

C2 – INS 12 Version 4

Prélèvements spécifiques : chez le nouveau-né, matériel chirurgical, prélèvements profonds, liquide de drain, liquide céphalo-rachidien

1. Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit les étapes à suivre pour réaliser des prélèvements spécifiques : liquides céphalo-rachidiens (LCR), liquide de drain, liquide d'ascite, liquide péritonéal, liquide pleural, liquide articulaire, prélèvement osseux, pus profond, liquide de kyste, pièce biopsique... prélèvements de matériel pour examen bactériologique : dispositifs intravasculaires (cathéters / KT, chambres implantables / PAC / port-à-cath), dispositifs intra-utérins / DIU / stérilets, clou, vis, ciment, plaque, pacemaker, mèche, redon, sonde urinaire,... ainsi que les prélèvements bactériologiques périnataux pour dépistage de colonisation.

A l'exception des dispositifs intra vasculaires et du matériel de chirurgie orthopédique, l'analyse des matériels, souvent contaminés par une flore commensale, n'a pas de réelle pertinence clinique. L'analyse bactériologique des sondes urinaires elles-mêmes a une valeur très limitée et doit être remplacée par l'ECBU dans les conditions décrites dans le chapitre spécifique.

2. Documents associés

- C2 – PR 01 « Prélèvements »
- C1 – ENR 05 « Feuille de prescription »
- C3 – PR02 « Transport, manipulation et conservation des échantillons »
- REMIC 2015 Référentiel en microbiologie médicale

3. Responsabilités

Le prescripteur est responsable de la demande adressée au laboratoire et de l'indication de l'analyse microbiologique. La nature du prélèvement bactériologique et/ou matériel (origine anatomique, mode de recueil) doit être indiquée, ainsi que le contexte (purpura, patient immunodéprimé, antibiothérapie en cours,...), les renseignements cliniques et thérapeutiques contributifs doivent être indiqués au laboratoire. Il est souhaitable de préciser si le prélèvement est fait via une fistule (contamination possible de l'échantillon).

Certains microorganismes sont recherchés sur prescription explicite : mycobactéries, virus par PCR, *Cryptococcus neoformans*,.... La recherche de mycoplasmes urogénitaux dans le liquide gastrique du nouveau-né peut être effectuée sur demande spécifique. Il est également nécessaire de préciser l'état civil de la mère afin que la correspondance entre les résultats positifs chez l'un et l'autre puisse être facilement établie.

Si le volume prélevé est faible, il est souhaitable que le prescripteur indique les examens à réaliser en priorité.

Le laboratoire fournit les informations nécessaires au bon prélèvement et au transport et est responsable de la mise en œuvre technique, de la validation et de la transmission des résultats.

4. Déroulement de l'activité

Ces types de prélèvement sont habituellement réalisés en établissement de soins par du personnel entraîné après désinfection soigneuse.

4.1. Matériel disponible

Flacons stériles

Tubes sous vide (type vacutainer)

Écouvillons avec milieu de transport (tige plastique ou aluminium)

4.2. Modalités de prélèvement

A tout moment, si possible avant antibiothérapie.

Pour les nouveau-nés il est recommandé d'effectuer les prélèvements le plus tôt possible après la naissance.

4.3. Technique de prélèvement (acte médical)

Ces prélèvements sont habituellement réalisés en établissements de soins par des praticiens entraînés. Pratiquer une antiseptie cutanée de type chirurgical :

- Détertion (Bétadine Scrub ou Hibiscrub)
- Rinçage par sérum physiologique
- Séchage
- Antiseptie (Bétadine ou Hibitane)
- Laisser sécher l'antiseptique

4.3.1. Liquide céphalo-rachidien

Il est recommandé de prélever successivement dans 3 tubes stériles (type tubes secs à bouchon rouge) numérotés 1, 2, 3 qui vont servir respectivement à l'examen biochimique, cytologique et bactériologique. Le prélèvement successif de ces 3 tubes peut permettre de discriminer entre piqûre vasculaire (gradient hématique) et hémorragie méningée (uniformité).

4.3.2. Prélèvements profonds

4.3.2.1. Suppurations closes liquide

Ne pas prélever à l'écouvillon.

Ponctionner à l'aiguille de gros diamètre montée sur seringue. Chasser l'air de la seringue et obturer avec un verrou stérile. Acheminer la seringue au laboratoire. Éviter le transfert du liquide dans un flacon stérile : le contact avec l'oxygène qui en résulte peut compromettre l'isolement de germes anaérobies.

Cas des liquides articulaires, d'ascite, pleural, péricardique : transférer une partie du prélèvement dans

- un tube citraté (bouchon bleu, cytologie)
- un tube sec (bouchon rouge, sans gel : bactériologie et recherche de cristaux pour liquide articulaire)
- un tube sec (bouchon rouge, sans gel : pour la chimie)

Cas de l'ensemencement sur flacon d'hémoculture : il est possible, notamment si le patient est sous antibiotiques, d'ensemencer une partie du liquide sur flacons

d'hémocultures (tout en conservant une partie de l'échantillon pour l'ensemencement classique). Ce procédé n'a pas d'intérêt si le liquide résulte de la perforation d'un organe creux septique (ex : pus péritonéal).

4.3.2.2. Echantillon solide

Ne pas prélever à l'écouvillon.

Les fragments tissulaires ou osseux de volume important sont placés dans un flacon stérile sans additif. Les fragments de petite taille, sont placés dans un flacon stérile avec 3 à 4 gouttes de sérum physiologique stérile dans le fond du flacon pour éviter le dessèchement de l'échantillon.

