

BONNES PRATIQUES, DU PRELEVEMENT A LA RÉALISATION DES EXAMENS AU LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE

17 Novembre 2022

Dr Nathalie Grall

*Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris
Université Paris Diderot, INSERM, IAME, UMR 1137, Sorbonne Paris Cité, Paris*



GENERALITÉS POUR LA RECHERCHE DE BACTÉRIES, LEVURES OU CHAMPIGNONS

- Réalisation des prélèvements de façon stérile
- Contenants :
 - Stériles
 - Pas d'antibiotique ou d'antifongique dans le milieu de transport
 - Pas de formol ou paraffine (culture impossible)
- Avant administration d'antibiotiques ou antifongiques
- Prélèvements acheminés rapidement au labo
 - Viabilité
 - Prolifération





LES ÉCOUVILLONS



CULTURES BACTERIENNES CLASSIQUES

- **Ecouvillons avec milieu de transport Amies** (ex.: e-swab)
 - Conservation et transport des bactéries aérobies et anaérobies
 - **Pour la culture** : conservation pendant 24h-48h à température ambiante ou 4-8°C (sauf *N. gonorrhoeae*, 24h)
 - **Pour la biologie moléculaire** : 5 jours à température ambiante, 1 semaine à 4°C, 6 mois à -20°C



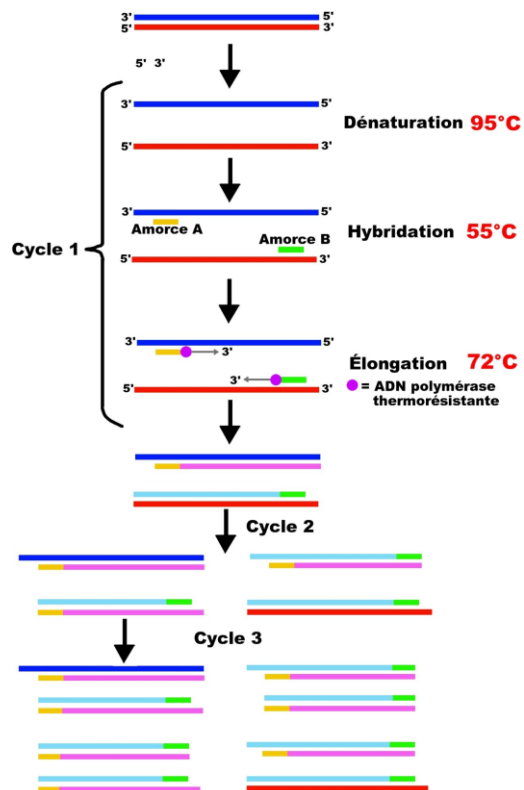
- ~~▪ **Ecouvillons avec milieux de transport viral (VTM)**
 - Conservation et transport des virus et certaines bactéries intracellulaires (*Chlamydiae* spp., *Mycoplasma* spp.)
 - Contient des **antibiotiques** → Non utilisables en bactériologie~~



CAS PARTICULIERS

EX. : PCR *C. TRACHOMATIS* ET *N. GONORRHOEAE*

- Bactérie non cultivable (*C. trachomatis*) ou très fragile (*N. gonorrhoeae*) → Recherche par PCR



CAS PARTICULIERS

EX. : PCR *C. TRACHOMATIS* ET *N. GONORRHOEAE*

- Bactérie non cultivable (*C. trachomatis*) ou très fragile (*N. gonorrhoeae*) → Recherche par PCR



