



LABORATOIRE ALTISBIO

GUIDE DE PRELEVEMENT

Site d'Albi

1 Rue Père Colombier
81000 ALBI
Tél. : 05 63 77 78 90
Fax : 05 63 60 28 40

Site de Carmaux :

2 rue Bouloc Torcatis
81400 CARMAUX
Tél. : 05 63 54 40 81
Fax : 05 63 80 03 66

altisbio.com



Table des matières

I.	LISTE DES ANALYSES.....	4
A.	Recommandations particulières	4
1.	Analyses à réaliser à jeun	4
2.	Conditions pré analytiques particulières	4
3.	Renseignements particuliers à fournir	5
a.	Dosages médicamenteux	5
b.	Dosages thyroïdiens	5
c.	Pour les demandes d'analyses génétiques transmises à d'autres laboratoires.....	5
d.	Recueil de renseignements cliniques.....	5
4.	Éléments techniques particuliers à destination des préleveurs.....	6
a.	Bilans d'hémostase.....	6
b.	Gazométries artérielles	6
c.	Gazométries capillaires :	6
II.	MATERIEL.....	7
A.	Types de matériels disponibles.....	7
B.	Conditions de stockage et modalités d'approvisionnement.....	7
III.	FEUILLE DE PRESCRIPTION = ORDONNANCE	7
IV.	ETIQUETAGE DES SPECIMENS	7
A.	Prélèvement par du personnel autre que celui du laboratoire.....	8
B.	Prélèvement par le personnel du laboratoire	8
C.	Demandes de Groupes sanguins – RAI.....	8
V.	PRELEVEMENT SANGUIN	8
A.	Réalisation d'un prélèvement veineux	8
1-	Préparation pour le prélèvement.....	9
2-	Vérification de l'identité.....	9
3-	Gants et mise en place du garrot.....	10
4-	Choix du site et du matériel de ponction.....	10
5-	Désinfection du site de ponction, décapuchonnage de l'aiguille	10
6-	Réalisation de la ponction veineuse, introduction des tubes	11
7-	Retrait du garrot, retrait de l'aiguille et compression avec un coton propre, élimination du matériel utilisé, pose d'un pansement.....	11
B.	Recommandations particulières.....	12
1-	Prélèvements d'enfants.....	12
2-	Cas problématiques	12
3-	Prélèvements multiples et épreuves fonctionnelles.....	13
4-	Prélèvements de patients subconscients	13
C.	Conduite à tenir en cas d'AES.....	14



1-	Précautions universelles	14
2-	Conduite à tenir en cas d'Accident d'exposition au Sang	14
VI.	EPREUVES FONCTIONNELLES.....	15
A.	Test à la LH-RH	15
B.	Hyperglycémie provoquée par voie orale.....	15
C.	Hyperglycémie simplifiée	15
D.	Test de O'Sullivan (au cours de la grossesse).....	16
E.	Test au synacthène immédiat.....	16
F.	Test de freination au Dectacyl.....	16
G.	Test à la métopirone	16
VII.	PRELEVEMENTS DE BACTERIOLOGIE.....	17
VIII.	ACHEMINEMENT DES ECHANTILLONS.....	29
IX.	CONTROLES A RECEPTION DES ECHANTILLONS.....	29
X.	LES PROBLEMES DU LABORATOIRE DECOULANT D'UNE PHASE PRE ANALYTIQUE DEFECTUEUSE.....	29



I. LISTE DES ANALYSES

La liste des analyses réalisées au laboratoire est consultable sur le site internet :

<http://www.altisbio.com>

Elle donne des instructions pratiques pour :

- Nature du spécimen, volume minimum et délai de rendu des résultats
- Instructions pré-analytiques à destination des patients et des médecins
- Instructions de transport, si nécessaire
- Informations techniques à destination des utilisateurs des prestations du laboratoire

Les éléments de cette liste sont utilisés comme critères d'acceptation par le personnel du laboratoire lors du contrôle des prélèvements reçus

Cette liste est tenue à jour : cette version électronique fait foi (pas de gestion de la diffusion)

A. Recommandations particulières

1. Analyses à réaliser à jeun

Il est impératif d'être à jeun (au moins 12 heures, boire de l'eau restant possible) pour :

- Bilan lipidique (cholestérol et ses fractions Hdl –Ldl, triglycérides)
- Glycémie
- Tests dynamiques d'hyperglycémies provoquées par voie orale
- Cryoglobuline

Il est recommandé d'être à jeun pour toutes les autres analyses réalisées au laboratoire en particulier Fer et Phosphore

Pour les analyses non réalisées au laboratoire se renseigner auprès du secrétariat.

2. Conditions pré analytiques particulières

Certaines analyses ne peuvent être réalisées en dehors du laboratoire :

ANALYSES REALISABLES si prise en charge directement par le laboratoire ou dans le respect strict et contrôlé des conditions pré-analytiques

- Acide lactique
- Activité anti Xa
- Ammoniémie (site Albi uniquement)
- Bilans Assurances (obligatoirement au laboratoire)
- Bilans Commission Permis de conduire (obligatoirement au laboratoire)
- Carboxy hémoglobine (obligatoirement sur site d'Albi)
- Cryoglobulines (obligatoirement sur site d'Albi)
- Facteurs de la coagulation
- Gazométries (obligatoirement sur site d'Albi)
- Insuline
- Protéine C
- Protéine S
- Antithrombine III
- Temps de saignement

Cette liste ne s'applique pas en cas de transmission de demandes par un autre laboratoire.



- **Prélèvement de Cryoglobuline :**

Le prélèvement est à réaliser impérativement au laboratoire d'Albi UNIQUEMENT (ou dans la clinique Claude Bernard) car doit être réalisé sur du matériel maintenu au chaud.

- **Prélèvement de prolactine :**

Le prélèvement est à effectuer préférentiellement entre 8 h et 10 h au repos.

Le pool (2 prélèvements à 10-15 minutes d'intervalle) se réalise si la demande de pool est explicitement précisée sur l'ordonnance (sinon faire une prise de sang).

Les recommandations sont applicables aux hommes (mais prélèvements réalisables toute la journée).

- Dans le cas d'analyses non réalisées au laboratoire et transmises à un laboratoire spécialisé, prendre contact avec le laboratoire pour vérification et application des consignes pré-analytiques du sous-traitant.

3. Renseignements particuliers à fournir

a. Dosages médicamenteux

Indications cliniques :

Essentiellement au nombre de deux :

- Prévention d'un risque toxique par surdosage
- Détection d'une inefficacité thérapeutique par sous dosage ou non observance du traitement par le patient.

Renseignements cliniques indispensables à mentionner sur la feuille de prélèvement :

- âge, poids et taille du sujet lorsque cela est nécessaire et possible
- motif de la prescription : recherche d'efficacité et / ou de toxicité (Pic ou vallée)
- heure de prélèvement si nécessaire (prise de médicaments)
- renseignements de posologies

Horaires de prélèvement (généralités) :

L'interprétation d'un dosage de médicament ne peut être valablement réalisée que si l'heure de prélèvement tient compte de l'horaire et du rythme de son administration.

Sauf pour des traitements très brefs, il convient d'attendre l'état d'équilibre avant d'effectuer le dosage.

Dans la plupart des cas, l'échantillon sanguin sera prélevé au moment du taux résiduel, juste avant la prise.

Pour les médicaments antirejet (après greffe), le dosage peut être soit un taux résiduel, soit 2 heures après la prise du médicament.

Les médicaments à demi vie très longue (Gardéna) ne nécessitent pas le respect d'un horaire de prélèvement précis.

b. Dosages thyroïdiens

Le laboratoire souhaite recueillir les traitements thyroïdiens éventuels

c. Pour les demandes d'analyses génétiques transmises à d'autres laboratoires

La législation exige un consentement éclairé signé par le médecin et le patient (formulaire disponible sur simple demande au laboratoire)

d. Recueil de renseignements cliniques

Le laboratoire recueille les renseignements cliniques nécessaires à l'interprétation des résultats, tels que les traitements pour les bilans d'hémostase ou l'hormonologie, la date des dernières règles, ou encore la date d'administration de Rophylac ou la date de transfusion sanguine pour les demandes de groupes sanguins ou RAI.



