



**Manuel de prélèvement :
recommandations particulières :
microbiologie**

1. LES HEMOCULTURES	2
A. LE VOLUME DE PRELEVEMENT	2
B. CONTAMINATION DU PRELEVEMENT	2
C. HEMOCULTURES FONGIQUES OU SUSPICION D'ENDOCARDITE	2
2. LES URINES	2
A. CYTOLOGIE URINAIRE	2
B. HLM (HEMATIES – LEUCOCYTES – MINUTES OU COMPTE D'ADDIS)	3
C. ECBU : EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES	3
D. ECBU : PRELEVEMENT SUR SONDE	3
E. PRELEVEMENT PAR CATHETERISME URETERAL	4
F. ECBU : PRELEVEMENT SUR COLLECTEUR	4
3. LES SELLES	4
4. LES EXPECTORATIONS	5
5. PRELEVEMENTS POUR LA RECHERCHE DE VIRUS RESPIRATOIRE	5
6. LES MATERIELS	5
7. PCR CHLAMYDIA TRACHOMATIS ET GONOCOQUE	6

 <p>Groupe Hospitalier Artois-Ternois CENTRE HOSPITALIER D'ARRAS</p> <p>Laboratoire de Biologie Médicale</p>	<p>Fiche d'instructions</p> <p>Manuel de prélèvement : recommandations particulières : microbiologie</p>	<p><i>Code</i> : FI-PREA-28</p> <p><i>Version</i> : 03</p> <p><i>Date</i> : 02/12/2021</p> <p><i>Page</i> : 2 / 6</p>
--	---	---

1. Les hémocultures

Cf. procédure institutionnelle **DQGDR - EN – 1932** « Bonnes pratiques de prélèvement » (affichée dans les services)

a. Le volume de prélèvement

L'ensemencement des flacons à hémocultures nécessite de respecter un volume de sang déterminé

- **10 mL** de sang pour les flacons aérobie et anaérobie adultes
- **Volume à adapter** selon poids de l'enfant pour les flacons pédiatriques (cf. tableau **DQGDR - EN – 1932**)

Des graduations sont présentes sur les étiquettes pour aider le préleveur à évaluer le volume de sang inséré dans le flacon.

Pour les flacons adultes, l'automate mesure le volume de sang présent dans les flacons.

Dans tous les cas, les hémocultures sont prises en charge par le laboratoire mais un volume de sang incorrect diminue la fiabilité de l'examen.

b. Contamination du prélèvement

En l'absence de critère clinique évocateur (dispositif intra-vasculaire, endocardite, aplasie) et en cas d'une seule série (1 ou 2 flacons) positive à :

- Staphylocoque à coagulase négative
- Streptocoque non hémolytique
- Corynébactéries
- *Bacillus*,

le germe est considéré comme contaminant, ce qui implique la non réalisation de l'identification d'espèce et de l'antibiogramme.

Le commentaire suivant est ajouté sur les résultats : « *Présence d'un germe évoquant la contamination probable du prélèvement. Résultat à interpréter en fonction de la clinique et de l'asepsie du prélèvement. Si le contexte clinique le justifie, l'antibiogramme peut être réalisé sur demande au laboratoire.* »

c. Hémocultures fongiques ou suspicion d'endocardite

En cas de recherche de levures ou d'endocardite infectieuse, le contexte doit être précisé sur la prescription afin que l'incubation des flacons soit prolongée à 14 jours (au lieu de 5 habituellement).

2. Les urines

a. Cytologie urinaire

La cytologie urinaire comporte uniquement la numération des éléments présents dans l'urine. Il n'y a pas de mise en culture.

Recueillir l'urine dans un récipient parfaitement propre. Homogénéiser l'échantillon par retournement.

Transvaser un échantillon dans un tube à bouchon  et le transmettre au laboratoire.