PU



Urines 1^{er} jets



PV, prélèvements
anal ou pharyngé

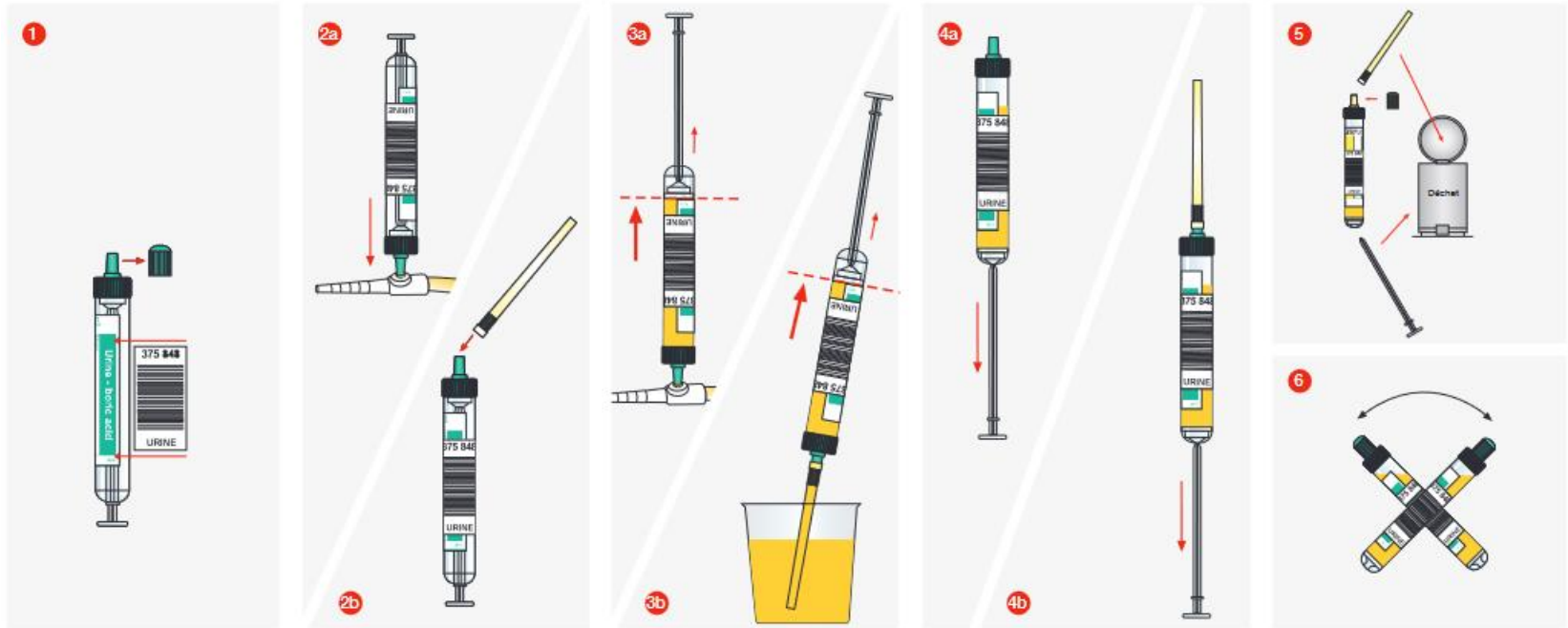
Autres écouvillons :
non pris en charge
sur l'automate





LES URINES

LES MONOVETTES

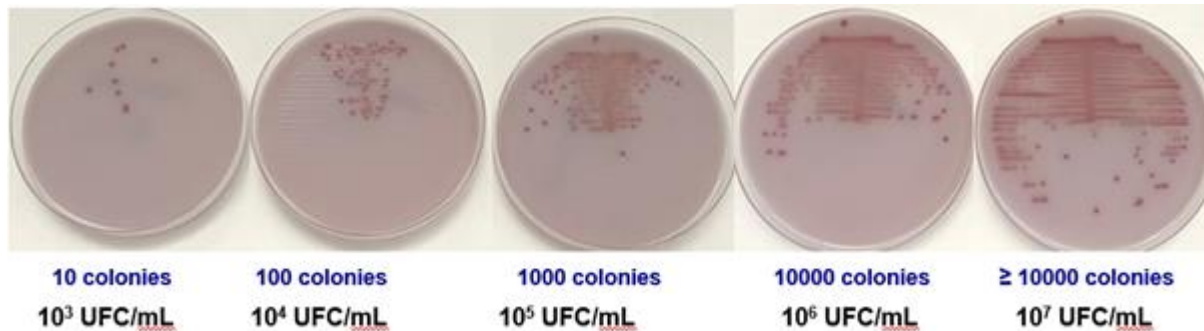


LES MONOVETTES

- **Monovette Urine avec stabilisateur (a. borique)**
 - Stabilise les microorganismes dans l'urine (évite prolifération)
 - Stable pour **48h** à température ambiante
 - Idéal et recommandé pour ECBU
- **Monovette Urine**
 - Pas de stabilisateur → prolifération bactérienne
 - Analyse de biochimie
 - Antigénuries Légionnelle et Pneumocoque
 - ECBU possible mais dans les **4h** suivant le prélèvement