4. Eléments techniques particuliers à destination des préleveurs

a. Bilans d'hémostase

Veiller à :

- Bon remplissage des tubes (au trait)
- Respect de l'ordre des tubes (tube citrate bleu **en premier**)
- Tube de purge en cas d'utilisation d'épicrânienne

b. Gazométries artérielles

Utiliser des seringues à gazométrie sécurisées

Avant utilisation : actionner le piston une fois pour répartir l'héparine (évite la coagulation)

Eviter impérativement le contact du sang avec l'air

Eliminer immédiatement les bulles d'air présentes dans la seringue, retirer l'aiguille dans un bac à aiguille sécurisé et obturer à l'aide du bouchon fourni avec l'unité de prélèvement.

Placer la seringue dans un sachet jetable puis dans une poche isotherme

Acheminer **rapidement** (en moins de 10 min) la seringue au laboratoire sinon la stocker au frigo de l'infirmerie avant la transmission au laboratoire le plus rapidement possible.

c. Gazométries capillaires :

Artérialiser préalablement à la chaleur puis piquer au lobe de l'oreille, au talon ou encore au doigt avec une micro lance. Eliminer la première goutte de sang et remplir le capillaire par capillarité sans bulle d'air

Reboucher une extrémité, introduire l'aimant et reboucher la deuxième extrémité, puis déplacer l'aimant à l'intérieur du capillaire pour éviter la coagulation

Acheminement **immédiat** au laboratoire dans un sachet jetable puis dans une poche isotherme



II. MATERIEL

Le laboratoire utilise et met à disposition des préleveurs du matériel de prélèvement.

Le matériel utilisé est marqué CE

Si des prélèvements sont réalisés sur du matériel de prélèvement autre que celui fourni par le laboratoire, ce dernier l'acceptera à condition qu'il soit marqué CE.

A. Types de matériels disponibles

- Pour ponctions veineuses
 - Pour ponctions artérielles
 - Pour recueils d'urines et autres liquides
 - Pour recueil de selles
 - Pour recueil de sperme
 - Pour prélèvements de microbiologie : écouvillons avec ou sans milieu de transport, flacons d'hémoculture
- Écouvillons sans milieu de transport uniquement utilisés au laboratoire d'Albi et clinique CCB

B. Conditions de stockage et modalités d'approvisionnement

- A température ambiante sauf matériel pour recherche de Cryoglobuline (à 37°C)
- Le laboratoire gère le stock de matériel de prélèvement. Pour cela il applique ses procédures internes. Elles ont pour objet de :
 - Veiller au maintien permanent d'un stock en adéquation avec l'activité
 - Veiller à la conformité du matériel en termes de dates de péremption, d'alertes de matériovigilance
 - Veiller à un bon approvisionnement de ses partenaires
- Approvisionnement pour préleveurs externes au laboratoire : directement auprès du laboratoire

III. FEUILLE DE PRESCRIPTION = ORDONNANCE

La feuille de prescription est un élément fondamental de la phase pré analytique.

Il s'agit de l'ordonnance du prescripteur.

Pour les prélèvements amenés au laboratoire elle est complétée par la fiche de transmission

L'ordonnance a pour but de nous fournir les renseignements suivants :

- Identification du prescripteur
- Adresse du prescripteur
- Identification du patient avec sexe et date de naissance
- Nature du spécimen et analyses
- Date et heure du prélèvement (traçabilité = annoté sur ordonnance ou trace informatique)
- Poids du patient
- Posologies (traçabilité = annoté sur ordonnance ou trace informatique)

La fiche de transmission doit nous fournir les renseignements suivants

- Date et heure du prélèvement
- Identité du préleveur
- Organismes sociaux de prise en charge du règlement
- Posologies, poids du patient

Ces éléments :

- sont scannés dans l'informatique du laboratoire pour traçabilité et vérification des saisies.
- Sont contrôlés et font l'objet de refus total ou partiel en cas de non-conformité

IV. ETIQUETAGE DES SPECIMENS

Il est impératif d'identifier chaque tube selon les éléments suivants



A. Prélèvement par du personnel autre que celui du laboratoire

Il est demandé d'écrire les renseignements suivants sur chaque spécimen

- Nom et Prénom
- Nature du prélèvement pour les examens de bactériologie

Le Laboratoire, en application du présent Guide de Prélèvement, contrôle l'identification des échantillons à leur réception par du personnel qualifié

B. Prélèvement par le personnel du laboratoire

Pour les prélèvements sanguins :

- ALBI :
 - Utiliser les étiquettes pré imprimées du jour en y écrivant nom + prénom
 - Coller l'étiquette ADM sur l'ordonnance
- Sites périphériques du laboratoire :
 - Utiliser les étiquettes imprimées en fin d'enregistrement
 - Coller étiquette ADM sur ordonnance et fiche de transmission

Lors de la réalisation de tests dynamiques marquer les temps de prélèvement

Pour tout tube supplémentaire écrire sur l'échantillon

- Nom prénom
- Numéro de dossier à minima.

C. Demandes de Groupes sanguins – RAI

Les renseignements suivants sont obligatoires :

- Nom
- Prénom
- Nom de jeune fille
- Date de naissance
- Nom du préleveur
- Date de dernière transfusion le cas échéant
- Date d'injection de rophylac le cas échéant

Pour les prélèvements réalisés par le personnel du laboratoire ces renseignements sont collectes **de façon manuscrite** sur des étiquettes spécifiques (par interrogation du patient)

Pour le prélèvement par du personnel étranger au laboratoire il doit être rempli une fiche de renseignement : [ENR-A-PREAN-008](#) (pour les préleveurs de la clinique) et [ENR-A-PREAN -017](#) (pour les IDE à domicile)









Les demandes de groupes sanguins ne sont remboursées que dans le cadre d'un bilan préopératoire ou d'un contexte pré transfusionnel potentiel (hémopathies ou grossesse)

V. PRELEVEMENT SANGUIN

A. Réalisation d'un prélèvement veineux

L'ordre de remplissage des tubes lors du prélèvement est établi pour :

- Minimiser les interférences liées à la ponction veineuse elle-même,
- Éviter une contamination d'un tube à l'autre du fait des additifs

		SITE d'ALBI	SITE de Carmaux	SITE d'ALBI	SITE de Carmaux		
Flacon hémoculture aérobie puis anaérobie							
							

En cas de prélèvement d'un tube d'hémostase avec épicroânienne : utiliser un tube de purge avant le tube citraté.

La répartition des analyses est décrite sur les documents mis à disposition des préleveurs avec de prélèvements fourni par le laboratoire.



1- Préparation pour le prélèvement

Le préleveur doit s'assurer de la conformité ou de l'optimisation des conditions de prélèvement en application des recommandations du présent Guide de Prélèvement.

En cas de doute tout préleveur peut contacter le secrétariat du laboratoire ou un biologiste selon les coordonnées données dans ce Guide.

La qualité des analyses de Biologie Médicale dépend grandement de la Phase Pré Analytique

La liste des analyses du Guide définit les conditions à respecter en termes de :

- Nécessité d'être à jeun
- Régime alimentaire particulier
- Délai d'acheminement
- Conditions d'acheminement
- Procédures particulières de prélèvement
- Adéquation avec les conditions particulières d'analyses

2- Vérification de l'identité

Prélèvement au laboratoire :

Le préleveur réalise un appel du patient dans la salle d'attente

Pour cela il décline le nom du patient présent sur l'ordonnance de manière audible et claire.

Albi : Avant de prélever le préleveur doit se faire remettre les étiquettes Code Barre par le patient. Elles mentionnent son numéro de dossier qui doit être celui de l'étiquette collée par la secrétaire sur l'ordonnance.