 <p>Groupe Hospitalier Artois-Ternois CENTRE HOSPITALIER D'ARRAS</p> <p>Laboratoire de Biologie Médicale</p>	<p>Fiche d'instructions</p> <p>Manuel de prélèvement : recommandations particulières : microbiologie</p>	<p><u>Code</u> : FI-PREA-28</p> <p><u>Version</u> : 03</p> <p><u>Date</u> : 02/12/2021</p> <p><u>Page</u> : 3 / 6</p>
--	---	---

b. HLM (Hématies – Leucocytes – Minutes ou compte d'Addis)

Tôt le matin, se lever, vider la vessie et jeter les urines. Boire un grand verre d'eau, se recoucher (de préférence pendant 3 heures, il est impératif de noter la durée) puis se lever. Vider la vessie en recueillant la totalité des urines dans un récipient parfaitement propre. Mesurer le volume des urines recueillies. Homogénéiser

l'échantillon par retournement. Transvaser un échantillon dans un tube bouchon  à transmettre au laboratoire en notant la durée et le volume du recueil.

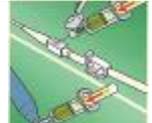
c. ECBU : examen cyto bactériologique des urines

Après une toilette soignée au savon de la région vulvaire chez la femme ou du méat chez l'homme, suivi d'un rinçage, éliminer le 1^{er} jet d'urine pour ne recueillir que la fraction suivante dans un pot stérile à bouchon bleu en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient, puis suivre la procédure décrite ci-dessous.

Transmettre au laboratoire uniquement les tubes  ET  et éliminer le pot bleu de recueil avec les DASRI.

	<p>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</p>
	<p>2/ Homogénéiser le pot. Soulever l'opercule autocollant protecteur jaune (ne pas l'enlever). Insérer le tube vacutainer (bouchon vert kaki, rouge /jaune) au niveau de l'orifice et percuter le bouchon</p>
	<p>3/ Attendre le remplissage complet des tubes, les retirer et l'homogénéiser par 8 à 10 retournements afin d'assurer une bonne dissolution de l'additif dans l'échantillon</p>
	<p>4/ Replacer l'opercule autocollant protecteur jaune sur l'orifice du couvercle. Identifier les tubes et les transmettre au laboratoire</p>

d. ECBU : prélèvement sur sonde

	<p>1/ Clamper la tubulure (A). Désinfecter le site de prélèvement de la sonde selon le protocole (B)</p>
	<p>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)</p>
	<p>3/ Introduire le tube à fond dans le corps de prélèvement et attendre le remplissage complet du tube avant de le retirer</p>

 <p>Groupe Hospitalier Artois-Ternois CENTRE HOSPITALIER D'ARRAS</p> <p>Laboratoire de Biologie Médicale</p>	<p>Fiche d'instructions</p> <p>Manuel de prélèvement : recommandations particulières : microbiologie</p>	<p><u>Code</u> : FI-PREA-28</p> <p><u>Version</u> : 03</p> <p><u>Date</u> : 02/12/2021</p> <p><u>Page</u> : 4 / 6</p>
--	---	---

	<p>4/ Homogénéiser l'échantillon par 8 à 10 retournements du tube et l'envoyer au laboratoire</p>
---	---

e. Prélèvement par cathétérisme urétéral

Il permet l'obtention d'urines provenant séparément du rein droit et du rein gauche. Après désinfection de l'extrémité de la sonde, on recueille quelques millilitres d'urines.

f. ECBU : prélèvement sur collecteur

Chez le nourrisson et le petit enfant, utiliser un collecteur stérile spécifique posé après désinfection soigneuse et laissé en place au maximum une ½ heure.

Chez l'adulte, en cas d'urétérostomie (sans sonde), après nettoyage soigneux de la stomie, on met en place un collecteur stérile.