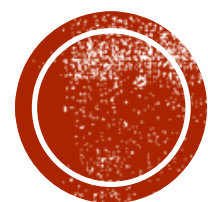


INTERPRÉTATION ECBU



Espèces bactériennes	Seuil de significativité	Sexe
<i>E. coli</i> et <i>S. saprophyticus</i>	10 ³ UFC/mL	Homme et Femme
Entérobactéries autres que <i>E. coli</i> , Entérocoques, <i>Corynebacterium urealyticum</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³ UFC/mL	Homme
	10 ⁴ UFC/mL	Femme
Bactéries à Gram + (<i>Streptococcus agalactiae</i> , staph coag - sauf <i>S. saprophyticus</i>) Bactéries à Gram – (<i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Stenotrophomonas</i> <i>maltophilia</i> , autres <i>Pseudomonas</i>) <i>Candida spp.</i>	10 ⁵ UFC/mL	Homme et Femme
Lactobacilles Streptococcus alpha-hémolytiques <i>Gardnerella vaginalis</i> , Bifidobacterium, Bacilles corynéformes (sauf <i>C.</i> <i>urealyticum</i> ou <i>C. minale</i>)	Pas de seuil Contamination possible A contrôler	Homme et Femme





LES HÉMOCULTURES

RAPPELS

- Le sang est un milieu normalement stérile
- Un état bactériémique se caractérise par le passage répété de micro organismes dans le sang
- Les hémocultures permettent le diagnostic des bactériémies ou fongémies
- Suspicion de bactériémie = hémocultures



Une hémoculture

Une « paire » d'hémocultures



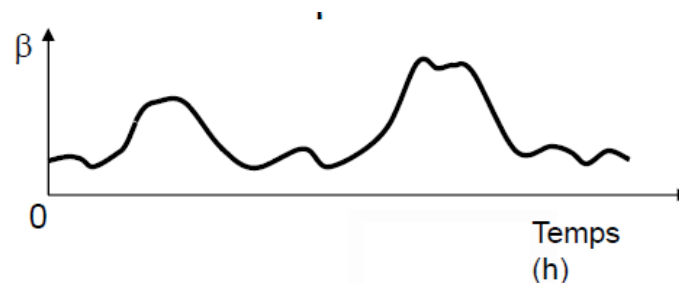
DIFFICULTÉS DE DÉTECTION D'UNE BACTÉRIÉMIE

- Faible prévalence des bactériémies
 - 5% à 15% des hémocultures réalisées sont positives



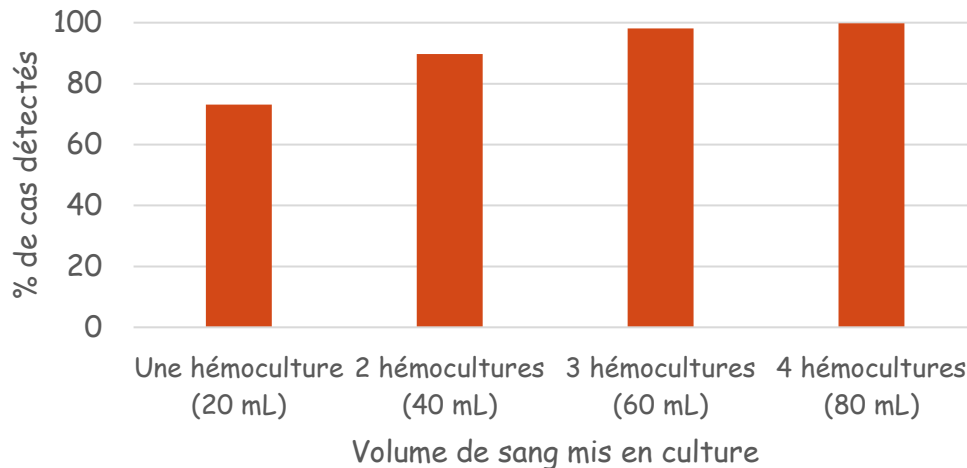
DIFFICULTÉS DE DÉTECTION D'UNE BACTÉRIÉMIE

- Faible prévalence des bactériémies
 - Faible concentration en micro-organismes
 - La bactériémie est continue avec des **quantités faibles et variables** dans le temps
 - Adulte bactériémique : densité bactérienne généralement très faible
- 50 % des patients ont < 1 microorganisme / mL de sang (forte variation : 0,01-100 bactéries/mL)