Carmaux : Avant de prélever le préleveur doit se faire remettre l'ordonnance par le patient.

Elle mentionne son numéro de dossier qui doit être celui des étiquettes

Prélèvement dans la clinique

L'ordonnance est à l'infirmerie

Le n° de chambre est indiqué sur l'ordonnance

Préparer un plateau de prélèvement à partir du chariot d'étage avant de rentrer dans la chambre du patient

Demander confirmation de son identité au patient

Contrôler son identité par son bracelet

Prélèvement par du personnel extérieur au laboratoire :

La fiche de transmission doit être remplie (non applicable dans la clinique)

REMARQUES : certains prélèvements nécessitent une procédure de vérification de l'identité particulière et ne peuvent être réalisés qu'au laboratoire :

- Examens demandés par les services de la Préfecture dans le cadre des commissions des permis de conduire : obligatoirement prélevés au laboratoire selon une Procédure particulière
- Examens demandés par les Sociétés d'Assurances: obligatoirement prélevés au laboratoire selon une Procédure particulière.



3- Gants et mise en place du garrot



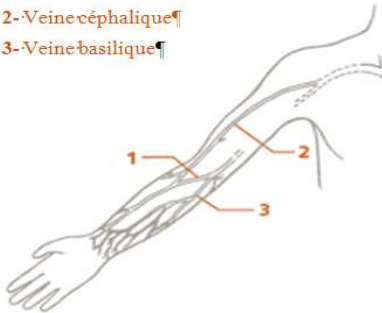
Les précautions générales d'hygiène ou précautions « standard » sont à respecter lors de soins à tout patient

Ni trop lâche, ni trop serré, à 10 cm approximativement au dessus du site de ponction, en veillant à ne pas pincer la peau et en recommandant au patient de serrer le poing, puis de rester parfaitement immobile.

Il ne doit pas être mis trop longtemps (< 3 minutes)

4- Choix du site et du matériel de ponction

- 1-Veine cubitale
- 2-Veine céphalique
- 3-Veine basilique



Aiguilles vertes, noires selon la qualité des veines .

Si le réseau veineux est difficile, il est préférable d'utiliser des épicroâniennes sécurisées.

Si cathéter de perfusion ou fistule artério-veineuse, prélever toujours le bras opposé ou sous la perfusion si impossibilité de prélever au bras opposé.

5- Désinfection du site de ponction, décapuchonnage de l'aiguille

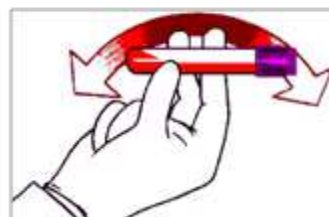


Désinfection large de haut en bas à l'aide d'un coton imbibé d'alcool modifié à 70° ou de bétadine selon les analyses.

Vérifier le seu de stérilité de l'aiguille



6- Réalisation de la ponction veineuse, introduction des tubes



Une ponction difficile risque d'engendrer une hémolyse ou des micro caillots rendant impossible certaines analyses

Pousser délicatement, sans vibration, pour percer le bouchon du tube en préservant le confort du patient
Respecter l'ordre du tableau

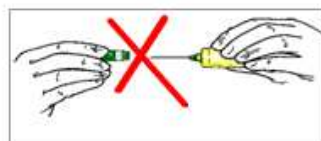
Veiller au remplissage des tubes

(Attention particulière pour les tubes citratés)

Agiter par retournement lent (6 à 8) chaque tube dès son retrait du corps de pompe pour mélanger l'additif avec le sang.

Retirer toujours le dernier tube du corps de pompe avant de retirer l'aiguille de la veine (sinon risque de fuite)

7- Retrait du garrot, retrait de l'aiguille et compression avec un coton propre, élimination du matériel utilisé, pose d'un pansement



Compresser à l'aide d'un coton propre

Conseiller au patient le maintien de son bras en position allongée et la compression ferme du coton sur le site de ponction.

Le container près du préleveur, éliminer immédiatement l'aiguille dans un container

Ne pas tasser le collecteur

Attention : recapuchonnage des aiguilles = geste interdit

Le coton est éliminé dans un poubelle « déchets infectieux »

Retirer les gants uniquement après

Identification des tubes

Selon les préconisations du chapitre ETIQUETAGE DES SPECIMENS

Viser la feuille de prescription

Le préleveur doit être identifiable par le laboratoire

Tampon ou identification sur la fiche de transmission



Paraphe codifié sur l'ordonnance pour le personnel du laboratoire.

Remplir la feuille de prescription telle que décrites dans les paragraphes précédents

B. Recommandations particulières

1- Prélèvements d'enfants

Le prélèvement d'un enfant requiert, outre la présence d'un préleveur, celle d'un assistant.

Si les parents le désirent, sur leur demande et s'ils la fournissent, il peut être appliqué de la pommade EMLA, le prélèvement est alors réalisé après le respect d'un délai minimum de 30 minutes.

Par ailleurs les parents peuvent amener leur enfant après la pose d'un patch d'EMLA, le laboratoire accepte de prélever dans ces conditions, sous réserve que le prélèvement soit techniquement réalisable en lieu et place du patch.

L'échec du prélèvement étant généralement mal vécu, un soin particulier doit être apporté au choix du site veineux.

Le matériel de ponction est fonction de cet examen préalable, mais fait toujours intervenir des aiguilles fines.

Le volume sanguin recueilli est toujours minimisé.

La pose d'un pansement personnalisé et la proposition d'un petit cadeau constituent une conclusion réconfortante.

2- Cas problématiques

Echec potentiel :

Tout préleveur, peu confiant face à un système veineux difficile, doit impérativement solliciter l'intervention d'un opérateur plus expérimenté sans risquer une tentative aléatoire.

En cas d'échec :

Le préleveur doit en analyser l'origine et être à l'écoute du patient afin de lui proposer immédiatement une alternative convenable.

Un nouvel examen attentif du système veineux révèle un autre site, plus accessible par le même préleveur : proposer au patient une nouvelle tentative en changeant si besoin de type de matériel (aiguille plus fine par exemple). Un deuxième échec est synonyme de fin d'intervention de l'opérateur. De manière exceptionnelle le préleveur pourra exécuter un prélèvement à la seringue ou par écoulement direct.

Si le préleveur juge ne pas être apte à effectuer une deuxième tentative efficace, proposer alors au patient l'intervention d'un second préleveur.

Incidents :

Hématome en formation :

Pratiquer une compression prolongée de la zone ponctionnée pour en limiter l'extension

Malaise du patient :

Le « malaise » subi par un patient dans un laboratoire d'analyses médicales, très généralement lié au stress, s'extériorise par une symptomatologie bien connue : pâleur, suées, céphalées, accélération du rythme respiratoire, tremblements et éventuellement courte perte de connaissance.

Le traitement du malaise commence par le positionnement horizontal du sujet avec surélévation de ses membres inférieurs.

Le patient doit être rassuré sur le caractère bénin et ordinaire de sa mésaventure.

Le patient est, après rétablissement, gardé au moins une dizaine de minutes en observation et alimenté s'il en éprouve le besoin. On lui conseille, à son départ, quelques heures de repos à son domicile.

Une situation non rapidement réversible ou mal maîtrisée (pouvant être liée à une cause organique méconnue) doit faire intervenir le médecin le plus proche.

Dans ce cas il doit être fait appel aux médecins du service Urgences réanimation de la clinique Claude Bernard au sein duquel est installé le laboratoire.



3- Prélèvements multiples et épreuves fonctionnelles

a. Prélèvements multiples au cours d'une même séance

Deux prélèvements au plus (hyperglycémie simplifiée) : offrir au patient le choix entre deux ponctions classiques ou la pose d'un cathéter.

Plus de deux prélèvements : proposer au patient, pour son confort, la pose d'un cathéter.

b. Prélèvements multiples au cours d'une même séance

Informé préalablement le sujet de l'économie de ponctions réalisé. Mentionner la nécessité de maintenir, en échange, le bras choisi allongé et, si possible, immobile pendant la durée de l'épreuve.

