

Prélèvements bactériologiques : broncho-pulmonaire, ORL, oculaires, cutanés (peau, plaie, écoulements purulents)

1. Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit la manière de réaliser les différents prélèvements bactériologiques. Il s'applique aux prélèvements de gorge, bouche, nez, sinus, oreille, œil, lésions cutanées et unguéales, plaies superficielles, morsures, ulcères, escarres et les prélèvements broncho-pulmonaires.

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 question adressée au laboratoire et de l'indication de l'analyse microbiologique. La nature du prélèvement bactériologique (origine anatomique, mode de recueil), le but de l'analyse (prélèvement à visée diagnostique, recherche de colonisation, contrôle pendant ou après traitement) contextes cliniques et autres (mucoviscidose, immunodépression, diabète, antibiothérapie en cours ou récente, morsure,...) doivent être indiqués. Certains germes sont recherchés sur prescription explicite : mycobactéries, *Nocardia* spp., *Legionella* spp....

Il est souhaitable que le prescripteur précise certains contextes : angine ulcéronécrotique, angine à fausses membranes, suspicion de candidose oropharyngée, caractère chronique d'une otite, prélèvement nasal pour dépistage de colonisation à *Staphylococcus aureus* ou à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM),...

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

4.1. Matériel utilisable pour le prélèvement

- Sérum physiologique stérile
- Ecouvillons Eswab
- Ecouvillons Eswab gros diamètre (bouchon rose)
- Ecouvillons Eswab petit diamètre (bouchon orange)
- Kits de prélèvement pour *Chlamydia trachomatis*
- Abaisse-langues
- Pince à épiler
- Flacons stériles à large ouverture
- Gants
- Scalpels à usage unique

4.2. Modalités de prélèvement

A tout moment, de préférence avant antibiothérapie. Respecter si possible un intervalle de 24 h entre l'application d'un topique (antibiotique ou désinfectant) et le prélèvement.

Respecter un intervalle de 8 jours entre l'administration d'antifongique par voie locale et un prélèvement cutané. Ce délai doit être de 1 mois s'il s'agit d'un prélèvement unguéal. En cas de traitement antifongique par voie générale un délai de 3 mois doit être respecté.

Prélèvement broncho-pulmonaire : Le recueil est fait de préférence avant antibiothérapie. Il a lieu le matin, au réveil, après rinçage bucco-dentaire à l'eau du robinet ou à l'eau stérile, avec, si nécessaire, l'aide d'un kinésithérapeute.

Pour les yeux : Eviter l'utilisation de produits de maquillage des yeux. Dans le cas de conjonctivite, faire le prélèvement avant toilette faciale pour conserver les sécrétions. Faire le prélèvement avant tout traitement local (antiseptiques ou antibiotiques) ou général (antibiotiques). Si le patient reçoit déjà un tel traitement, le signaler.

NB : La fluorescéine et l'oxybuprocaine ont un effet inhibiteur sur les techniques de PCR (*Chlamydia trachomatis*, virus par PCR,...). Dans ce cas, rincer l'œil au sérum physiologique avant prélèvement.

NB : Le préleveur doit porter des gants (certaines conjonctivites sont très contagieuses). Utiliser des gants sans talc (le talc peut inhiber la PCR).

4.3. Technique de prélèvement

4.3.1. Gorge

Mettre en place un éclairage adapté. Abaisser la langue pour dégager le pharynx et éviter tout contact salivaire. Faire émettre le son « A » pour diminuer le réflexe nauséux. Procéder à un écouvillonnage des amygdales (ou de l'amygdale atteinte) ou, en leur absence, des piliers du voile du palais à l'aide d'un écouvillon Eswab.

En présence d'un phlegmon de l'amygdale, adresser le patient à un ORL (prélèvement par ponction). En présence d'une ulcération, d'un exsudat, ou d'une lésion caractéristique, le prélèvement doit être effectué à ce niveau. Notons que la recherche directe de *Treponema pallidum* à ce niveau n'est pas recommandée en raison de la présence de tréponèmes commensaux et de la faible sensibilité de l'immunofluorescence directe. En cas de suspicion de diphtérie, prélever sur la périphérie ou sous les fausses membranes.