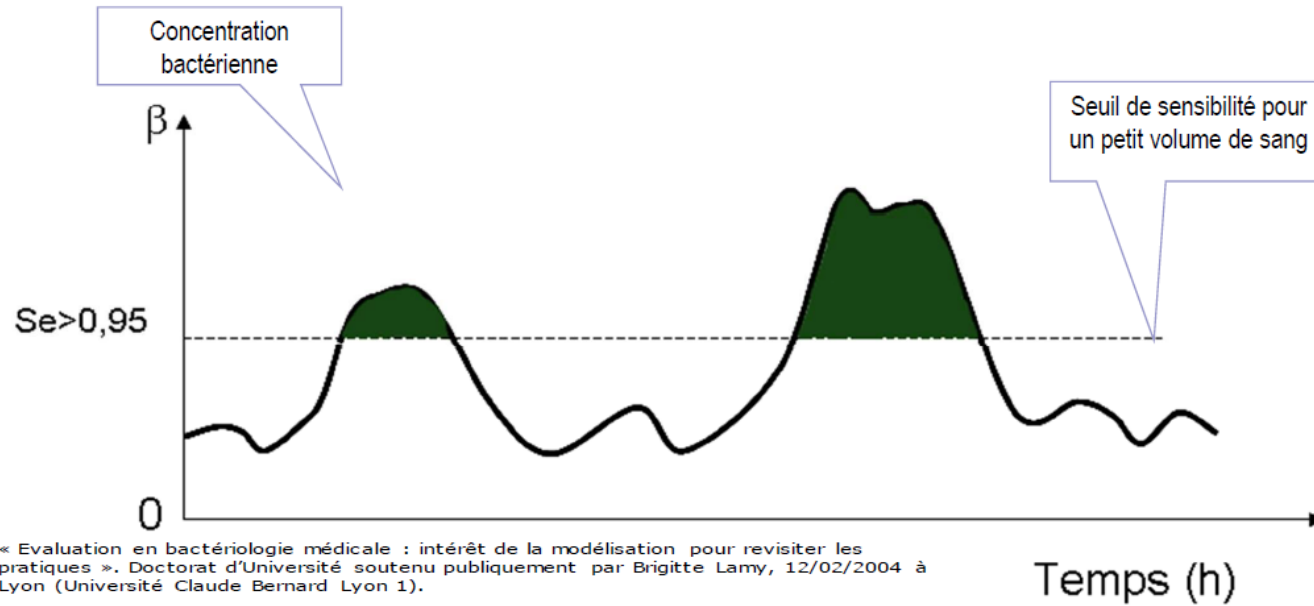
IMPORTANCE DU VOLUME DE SANG TOTAL

- Probabilité de détecter une bactériémie en fonction de :
 - la concentration bactérienne
 - du volume prélevé
- Faible concentration bactérienne : ≈ 1 microorganisme / ml de sang
- La sensibilité augmente avec le volume