Dès la miction terminée, ôter le collecteur et procéder de la façon suivante :

	<p>1/ Maintenir la poche verticalement et plonger la canule de transfert dans l'urine</p>
	<p>2/ Avec une main, maintenir la canule en place (A). De l'autre main, introduire à fond le tube dans le corps de la canule (B). Attendre le remplissage complet du tube</p>
	<p>3/ Homogénéiser l'échantillon par 8 à 10 retournements par tube</p>
	<p>4/ Transmettre l'échantillon au laboratoire</p>

3. Les selles



Utiliser le flacon remis par le laboratoire

Recueillir des selles fraîches et les transmettre rapidement au laboratoire.

Éviter toute thérapeutique intestinale (charbon, suppositoires, etc.).

Indiquer : notions de voyages, séjour outre-mer, cas groupés, NAC (nouveaux animaux de compagnies), vie en crèche pour les enfants...

Les examens parasitologiques des selles et la recherche de sang dans les selles doivent être effectués sur 3 échantillons de selles émises des jours différents.



4. Les expectorations



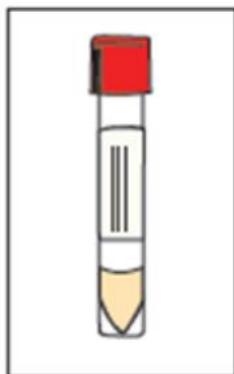
Le prélèvement consiste à collecter l'expectoration produite lors d'un effort de toux.

Il s'agit de mettre en évidence le germe en cause dans l'infection, en diminuant le plus possible l'influence de la flore salivaire toujours présente. Pour cela, les crachats doivent être recueillis :

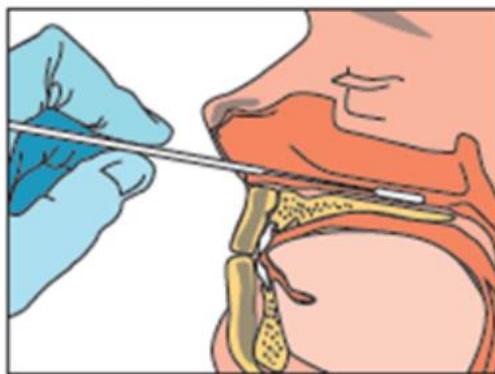
- Le matin au réveil si possible
- Dans un pot stérile : et non pas un « crachoir » présent au lit du malade, qui risque d'être contaminé
- Après un rinçage de la bouche avec de l'eau claire : pour éliminer la salive
- Dans un effort de toux profonde : afin de produire des mucosités et non de la salive.

5. Prélèvements pour la recherche de virus respiratoire, de la coqueluche (*Bordetella pertussis* et *B.parapertussis*) et de *Mycoplasma pneumoniae* ou *Chlamydia pneumoniae*

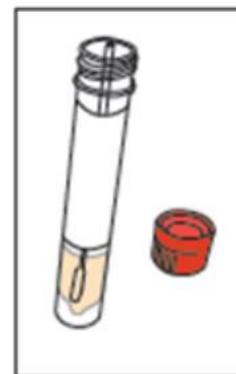
Echantillon : écouvillon nasopharyngé ou lavage/aspiration nasal(e)



1. Ecouvillon nasopharyngé Copan avec UTM (milieu de transport universel).



2. Insérer l'écouvillon dans une narine jusqu'au nasopharynx (comme indiqué sur le visuel) et le tourner pendant 15 secondes.



3. Casser l'écouvillon et l'insérer dans les 3 ml d' UTM. Fermer la cartouche.

Les écouvillons sont à commander au laboratoire comme tous les autres systèmes de prélèvements.

En cas de prélèvement réalisé sur d'autres écouvillons – les écouvillons secs bois/coton (bouchon rouge) ou les écouvillons avec milieu de Stuart dacron / plastique (bouchon blanc) – le test ne sera pas réalisé.

6. Les matériels (vis, clous, boîtier,...)



Les matériels à analyser sont à mettre dans un flacon stérile .