4- Prélèvements de patients subconscients

L'état subconscient des patients en période post opératoire ou des personnes âgées résidant dans un établissement nécessite, pour leur identification, une vigilance renforcée de la part du préleveur.

Vérification des noms, prénom et date de naissance sur le bracelet d'identification du patient.



C. Conduite à tenir en cas d'AES

1- Précautions universelles

Elles ont à prendre vis-à-vis **de tous les patients**, de tous les produits biologiques et tissus contenant du sang ou en contact avec le sang et de tous les matériels souillés de sang ou de produits sanguants.

- Ne pas re-capuchonner les aiguilles
- Ne pas désadapter les aiguilles à la main
- Déposer immédiatement après usage les objets piquants ou tranchants dans des conteneurs adaptés
- Mettre des gants s'il y a un risque de contact avec du sang ou des liquides biologiques, avec une surface ou du matériel souillé.
- Le port de gant sera systématiquement cas de lésion des mains, même minime.
- Panser et couvrir toutes les plaies (surtout les mains)

2- Conduite à tenir en cas d'Accident d'exposition au Sang

▪ **Immédiatement :**

- Ne pas faire saigner
- Nettoyage immédiat de la zone cutanée lésée à l'eau et au savon, puis rinçage
- Désinfection : 5 minutes avec « dérivés chlorés » (dakine pur, ou à défaut alcool à 70°.
- Pour les yeux : rincer avec de l'eau du robinet ou du sérum physiologique pendant 10 minutes au minimum.

▪ **Déclaration d'AES :**

Les démarches à suivre pour la déclaration et le suivi d'AES sont détaillées dans des documents spécifiques pour le laboratoire ([PR-A-HYG-001](#)).



VI. EPREUVES FONCTIONNELLES

Principaux tests dynamiques réalisés au laboratoire

A. Test à la LH-RH

<i>Produit administré</i>	LHRH Ferring : ampoule de 1 mL à 100µg
<i>Conditions initiales du patient</i>	- Sujet à jeun depuis 12 heures - Femme en aménorrhée ou en début de phase folliculaire (J1 à J6) - pas de prise d'oestro- progestatifs préalable depuis moins d'un mois (2 mois préférable)
<i>Déroulement du test</i>	- mise en place d'un cathéter -Prélèvement à T0 - Injection IV lente le matin entre 8 heures et 10 heures Chez l'adulte de 100µg de LHRH (1 ampoule) Chez l'enfant de 100µg/m ² de surface corporelle de LHRH - Prélèvement à 30 minutes
<i>Dosages possibles selon prescription</i>	- en général en l'absence de précision : LH et FSH - sur prescription détaillée : Testostérone

B. Hyperglycémie provoquée par voie orale

<i>Produit ingéré</i>	Solution glucosée
<i>Conditions initiales du patient</i>	Jeûne strict depuis 12 heures Epreuve effectuée exclusivement le matin En dehors des infections aiguës Les traitements interférant sur la glycémie doivent être si possible arrêtés
<i>Déroulement du test</i>	- mise en place ou non d'un cathéter selon la volonté du patient -Prélèvement à T0 - prise standardisée de glucose Ingestion en moins de 5 minutes de : Chez l'adulte : 75 g Chez l'enfant : 1,75 g/kilo de poids, sans dépasser 75g - précautions pendant l'épreuve : Repos strict Ne pas fumer - Prélèvements veineux à 30, 60, 90, 120, 180 minutes
<i>Dosages possibles selon prescription</i>	Glycémies +/- insuline et /ou peptide C
Cas particulier : HGPO chez une femme enceinte : 100 g de glucose avec des prélèvements à T0, T60 min, T120, T180 min	

C. Hyperglycémie simplifiée

<i>Produit ingéré</i>	Idem HGPO
<i>Conditions initiales du patient</i>	Idem HGPO
<i>Déroulement du test</i>	Idem HGPO sauf Prélèvement urines à T0 Prélèvements sanguins à T0 et T120 minutes
<i>Dosages possibles</i>	Glycémies



D. Test de O'Sullivan (au cours de la grossesse)

<i>Produit ingéré</i>	Idem HGPO
<i>Conditions initiales du patient</i>	Femme enceinte Pas nécessaire d'être à jeun
<i>Déroulement du test</i>	Ingestion de 50 g de glucose : flacon prêt à l'emploi Prélèvements sanguins à T0 et T60 minutes
<i>Dosages demandés</i>	Glycémie uniquement

E. Test au synacthène immédiat

<i>Principe</i>	Test de stimulation de la cortico surrénale
<i>Produit administré</i>	Synacthène immédiat des laboratoires Ciba Geigy / ampoule de 1 mL à 0,25ml = 250µg
<i>Conditions initiales du patient</i>	- à jeun - au repos - pas de prise de médicaments hormonaux préalable
<i>Déroulement du test</i>	-Prélèvement à T0 - Injection IM ou IV de 250µg de synacthène immédiat - Adulte : 1 ampoule de 1 mL à 0,25ml = 250µg - Enfant : 0,25mg/m ² de surface corporelle (sans dépasser 0,25mg) - Prélèvement sanguin à 60 minutes
<i>Dosages demandés</i>	cortisol

F. Test de freination au Dectancyl

<i>Principe</i>	Test de freination de la cortico surrénale
<i>Produit administré</i>	Dectancyl comprimé à 0,5 mg
<i>Conditions initiales du patient et Déroulement du test</i>	- J0 prélèvement à 8 heure J0 à 23 H administration per os de 1 mg de Dectancyl (2 comprimés) J1 à 8 heures : prélèvement
<i>Dosages possibles selon prescription</i>	Cortisol +/- androgènes

G. Test à la métopirone

<i>Principe</i>	- Inhibition de la biosynthèse des corticostéroïdes (cortisol) - Accumulation du 11 désoxycortisol (composé S) - Exploration dynamique du niveau hypothalamique de l'axe corticotrope
<i>Produit administré</i>	métopirone
<i>Conditions initiales du patient</i>	Sujet à jeun depuis 12 heures
<i>Déroulement du test</i>	- A J0 prélèvement à 8h. A minuit prise de 30mg/kg de métopirone -A J1 8h : prélèvement -possibilité de recueil d'urines de 24 heures à J0. Administration de 4,5g de métopirone en 6 prises à J1. Recueil des urines de 24h à J2
<i>Dosages possibles selon prescription</i>	Cortisol ACTH Composé S Cortisol libre urinaire, 17 hydroxycorticostéroïdes et 11 désoxycortisol urinaires (urines de 24h)



VII. PRELEVEMENTS DE BACTERIOLOGIE

La nature du prélèvement bactériologique doit être indiquée sur l'échantillon bactériologique

Examen Cytobactériologique des urines

Les voies urinaires représentent le second site d'infections bactériennes après l'arbre respiratoire et la première cause d'infections liées aux soins (30 % des infections nosocomiales)

Un dépistage par bandelettes (nitrites) n'est pas une méthode de diagnostic d'infection urinaire et ne se substitue pas à l'ECBU.

INDICATIONS (principales)

Cystites aigues avec ou sans fièvre
Douleurs lombaires ou pelviennes
Hyperthermies isolées

TECHNIQUES DE PRELEVEMENT

Au laboratoire à Albi ou à la clinique CCB

Le patient réalise le prélèvement après avoir été correctement informé (Formulaire ENR-A-PREAN-028)

De préférence au moins 4 heures après la précédente miction.

Après une désinfection du méat ou de la région vulvaire (d'avant en arrière et une seule fois) avec un savon doux ou du dakin.

Elimination du 1^{er} jet d'urines (+/- 20 mL) dans les toilettes et recueil dans un pot stérile

Quantité minimum de recueil 2 mL

Le flacon doit être identifié immédiatement : nom prénom date de naissance

Prélèvement à domicile, à Carmaux ou établissement de santé autre que CCB :

Pour améliorer la conservation des urines nous fournissons un couple flacon de recueil + tube contenant un conservateur inhibant la multiplication bactérienne (borate).