Pour la recherche spécifique de germes anaérobies, une seconde pièce biopsique est déposée dans un milieu de transport pour anaérobies préalablement demandé au laboratoire (GenerBag ANA).

Les prélèvements osseux per-opératoires sont, si possible, multiples (au moins 5 sites: os, matériel implanté, ciment,...)

4.3.2.3. Suppuration fistulisée

La fistule pouvant être colonisée par des germes commensaux, il est préférable de réaliser un prélèvement per-opératoire du foyer infectieux ou par ponction à partir de peau saine. Si ce geste n'est pas réalisable, le prélèvement est fait via la fistule après désinfection de la partie cutanée ou superficielle et aspiration par une aiguille ou un cathéter semi-rigide de la partie la plus profonde de la lésion.

4.3.3. Nouveau-né

Il est recommandé d'effectuer un prélèvement de liquide gastrique et deux prélèvements de sites périphériques

4.3.3.1. Liquide gastrique :

Quelques millilitres de liquide gastrique sont prélevés par aspiration à l'aide d'une sonde gastrique et déposés dans un flacon stérile.

4.3.3.2. Prélèvements périphériques :

Prélever 1 écouvillon avec milieu de transport pour chaque site.

Choisir 2 sites parmi : conduit auditif externe, narines, bouche, yeux, ombilic, anus.

4.3.3.3. Autres prélèvements :

* Placenta : un échantillon de placenta peut être prélevé par biopsie d'une zone de 1 cm² d'aspect macroscopiquement anormal, ou à défaut, près du site d'insertion du cordon. Deux frottis sont également prélevés par grattage : l'un sur la face amniotique, l'autre sur la face maternelle du placenta.

* Hémocultures : le prélèvement d'hémocultures chez un nouveau-né suspect d'infection est réalisé idéalement avant traitement antibiotique, soit sur cathéter ombilical, soit sur veine périphérique. Le sang capillaire n'est pas recommandé. Voir chapitre spécifique.

* Liquide céphalo-rachidien (LCR) : la ponction lombaire chez les enfants dans les 72 premières heures de vie est indiquée en cas d'altération de l'état général, de signes neurologiques ou de signes de sepsis et si l'état général de l'enfant le permet.

* ECBU : l'ECBU chez les nouveau-nés de moins de 72 heures n'est pas recommandé, de même que la recherche d'antigènes solubles.

* Prélèvements respiratoires : la recherche de *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum* est conseillée chez les nouveau-nés prématurés. En effet, leur implication dans les dysplasies bronchopulmonaires est fortement suspectée. Néanmoins une culture positive est d'interprétation difficile du fait de la présence fréquente de ces bactéries dans la flore vaginale.

* Prélèvements conjonctivaux : en cas de conjonctivite néonatale, la recherche de pathogènes responsables d'IST est conseillée en plus de la recherche de bactéries pyogènes habituelles.

4.3.4. Matériel

Le prélèvement est habituellement réalisé en établissement de soins par du personnel entraîné après désinfection cutanée ou périphérique soigneuse.

4.3.4.1. Dispositif intravasculaire

Prélèvements « matériel en place » : Prélever des hémocultures appariées (voir chapitre hémocultures).

Prélèvements avec ablation du dispositif : Retirer stérilement le matériel et le placer dans un récipient stérile. Il est recommandé de prélever les 5 derniers centimètres de la partie distale du cathéter.

4.3.4.2. Dispositif intra-utérin, clou, vis, ciment, plaque, pacemaker, mèche, redon

Retirer stérilement le matériel et le placer dans un récipient stérile.

4.3.4.3. Sonde urinaire

L'analyse bactériologique des sondes urinaires elles-mêmes a une valeur très limitée et doit être remplacée par l'ECBU dans les conditions décrites dans le chapitre spécifique.

4.3.5. Liquide de drain

Le prélèvement doit provenir d'un système de drainage clos. Un écouvillonnage du site d'insertion du drain (avant désinfection) peut être réalisé en complément afin de différencier une contamination superficielle du prélèvement d'une infection réelle.

4.4. Volume d'échantillon requis

Echantillons obtenus par écouvillonnage : sans objet
Liquides : autant que possible

LCR :

- L'examen biochimique et cyto-bactériologique nécessite 2 mL, soit 40 gouttes environ.
- Les examens spécialisés (antigènes de *Cryptococcus neoformans*, *Borrelia* spp, *Mycobacterium tuberculosis*, PCR virus, toxoplasmose, leptospirose,...) effectués sur demande explicite nécessitent en général chacun 1 mL supplémentaire soit 20 gouttes (voir guide de prélèvement du laboratoire partenaire).
- L'examen anatomo-pathologique du LCR nécessite environ 0,5 mL (10 gouttes).

4.5. Conservation et transport

| | |
|--|--|
| Liquide Céphalo Rachidien | Acheminement immédiat au laboratoire à température ambiante (à l'abri du froid). |
| Liquide de drain | 2 H à température ambiante. Au delà : 12 H au réfrigérateur. |
| Liquide gastrique | Acheminement immédiat au laboratoire à température ambiante (pour réalisation en urgence de l'examen direct en cas de suspicion d'infection néo-natale). |
| Prélèvements périphériques du nouveau-né | 2 H à température ambiante. |
| Prélèvements profonds | 2 H à température ambiante. Au delà : 12 H au réfrigérateur. |
| Matériel | 2H à température ambiante |

5. Classement, sauvegarde et archivage

Des feuilles de travail informatiques sont créées lors de l'enregistrement du dossier.

Ces feuilles sont archivées dans le logiciel.