 <p>Groupe Hospitalier Artois-Ternois CENTRE HOSPITALIER D'ARRAS</p> <p>Laboratoire de Biologie Médicale</p>	<p>Fiche d'instructions</p> <p>Manuel de prélèvement : recommandations particulières : microbiologie</p>	<p><u>Code</u> : FI-PREA-28</p> <p><u>Version</u> : 03</p> <p><u>Date</u> : 02/12/2021</p> <p><u>Page</u> : 6 / 6</p>
--	---	---

7. PCR *Chlamydia trachomatis* et gonocoque

Pour les recherches dans les urines : prélever les urines sur tube marron (sans conservateur, tube identique que pour les examens de biochimie)

- Le patient ne doit pas avoir uriné pendant au moins 1 heure avant le prélèvement de l'échantillon.
- Les femmes ne doivent pas nettoyer la région des lèvres avant le prélèvement de l'échantillon. Les hommes ne doivent pas nettoyer l'extrémité du pénis avant le prélèvement de l'échantillon.
- Demander au patient de fournir le premier jet d'urine (environ 20 à 50 mL du début de la miction) dans un flacon de prélèvement d'urine, exempt de tout conservateur. Le prélèvement d'un volume d'urine plus important peut entraîner une dilution de l'échantillon susceptible de réduire la sensibilité du test.
- Mélanger l'urine dans le flacon.
- Transférer un échantillon dans un tube à bouchon marron
- Transmettre l'échantillon au laboratoire

Pour les recherche sur écouvillon : des écouvillons spécifiques doivent être commandés au laboratoire

- Ouvrez le kit de prélèvement d'échantillon
 - Pour les prélèvements endocervicaux, avant de prélever, il faut éliminer l'excès de mucus de l'orifice cervical et de la muqueuse environnante au moyen du grand écouvillon de nettoyage emballé individuellement. Ouvrez partiellement l'emballage de l'écouvillon de nettoyage et sortez l'écouvillon. Nettoyez l'orifice cervical et la muqueuse environnante puis éliminez l'écouvillon.
 - Ouvrez l'emballage qui contient le tube de réactif de transport d'écouvillon fermé par un bouchon rose et l'écouvillon de prélèvement emballé individuellement. Mettez le tube de côté avant le prélèvement.
 - Retirez le film de protection de l'emballage de l'écouvillon de prélèvement.
 - Sortez l'écouvillon en prenant soin de pas toucher son extrémité et en évitant de le déposer sur la pailleasse. Si l'extrémité souple a été touchée, si l'écouvillon a été déposé ou est tombé, utilisez un nouveau kit de prélèvement d'échantillon.
 - Insérez l'écouvillon de prélèvement dans le canal endocervical ou au niveau du site de prélèvement choisi en fonction des signes cliniques
 - Pivotez délicatement l'écouvillon en sens horaire pendant 10 à 30 secondes pour garantir un prélèvement adéquat.
 - Sortez délicatement l'écouvillon.
 - En tenant l'écouvillon dans la même main, dévissez le bouchon du tube de réactif de transport d'écouvillon.
 - Ne déversez pas le contenu du tube. Si le contenu du tube a été déversé, utilisez un nouveau kit de prélèvement.
- Déposez immédiatement l'écouvillon dans le tube de réactif de transport.
- Repérez la ligne de cassure sur la tige de l'écouvillon de prélèvement. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon contre le côté du tube au niveau de la ligne de cassure, puis éliminez la partie supérieure de la tige de l'écouvillon ; veillez à ne pas déverser le contenu.
 - Rebouchez le tube de réactif de transport d'écouvillon et serrez bien le bouchon.
 - Retournez le tube ou agitez-le délicatement 3 à 4 fois pour éluer le matériau de l'écouvillon. Évitez la formation de mousse.
 - Étiquetez le tube de transport avec les informations d'identification de l'échantillon
 - Transmettre l'échantillon au laboratoire

Si plusieurs prélèvements sont réalisés, chacun doit avoir son système de prélèvement : 1 seul écouvillon par milieu de transport.

Si plusieurs prélèvements sont réalisés par écouvillonnage, noter sur le tube le site prélevé.