Un document d'instruction est systématiquement fourni avec le matériel. (ENR-A-PREAN-024)

Après une désinfection du méat ou de la région vulvaire (d'avant en arrière et une seule fois) avec un savon doux ou du dakin.

Elimination du 1^{er} jet d'urines (+/- 20 mL) dans les toilettes et recueil dans un pot stérile

Percuter le tube fourni (voir Instruction) et le remplir complètement.

Le flacon doit être identifié immédiatement : nom prénom date de naissance

Acheminer POT et TUBE rapidement au laboratoire.

Patient sondé à demeure :

NE JAMAIS PRELEVER DANS LE SAC COLLECTEUR (pullulation microbienne importante)



Le recueil se fera après une désinfection du site de prélèvement spécifique de la sonde.

NB : si un ECBU est demandé à l'occasion d'un changement de sonde, réaliser le prélèvement à partir de la nouvelle sonde.

LA MISE EN CULTURE DES EMBOUTS DE SONDES URINAIRES EST SANS INTERET

Nourrisson

Uniquement dans le cas où le recueil d'urine spontanée n'est pas possible (< 3 ans), on utilise un collecteur d'urine posé au laboratoire. Il est posé après désinfection au dakin du méat urinaire ou du périnée.

Ne peut être laissé en place qu'une heure après ce délai, le changer.

TRANSPORT ET CONSERVATION

Les urines doivent être acheminées rapidement au laboratoire.

Conservation :

Flacon sans conservateur :

A température ambiante : délai maximum 2heures (pour éviter la pullulation microbienne)

A +4°C : 24heures

Tubes avec conservateur (borate)

A température ambiante : 48h **Ne jamais conserver à +4°C**

DELAI POUR PRESCRIPTION COMPLEMENTAIRE

Les urines sont conservées 48 heures au laboratoire ; vu la simplicité du recueil et la dégradation rapide des urines il est préférable en cas de prescription complémentaire d'effectuer un nouveau recueil.

INTERPRETATION

Leucocyturie significative : > 10/mm³ (10 000 / mL)

Remarque : chez le patient sondé la leucocyturie est toujours positive car il existe une réaction inflammatoire.

Bactériurie significative : > 100 000 / mL

COMPTE D'ADDIS

Une instruction est disponible à l'accueil du laboratoire (Cf. document [ENR-A-PREAN-013](#))

COPROCULTURES

L'objectif est d'isoler un nombre limité d'espèces bactériennes pathogènes au sein d'une flore abondante est complexe.

Les principaux pathogènes recherchés sur des selles diarrhéiques : **salmonella spp, shigella spp, campylobacter spp, yersinia et Ecoli O 157** (pour les diarrhées sanglantes)

Si les selles ne sont pas diarrhéiques seules **salmonella et shigella** sont recherchées.

Toute autre recherche doit faire l'objet d'une prescription spécifique :

- la recherche de Clostridium difficile : seule la présence de toxine A et /ou B est significative car seules les souches toxigènes sont pathogènes.

Voyage récent en pays tropical : peuvent être en cause vibrio cholerae (non recherché au laboratoire), plésiomonas shigelloides, aeromonas spp.

PRELEVEMENT ET TRANSPORT

Si possible recueillir les selles avant toute antibiothérapie. Elles doivent être recueillies dès leur émission en prélevant l'équivalent d'une noix transférée dans un conteneur à usage unique que l'on doit identifier immédiatement après le recueil.

Le prélèvement doit être acheminé au laboratoire rapidement avec la fiche de renseignement clinique (Délai < 2 heures)

En cas d'acheminement différé : conserver au frigo pendant 12 heures maximum

Echantillon	Conteneur	Transport	Conservation
Selles	Poudrier à usage unique	< 2h à température ambiante	< 12h à +4°C

Aucun rajout d'examen n'est possible au-delà.



HEMOCULTURES

INDICATIONS

Toute fièvre d'origine indéterminée en particulier si elle est accompagnée de signes cliniques d'infection doit faire pratiquer des hémocultures

Selon le contexte les objectifs peuvent être :

- Affirmer la présence de bactéries dans le sang
- Etayer un diagnostic d'endocardite infectieuse
- Orienter vers l'origine d'un foyer infectieux
- Etablir un antibiogramme

NB : les flacons d'hémocultures sont validés pour la recherche de l'ensemble des germes y compris les levures.

TECHNIQUE DE PRELEVEMENT

SI POSSIBLE AVANT TOUTE ANTIBIOTHERAPIE, lors d'un pic fébrile ou de frissons.

Pour réduire au minimum le risque de contamination à la fois du préleveur (VHC, HIV) et du prélèvement, il convient de respecter :

Porte de la chambre fermée

Ports de gants non stériles

Ne plus palper la veine après désinfection

Désinfection de la zone à ponctionner avec un antiseptique alcoolique (ex : Bétadine alcoolique) réaliser une deuxième désinfection une fois la première antiseptie séchée. Désinfecter également les bouchons des flacons d'hémocultures.

Prélever avec le matériel fourni par le fabricant : deux types de flacons les « vert » pour la recherche des germes aérobies et des levures (à prélever en premier) et les « orange » pour les germes anaérobies.

La quantité de sang prélevée conditionne le rendement de l'analyse. Prélever de préférence 20 mL (dernier trait sur les flacons)

Identifier au lit du patient une fois le prélèvement réalisé avec Nom, Prénom, date et heure du prélèvement.

PROTOCOLE DE PRELEVEMENT

L'intervalle entre deux prélèvements n'ayant pas d'importance sur la qualité du diagnostic il peut être conseillé pour éviter la contamination par des prélèvements répétés de réaliser un prélèvement unique de 4 à 6 flacons (au lieu de 2 à 3 hémocultures toutes les heures).

Cas particulier des endocardites :

Obligatoirement prélever les hémocultures (au moins 3 sur 24 heures) avec un intervalle d'une heure. SIGNALER IMPERATIVEMENT LA SUSPICION D'ENDOCARDITE pour pouvoir incuber les flacons 15 jours du fait de la fréquence des germes dits à croissance difficile dans cette pathologie (en particulier le groupe des HACEK)

En absence de positivité, il convient de répéter les hémocultures 3 jours plus tard.

Si le nombre des hémocultures n'est pas précisé dans l'ordonnance, en faire 3.

TRANSPORT

Acheminer dès que possible au laboratoire.

Sinon laisser à température ambiante et non à l'étuve.

DELAI POUR PRESCRIPTION COMPLEMENTAIRE

Les flacons sont incubés 6 jours avant d'être considérés comme négatifs.

En cas de recherche particulière nécessitant une incubation prolongée le signaler sur la prescription.

Toute souche bactérienne isolée d'hémoculture est conservée au laboratoire un an.



PLAIE

OBJECTIF

Identifier les bactéries pathogènes dans les infections cutanées primitives (furoncle, érysipèle, impétigo, panaris etc...)

Identifier les bactéries dans les lésions traumatiques aiguës (fractures, morsures, brûlures)

Identifier les surinfections de plaies chirurgicales.

Les données cliniques sont indispensables pour une bonne analyse microbiologique de ces prélèvements (voir feuille de renseignements clinique) plus ou moins colonisés par la flore commensale.

PRELEVEMENT

2 Types d'écouvillons :

Pour prélèvement au laboratoire d'Albi et à la clinique CCB : écouvillon simple

Autres : domicile, Carmaux ; établissement de santé (hors CCB) : écouvillon avec milieu de transport

Lésions cutanées superficielles (impétigo, follicule, furoncle) :

Nettoyage du site avec une compresse imbibée de sérum physiologique stérile.

Prélever un écouvillon à acheminer au laboratoire. Ne pas oublier d'identifier l'écouvillon.