4.3.2. Langue, palais, face interne des joues

Prélever un écouvillon Eswab. Ce prélèvement est particulièrement adapté à la recherche de *Candida* spp. Les lésions caractéristiques (muguet, érosions) devront être préalablement recherchées.

4.3.3. Nez

Recherche de germes banaux : Ecouvillonner les 2 narines avec un écouvillon Eswab, qui peut être humidifié préalablement avec du sérum physiologique.

Recherche de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : Voir chapitre « Prélèvement pour dépistage de BMR ».

Recherche de *Bordetella pertussis* ou *Bordetella parapertussis* (coqueluche) par PCR : Voir le guide de prélèvement de notre laboratoire partenaire.

4.3.4. Sinus

Le prélèvement de pus de sinus est effectué par le clinicien par aspiration, ponction ou biopsie au niveau du méat moyen. L'écouvillonnage des fosses nasales ne convient pas.

Pour garantir la survie des germes anaérobies, le pus est adressé rapidement au laboratoire dans une seringue bouchée dont l'air aura été chassé.

4.3.5. Oreilles

Le prélèvement est réalisé par l'oto-rhino-laryngologiste

Otite moyenne aiguë : Nettoyer le conduit auditif externe avec une solution désinfectante puis sécher. Inciser le tympan, recueillir le pus de paracentèse à la seringue en chassant l'air et en fermant avec un verrou stérile. A défaut, prélever un écouvillon Eswab. Il est possible de réaliser un prélèvement d'otorrhée spontanée après rupture spontanée de la membrane tympanique.

Otite moyenne récidivante : Le caractère chronique doit être précisé sur la prescription car il entraîne la recherche systématique de germes anaérobies. Le prélèvement de l'otorrhée spontanée ou obtenue par paracentèse est effectué à la seringue ou à l'aide d'un écouvillon Eswab.

Otite externe : Débarrasser préalablement le conduit auditif externe des débris et croûtes à l'aide d'un écouvillon humidifié par du sérum physiologique. Réaliser ensuite le prélèvement à l'aide d'un écouvillon Eswab. Bien dégager le conduit auditif externe par traction du pavillon et écouvillonner sur les parois, tout en limitant le caractère douloureux du prélèvement.

4.3.6. Yeux

Prélèvements pouvant être effectués au laboratoire

Conjonctive - Recherche de germes banaux : Utiliser un seul écouvillon Eswab. Maintenir les paupières écartées et écouvillonner en effectuant un frottement doux de la conjonctive inférieure en partant de l'angle externe pour aboutir à l'angle interne où la sécrétion est recueillie.

Conjonctive - Recherche de Chlamydia trachomatis : Voir chapitre spécifique

Conjonctive - Recherche de virus (culture ou PCR) : Voir guide de prélèvement du laboratoire partenaire

Canal lacrymal : A l'aide d'un écouvillon Eswab, prélever au niveau de l'ostium du canal lacrymal.

Paupières (recherche de Demodex) : Arracher à la pince à épiler 8 à 10 cils par œil, les déposer dans une boîte de Pétri et adresser rapidement au laboratoire.

Prélèvements effectués par un ophtalmologiste

Cornée (kératite) : Examen bactériologique : Grattage cornéen à l'aide d'un écouvillon avec milieu de transport ou d'une éponge montée stérile.

Cornée (kératite) : Examen mycologique : Grattage cornéen qui doit ramener des cellules.

Cornée (kératite) : Examen virologique : Grattage cornéen avec un écouvillon que l'on décharge dans un milieu de transport pour *Chlamydia* spp.

Ponction de liquide (humeur aqueuse, vitré) : La ponction est effectuée à la seringue par l'ophtalmologiste.

