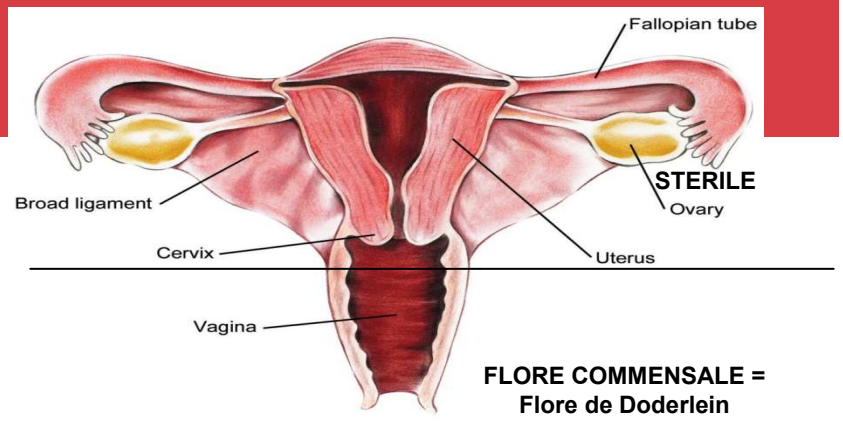
Infections uro génitales et IST

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'arret 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*, *Bacteroïdes*
  - *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- 1er jet d'urine (*Neisseria gonorrhoeae, C. trachomatis, Mycoplasma génitalium* 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. génitalium, uréaplasma spp, Trichomonas vaginalis)*

Chez l'homme

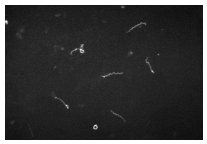
•Recueil de l'écoulement du méat urétral de préférence le matin avant toute émission d'urines et au moins 2 heures après la dernière miction

•Avant le 1er jet d'urine

Chez la femme

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

3- prélèvement d'ulcerations 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

ransmission < 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 anuscopie

- 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 *Streptoccocus agalactiae***
   Niveau vaginal inferieur
   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 chorioammniotique 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

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

Transmission : < à 2 heures à + 20° C si pas de milieu de transport

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 occulaire

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 être ensemencés 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 oxybuprocaïne 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