Erysipèle, inflammation cutanée :

Désinfecter le site avec une solution antiseptique puis rinçage au sérum physiologique stérile

- Soit injecter avec une aiguille fine stérile un peu de sérum physiologique dans la lésion et ré aspirer.

Rincer la seringue dans 1 mL de sérum physiologique. Mettre le tout dans un pot stérile, identifier le pot (nom, prénom, date de naissance et origine du prélèvement)

- Soit réaliser une biopsie de la lésion, la placer dans un pot stérile avec 1 mL de sérum physiologique.

Site opératoire :

Détersion au sérum physiologique

Eviter l'écouvillonnage

Recueillir l'écoulement par aspiration à la seringue. Mettre dans un flacon stérile et envoyer au laboratoire le pot IDENTIFIE.

Ulcération, escarre, lésions cutanées nécrotiques :

Un prélèvement n'est indiqué que s'il y a des signes d'accompagnement locaux (douleur, inflammation, fièvre)

AVANT TOUT PRELEVEMENT :

Nettoyer la plaie, débrider si nécessaire les tissus nécrosés, appliquer une solution antiseptique et laisser sécher. Rincer au sérum physiologique stérile.

L'ECOUVILLONNAGE DOIT ETRE EVITE (en particulier pour les escarres)

Réaliser soit une biopsie de la lésion soit cureter el bord de la lésion. Placer l'échantillon dans un pot stérile.

Soit réaliser une aspiration à l'aiguille fine du liquide inflammatoire (très peu de liquide suffit).

Morsures :

Nettoyer la plaie, débrider si nécessaire les tissus nécrosés, appliquer une solution antiseptique et laisser sécher. Rincer au sérum physiologique stérile.

Préférer un prélèvement à la seringue (cf : supra) par défaut réaliser un écouvillonnage profond.

Si recherche d'anaérobies TOUJOURS faire un prélèvement à la seringue.

TRANSPORT

Conservation et transport au laboratoire se font à température ambiante

Délai : < 2 heures écouvillon sans milieu de transport

48h : écouvillon avec milieu de transport



INTERPRETATION

Les informations suivantes sont essentielles pour l'analyse du prélèvement : nature et site de la lésion, mode de prélèvement (seringue, écouvillon), information clinique (voir feuille de renseignement).

LE PIED DIABETIQUE

OBJECTIF

Mettre en évidence les germes responsables de l'infection et réaliser l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques. La difficulté majeure est de différencier l'infection d'une colonisation bactérienne pour cela la qualité du prélèvement est primordiale.

PRELEVEMENT

Seules les infections établies cliniquement doivent être prélevées

Le débridement

Les lésions sont toujours colonisées superficiellement par une flore bactérienne sans signification pathologique obligatoire. C'est pourquoi avant de prélever il faut préparer la plaie.

Le débridement consiste en l'excision des tissus nécrosés, dévitalisés et ne laisser que les tissus sains. Il se réalise avec un scalpel et une curette stérile.

Prélèvement

Il existe plusieurs techniques :

Par écouvillonnage :

Prélever en zig zag en associant un mouvement rotatif à l'écouvillon.

Limites : difficile de distinguer les bactéries responsables de l'infection de la flore de colonisation ; lui préférer un curetage (grattage avec une curette stérile) + écouvillonnage.

Ne permet pas de rechercher les germes anaérobies.

Aspiration à l'aiguille fine :

Elle se fait au travers d'une zone saine. Si aucun liquide n'est aspiré, injecter 1 mL de sérum physiologique et aspirer au maximum.

INTERPRETATION

L'interprétation des résultats est rarement simple. Elle dépend essentiellement de la qualité du prélèvement et de la nature des bactéries isolées.

En première intention les bactéries commensales ne sont pas prises en compte (staphylocoques à coagulase négative, les Corynébactéries, les entérocoques ; Ces bactéries seront prises en compte en cas d'isolements répétés dans des prélèvements de qualité.

Il n'existe aucun critère pour certains que les bactéries isolées soit responsables de l'infection cliniquement observée.

Parmi les bactéries pathogènes les plus fréquentes sont : staphylocoque aureus, els streptocoques bêta hémolytiques (A et B), les entérobactéries (E coli, Proteus, Klebsiella et pseudomonas aeruginosa).



INFECTIONS UROGENITALES

OBJECTIF

On distingue deux catégories d'infections :

- infections sexuellement transmissibles
- infections non sexuellement transmissibles

Principaux agents responsables d'infections sexuellement transmissibles

Agent	Symptômes /délai d'incubation	Infection asymptomatique	Complications à long terme
Neisseria gonorrhoeae	Urétrite 2 à 7 jours après exposition Cervicite au 10 ^e jour mais symptomatologie variable, ano rectite, infection pelvienne aigue, infection disséminée (arthrite)	10% chez l'homme > 50% chez la femme Portage pharyngé et rectal	Sténose urétrale Stérilité tubaire Douleurs pelviennes chroniques
Chlamydiae trachomatis	Urétrite, cervicite : incubation non déterminée Infection pelvienne subaigue	> 50%	Stérilité tubaire Douleurs pelviennes chroniques GEU
Treponema pallidum	Chancre environ 21 jours après exposition	Chancre incolore, guérison spontanée 90% des syphillis de plus d'un an sont asymptomatiques	Neurologiques Cardiaques Osseuses
Mycoplasma génitaux	Urétrite chronique et souvent récidivante Cervicite ? incubation inconnue	Probablement souvent asymptomatique chez la femme	
Herpes virus	Primo infection 7 jours, ulcérations douloureuses	Fréquent surtout chez la femme	En cas d'immunodépression
Trichomonas vaginalis	Urétrite avec leucorrhées malodorantes ' à 20 jours après exposition	90% chez l'homme 20% chez la femme	exceptionnel

Agents responsables d'infections urogénitales non sexuellement transmissibles

Agents	Symptômes chez la femme	Symptômes chez l'homme	Complications à long terme
Mycoplasma hominis	Associé à la vaginose	Aucun	Infection haute chez la femme
Uréaplasma spp	Non pathogène (en dehors de la grossesse)	Urétrite	
Gardnerella vaginalis Molnibicus	Vaginose	Aucun	Non documentées
Candida albicans	Vulvovaginite	Balanite	NC



PRELEVEMENT

Prélèvement urétral (chez l'homme)

Doit être de préférence au moins une heure après la dernière miction et toujours avant le premier jet d'urines

Prélèvement vaginal et endocol

Après la pause de spéculum ils sont réalisés à deux niveaux

Le cul de sac postérieur pour un déséquilibre de la flore vaginale (recherche de vaginose) ou de vaginite (trichomonas)

Après nettoyage de la glaire cervicale au niveau de l'endocol pour chlamydiae et neisseria gonorrhoeae.

Prélèvement chez la femme enceinte : Recherche de portage de streptococcus agalactiae.

S.agalactiae est recherché au niveau du tiers vaginal inférieur vers les 34 et 35^{ème} semaines.

TRANSPORT

Les prélèvements doivent être transportés dans les 2 heures à température ambiante au laboratoire.

INFECTIONS ORL

Ce chapitre comprend les infections des voies aériennes supérieures (nez, gorge, oreilles).

La plupart de ces infections sont d'origine virale dont le traitement est symptomatique.

1. INFECTIONS DE LA GORGE : angine aigüe bactérienne

Le principal agent étiologique des angines aigües bactériennes est le streptococcus pyogènes (streptocoques du groupe A).

La culture demeure la méthode microbiologique de référence, en effet les tests de diagnostic rapide (TDR) ne sont que des tests de dépistage ayant une bonne spécificité mais une sensibilité médiocre (<90%)

Tout contexte particulier doit être signalé par le prescripteur : angines récidivantes, ulcéro-nécrotiques, candidose, suspicion d'infection sexuellement transmise.

Pour le phlegmon amygdalien le prélèvement doit être obtenu par ponction.