IMPORTANCE DU VOLUME DE SANG TOTAL

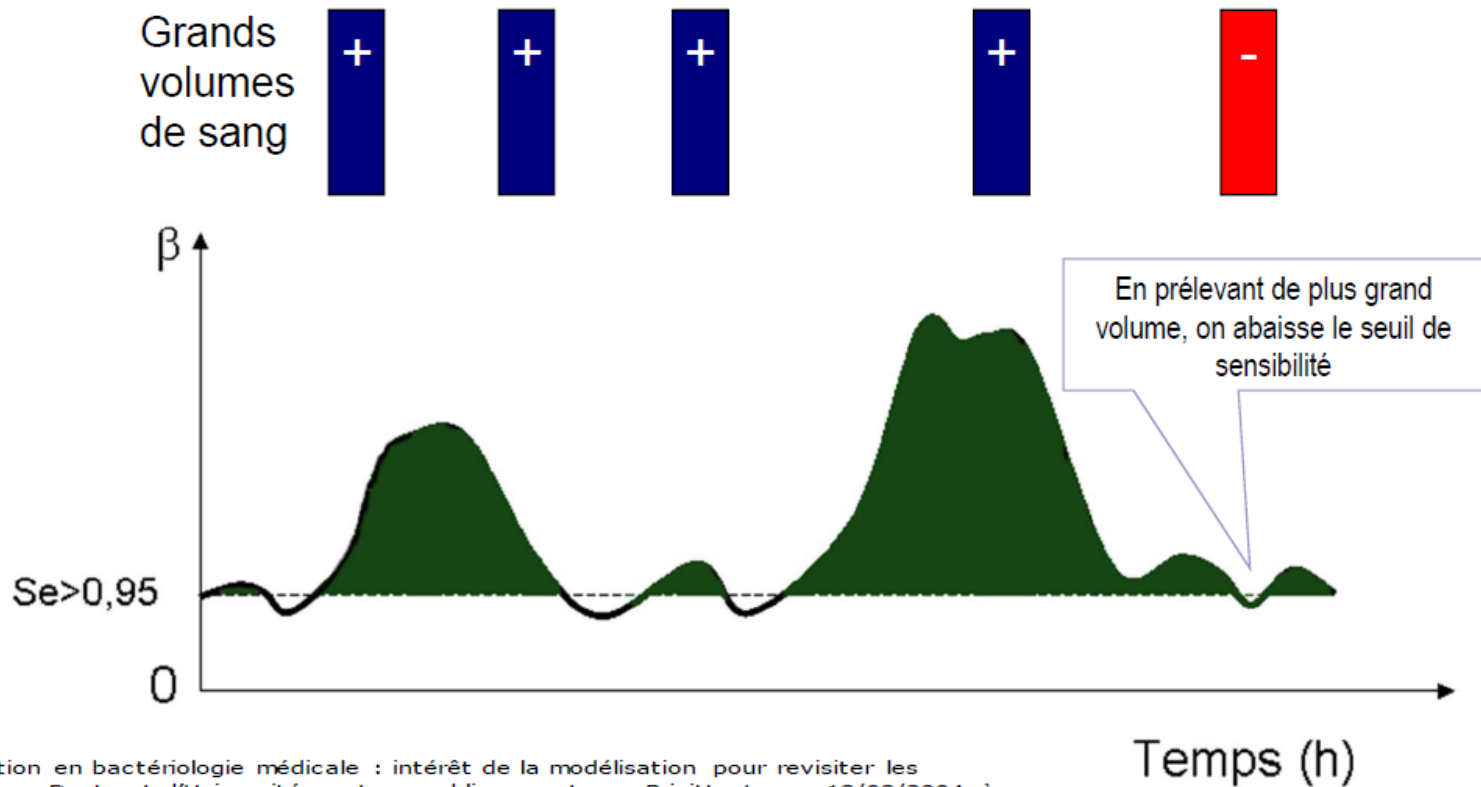
Petits volumes de sang



« Evaluation en bactériologie médicale : intérêt de la modélisation pour revisiter les pratiques ». Doctorat d'Université soutenu publiquement par Brigitte Lamy, 12/02/2004 à Lyon (Université Claude Bernard Lyon 1).



IMPORTANCE DU VOLUME DE SANG TOTAL



« Evaluation en bactériologie médicale : intérêt de la modélisation pour revisiter les pratiques ». Doctorat d'Université soutenu publiquement par Brigitte Lamy, 12/02/2004 à Lyon (Université Claude Bernard Lyon 1).



DIFFICULTÉS DE DÉTECTION D'UNE BACTÉRIÉMIE

- Faible prévalence des bactériémies
- Faible concentration en micro-organismes
- **Absence de moment optimal pour prélever**
 - En pratique, un pic fébrile et/ou des frissons déclenchent la recherche de micro organismes mais ces signes sont non spécifiques et peu discriminants
 - Seule recommandation, effectuer, si possible, le prélèvement **avant l'instauration de toute antibiothérapie**



DIFFICULTÉS DE DÉTECTION D'UNE BACTÉRIÉMIE

- Faible prévalence des bactériémies
- Faible concentration en micro-organismes
- Absence de moment optimal pour prélever
- **Un taux élevé de contaminations**
 - Sur la faible proportion d'hémocultures positives 30% à 50% sont des faux positifs = contaminants
 - Respecter les règles d'asepsie
 - Privilégier la ponction veineuse directe plutôt que le prélèvement sur cathéter (souvent colonisé)



RECOMMANDATIONS (REMIC 2018)

- **Volume optimal** : 40 à 60 mL => 4 à 6 flacons correctement remplis (8-10mL)
- **Limiter le nombre d'hémocultures** à 3 (6 flacons) par épisode clinique
- **Prélèvement unique ou multiple**



TAKE HOME MESSAGES

- Culture de bactéries → **Contenant stérile +++**
- **Écouvillons :**
 - Nombreux écouvillons différents, mais pas interchangeables !
 - Se renseigner auprès des laboratoires de son hôpital
- **Hémocultures :**
 - Volume de sang ++++ → **bien remplir les flacons !**