CONTEXTE

Angine aigüe : Streptocoque A parfois C ou G

Angine ulcéro nécrotique : Mise en évidence par microscopie de l'association fuso spirochétienne de l'angine de Vincent.

Angine à fausses membranes : Corynébactérium diphtériae

Cadre d'IST : N.Gonorrhoeae

PRELEVEMENT ET TRANSPORT

Le prélèvement doit être réalisé avant toute antibiothérapie locale ou générale.

Procéder à l'écouvillonnage des amygdales et/ou des piliers du voile du palais.

Cas particuliers :

En cas d'ulcération : prélever au milieu de celle-ci

Fausses membranes : prélever au niveau de celle-ci

La recherche de candidose se fait en écouvillonnant la face interne des joues et la langue.

2. PRELEVEMENT D'OREILLE

3 situations possibles :

➤ Otite moyenne aigüe

- Enfant > 3 ans et adulte : H. Influenzae, S. Pneumoniae, M. Catarrhalis, S. Aureus
- Enfant < 3 ans : Pseudomonas Aeruginosa, Entérobactéries, S pyogenes

➤ Otite moyenne récidivante

Pseudomonas Aeruginosa, S pyogènes



➤ **Infection du conduit auditif externe**

Pseudomonas Aeruginosa, Entérobactéries, S pyogènes, Anaérobies.

PRELEVEMENT

Réalisé par l'ORL, après nettoyage du conduit auditif externe

INTERPRETATION

Les prélèvements par paracentèse ne posent, à priori pas de problème d'interprétation.

De même quand on isole des germes n'appartenant pas à la flore du conduit auditif externe : H Influeanzae, S Pneumoniae, M Catarrhalis.

A noter que les otites pluri microbiennes ne sont pas rares.

3. PRELEVEMENT NASAL

Bilan de staphylococcie ou recherche de portage de SARM :

Mise en évidence de Staphylococoque aureus

Pus de sinus par aspiration au méat moyen lors d'une sinusite aigüe :

Chez l'enfant : H Influeanzae, S Pneumoniae, M Catarrhalis

Chez l'adulte : H Influeanzae, S Pneumoniae, M Catarrhalis, Staphylocoque aureus, S pyogenes, anaérobies.

SECRETIONS BRONCHOPULMONAIRES

L'examen cyto bactériologique des sécrétions bronchiques permet d'isoler et d'identifier le ou les micro-organismes responsables d'infections pulmonaires telles que par exemple :

- Exacerbation de BPCO
- Pneumopathie brutale
- Mucoviscidose
- Pneumopathie sous assistance respiratoire
- Recherche de mycobactéries

L'analyse d'une expectoration est délicate il est donc essentiel de renseigner lors de la prescription le type de prélèvement (crachat, aspiration, ...) et le contexte (BPCO, intubation, ...)

PRELEVEMENT

Crachats

Pour éviter un prélèvement de mauvaise qualité (dilué par la salive) un protocole rigoureux doit être respecté :

- Recueil le matin au réveil après un effort de toux si besoin aidé d'une kinésithérapie dans un pot stérile
- Si possible avant toute antibiothérapie

Aspiration endotrachéale

Pour les patients intubés mais risque important de contamination par la flore salivaire

Fibro- aspiration directe des sécrétions

Recueil dans un pot stérile

Lavage broncho- alvéolaire

La fraction de sérum physiologique récupérée après injection sera placée dans un pot stérile

Toute demande spécifique (recherche Pneumocystis, CMV, Nocardia, BK) doit impérativement être indiqué sur la fiche de renseignements clinique.



Les recherches parasitaires comme *Pneumocystis carinii* ou virales comme CMV ne sont pas réalisées au laboratoire.

TRANSPORT

Le prélèvement doit être acheminé rapidement au laboratoire (< 2 heures) à température ambiante.

Il convient d'identifier au lit du malade les pots par nom prénom date de naissance et de joindre la fiche de renseignement clinique.

DELAI DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Les prélèvements broncho-pulmonaires sont conservés 7 jours au laboratoire. Une demande complémentaire peut être réalisée durant ce délai.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Seuil de significativité : / ml

Expectoration : 10^7 germes pathogènes / ml

Aspiration : 10^5 germes pathogènes / ml

COLLECTION FERMEE ET LIQUIDES D'EPANCHEMENT

CONTEXTE ET OBJECTIF

1. Les suppurations closes peuvent atteindre tous les organes. Elles sont regroupées en 2 classes :
 - Suppuration de classe I : totalement fermée donc sans relation avec l'extérieur. (Adénopathie, abcès parenchymateux type foie, reins, ...). Tout germe retrouvé peut être considéré comme pathogène.
 - Suppuration de classe II : le foyer communique avec un organe contenant une flore commensale ou il existe une fistulisation à la peau. Il y a une forte probabilité d'association de bactéries pathogènes et commensales.
2. Liquides d'épanchement (pleural, ascite, péritonéal, péricardique) correspondent à la présence anormale de liquide dans les séreuses, soit par transsudats d'origine mécanique soit par exsudats souvent secondaire à une infection.

PRELEVEMENT

Il s'agit essentiellement de prélèvements réalisés lors d'actes chirurgicaux ou dans des conditions d'asepsie rigoureuse (conditions rigoureuses).

Les informations cliniques sur le bon de demande sont essentielles : nature de l'échantillon, mode de prélèvement, contexte clinique.

TRANSPORT

Délai maximum de transport : 2 heures

Les liquides prélevés dans une seringue doivent être transportés SANS aiguille mais seringue close par un bouchon en plastique ou en caoutchouc.

INTERPRETATION

1. Infection de classe I :

Cytologie :

Ascite : il y a une infection avérée si le nombre de polynucléaires neutrophiles est $> 200/\text{mm}^3$

Dialyse péritonéale : infection probable si > 100 leucocytes / mm^3 dont 50% de polynucléaires.

Examen direct et culture mettent en évidence le caractère le plus souvent mono microbien de l'infection ; De ce fait l'interprétation du résultat ne pose pas de problème.

2. Infection de classe II :

Le caractère souvent poly microbien des cultures doit conduire à une confrontation avec la clinique pour rétablir au mieux le caractère pathogène ou non des germes isolés.



INFECTIONS DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL

CONTEXTE

Un examen microbiologique est pratiqué dans le cadre de différentes infections :

- Méningites et ventriculites
- Encéphalites et méningo encéphalites
- Suppuration intra crâniennes

Ces infections engagent souvent le pronostic vital du patient, la prise en charge médicale et thérapeutique peut primer sur les investigations microbiologiques.

L'examen microbiologique doit être réalisé sans délai repose sur l'analyse du LCR (chimie, cytologie et microbiologie)

Les premiers résultats sont communiqués sans délai au médecin en charge du patient.

Principales bactéries responsables de méningites communautaires :

- Nouveau-né : streptococcus agalactiae (strepto B), E coliK1, listéria monocytogènes.
- Enfant > 3 mois et < à 5 ans : Pneumocoque et méningocoque
- Enfant > 5 ans et adulte : Pneumocoque et méningocoque

PRELEVEMENT

Le prélèvement doit se faire au début de la maladie avant toute antibiothérapie ou traitement antiviral tout en respectant les délais de prise en charge thérapeutique défini par les recommandations nationales.

La ponction lombaire est réalisée par le neurologue : recueillir au minimum 2 pots stériles (un pour la chimie, un pour la cytologie et la bactériologie), idéalement un 3^{ème} est nécessaire pour d'éventuels examens complémentaires (en particulier des recherches virologiques type Herpès).

Quantité à recueillir : 1 à 2 ml par pot.

TRANSPORT

Il doit se faire sans délai vers le laboratoire.

Le laboratoire doit pouvoir fournir au clinicien dans l'heure qui suit :

- La chimie (glychorachie, protéinorachie et chlore)
- La cytologie (numération des hématies et des leucocytes avec la formule leucocytaire)

A noter que les recherches virales par PCR ne sont pas réalisées par le laboratoire et donc ne sont pas réalisable en urgence.

RESULTAT

Tout résultat positif est transmis sans délai au médecin en charge du patient.

Le LCR étant normalement stérile tout résultat de microbiologie positif doit être considéré comme témoin d'une infection.

CONSERVATION AU LABORATOIRE DES ECHANTILLONS

Le laboratoire conserve à +4°C les prélèvements pendant une semaine.



INFECTIONS OSSEUSE ET ARTICULAIRES

OBJECTIF

Les examens microbiologiques ont une importance capitale dans le diagnostic des infections ostéo-articulaires. En effet, eux seuls permettent d'établir le diagnostic de certitude par l'isolement du micro organisme en cause et la mise en oeuvre d'un traitement efficace par l'étude de la sensibilité aux antibiotiques.

Ce diagnostic bactériologique est difficile car les bactéries en cause :

- Appartiennent souvent à la flore commensale cutanéomuqueuse (risques de faux positif par contamination lors du prélèvement ou lors de l'ensemencement au laboratoire)
- Présentent parfois une croissance lente et/ou difficile
- Sont parfois en nombre limité ou piégées au sein d'un biofilm.

PRELEVEMENT

Pour limiter les contaminations les prélèvements doivent être réalisés dans des conditions d'asepsie de type chirurgicale.

Les prélèvements superficiels de fistules ou de plaies sont à bannir car le plus souvent contaminés par la flore cutanée.

- Les liquides de ponction
De préférence prélever un flacon héparine pour une cytologie de qualité associé et un flacon stérile « sec » pour la culture bactériologique
- Les prélèvements per opératoires
Ils doivent être multiples (au moins 5 sur des sites anatomiques différents)
Ces prélèvements peuvent aussi bien être liquide (pus, liquide articulaire) que solide.

Pour ces prélèvements per opératoire le laboratoire fourni des flacons spécifiques stériles avec bille d'acier (Flacon Ultra Turrax)

TRANSPORT

Ces prélèvements « précieux » doivent être acheminés au laboratoire en respectant scrupuleusement les bonnes pratiques de transport :

- Acheminement à température ambiante
- Le plus rapidement possible (< 2 heures)
- Echantillon correctement identifiés (nom, prénom, date de naissance, site anatomique et information clinique pertinente)

NB : toute recherche spécifique doit être notée sur l'ordonnance (ex : recherche de BK)

INTERPRETATION

Infections Osteo-articulaires

L'interprétation des résultats bactériologiques est complexe, elle doit prendre en compte :

Le contexte clinique

La ou les espèces identifiées

La nature et le nombre de prélèvements positifs

Il n'y a pas de consensus concernant les critères bactériologiques exacts de diagnostic d'infection ostéo-articulaire (IOA)

Exemple selon certains travaux :

Probabilité d'IOA : 95 % si 3 prélèvements positifs
 20 % si 2 prélèvements positifs
 10 % si 1 prélèvement positif

Arthrites

Examen microscopique :

La recherche de germe au gram est peu sensible (6%)



Cytologie

Quantification des leucocytes : dans la majorité des arthrites septiques le liquide contient plus de 10 000 éléments / mm et plus de 90% de polynucléaires neutrophiles souvent altérés.
Dans le cas des arthrites sans geste chirurgical : un prélèvement unique étant réalisé l'affirmation du caractère pathogène des bactéries isolées repose sur la combinaison cytologie, espèce bactérienne.

DISPOSITIFS INTRAVASCULAIRES (cathéter, chambre implantable)

CONTEXTE

L'insertion d'un cathéter, les injections à travers une chambre implantable exposent ces dispositifs à un risque de colonisation par les microorganismes de la flore cutanée.
La colonisation des cathéters peut également avoir lieu par voie endoluminale.

OBJECTIF

Documenter l'implication d'un dispositif intravasculaire dans un état septique.

PRELEVEMENTS

Matériel en place :

Les référentiels de microbiologie ne recommandent plus les prélèvements à l'écouvillon du point d'insertion sauf pour les patients dialysés pour lesquels le retrait des cathéters est difficile. Dans ce cas un nettoyage initial au sérum physiologique est indispensable.
Prélever simultanément 2 hémocultures, une au niveau de la chambre après l'avoir purgée, l'autre en périphérie (voie veineuse périphérique) La différence de délai de positivité entre les deux (plus rapide pour le prélèvement au niveau de la chambre) permet d'incriminer le dispositif intravasculaire dans l'état septique du patient.

Ablation du matériel

Cathéter :

Procéder stérilement au retrait du matériel, couper stérilement l'extrémité distale et la placer dans un flacon stérile.

Chambre implantable :

Ecouvillonnage externe de la chambre implantable et /ou mise en culture du cathéter

Faire une hémoculture avant l'ablation du matériel

INTERPRETATION

Le laboratoire utilise la méthode semi quantitative de cléri avec un seuil de positivité à 1 000 UFC/ml.



VIII. ACHEMINEMENT DES ECHANTILLONS

Les précautions pour le transport des échantillons sont détaillées dans la liste des analyses du laboratoire. La consultation de cette liste permet de connaître les recommandations particulières pour certaines analyses.

Rappel des principales conditions :

Transport à + 4°C	Transport à température ambiante	Transport au chaud
Lactates Gazométries Ammoniémies	Analyses courantes	Cryoglobuline

Elles sont contrôlées à la réception du prélèvement au laboratoire et les anomalies constatées par le personnel habilité à réceptionner les prélèvements feront l'objet d'une fiche de non-conformité.

IX. CONTROLES A RECEPTION DES ECHANTILLONS

Dans un souci de contrôle des étapes de la phase pré analytique, le laboratoire s'impose et réalise des contrôles (concernant notamment les tubes, les ordonnances et les délais)

Ils sont réalisés par du personnel formé et qui applique les critères d'acceptations définis par le laboratoire dans le document « Règles d'acceptations et de refus d'un échantillon au laboratoire » IT-A-CONTR-001.

Selon les cas définis, un prélèvement pourra être refusé s'il ne satisfait pas aux critères établis.

Le laboratoire pourra, dans des circonstances exceptionnelles (caractère d'urgence) déroger à un refus.

X. LES PROBLEMES DU LABORATOIRE DECOULANT D'UNE PHASE PRE ANALYTIQUE DEFECTUEUSE

■ Mauvaise homogénéisation des tubes contenant un anticoagulant

Agitation insuffisante : risque de coagulation

La présence d'un caillot ou de micro-caillots peut rendre l'analyse irréalisable ou fausser son résultat mais également boucher les automates analyseurs et les mettre en panne retardant le rendu des résultats.

Agitation trop vive : risque d'hémolyse

Un tube hémolysé peut fausser les résultats.

- **Erreur d'identification des tubes :** attribution des résultats à un autre patient
- **Prélèvement au bras du côté de la perfusion :** dilution ou contamination par les produits issus de la perfusion.
- **Non-respect du jeûne :** résultats faussés (majorés ou minorés)
- **Absence de renseignements cliniques ou thérapeutiques :** interprétation erronée, réajustement inadéquat de posologie avec risque de sur ou sous dosage.
- **Délais d'acheminement dépassés :** modification des constituants à doser
- **Erreur de tubes :** résultat faux ou analyses irréalisables (ex : calcium sous-estimé si prélevé sur tube EDTA, sodium surestimé si prélevé sur tube fluoré)
- **Remplissage incorrect des tubes**
 - Dilution, bilan d'hémostase erroné
 - Risque d'hémolyse



▪ **Absence de renseignements sur la prescription**

Absence de nom du prescripteur : impossibilité de le joindre pour lui communiquer des résultats ou demander des renseignements

Absence de date et heure de prélèvement : confusion possible entre différentes demandes (hémocultures par exemple), pas de contrôles possibles du délai écoulé entre le prélèvement et la réalisation des analyses.

Absence de date de naissance du patient : confusion possible de dossier patient (appel au service concerné, perte de temps)