4.3.7. Expectoration / crachat

Se rincer la bouche à l'eau du robinet ou à l'eau stérile. Recueillir dans le pot stérile l'expectoration générée au cours d'un effort de toux. Il faut éviter au maximum de recueillir de la salive. Celle-ci masque en effet la flore pathogène et génère des difficultés d'interprétation des résultats. Ce prélèvement peut être réalisé au laboratoire, en établissement de soins ou à domicile.

4.3.8. Autres prélèvements broncho-pulmonaires :

Ils sont réalisés en établissements de soins par des pneumologues. Il peut s'agir de lavage broncho-alvéolaire, brossage bronchique protégé ou aspiration endotrachéale. Ils ont pour objet de rechercher les germes en causes dans des pneumopathies (souvent profondes) en évitant la contamination du prélèvement par la flore commensale oro-pharyngée. Selon la prescription certains germes spécifiques peuvent être recherchés.

Des hémocultures sont recommandées pour le diagnostic des pneumopathies communautaires aiguës ou atypiques. En cas d'épanchement pleural associé, du liquide pleural peut être prélevé pour examen bactériologique.

Recherche de *Nocardia* spp. Cette recherche est possible sur expectoration ou aspiration bronchique mais doit être effectuée préférentiellement sur des prélèvements protégés (lavage broncho-alvéolaire, brossage bronchique protégé). Elle est également possible sur liquides de ponction, sur biopsie,...

Recherche de *Legionella* spp. Cette recherche peut être effectuée sur expectoration, aspiration bronchique, lavage broncho-alvéolaire (voire sur liquide pleural, abcès pulmonaire, biopsie pulmonaire).

Recherche d'antigénurie légionelle (*Legionella pneumophila* séro groupe 1) Voir chapitre spécifique.

Recherche d'antigénurie pneumocoque (détection du polysaccharide C de *Streptococcus pneumoniae*) La sensibilité de ce test de dépistage est comprise entre 77 et 89 % dans les pneumonies bactériémiques et entre 44 et 64 % dans les pneumopathies non bactériémiques. Sa spécificité est moyenne (81 à 99 %). L'excrétion du polysaccharide C est prolongée (6 semaines à 3 mois). Elle ne se négative pas sous antibiothérapie efficace.

Recherche de mycobactéries Voir chapitre spécifique

4.3.9. Prélèvements cutanés

Des informations pertinentes concernant la nature de la lésion (aspect visuel), le contexte clinique et thérapeutique doivent être recueillies par le préleveur sur la feuille de prélèvement et le dossier du patient. Le préleveur s'équipe de gants pour les prélèvements

Peau saine ou lésion non suintante Prélèvement cutané à l'aide d'un écouvillon Eswab.

Ongle (prélèvement unguéal) Après lavage des zones lésionnelles à l'eau et au savon et séchage à l'air ou avec une compresse stérile, racler des fragments d'ongle au scalpel à la jonction de la zone saine et de la zone atteinte et les recueillir dans une Boîte de Pétri. Un coupe-ongle stérile peut être utilisé pour atteindre la jonction ongle sain/ongle atteint. Des squames peuvent être recueillies en parallèle à l'aide d'un écouvillon Eswab. En cas de péri onyxis, prélever le pus sur un écouvillon Eswab en pressant si nécessaire la lésion.

Lésion cutanée superficielle (impétigo, ecthyma, bulle, folliculite, furoncle, anthrax) Après désinfection des zones en périphérie lésionnelle, prélever la lésion en évitant la peau saine à l'aide d'un écouvillon Eswab.

Inflammation cutanée, érysipèle, hypodermite. Habituellement réalisé par un praticien entraîné (dermatologue). Désinfecter la zone. A l'aide d'une seringue et d'une aiguille fine, injecter dans la lésion un peu de sérum physiologique et réaspirer. Aspirer ensuite 1 ml de sérum physiologique dans la seringue pour éviter le dessèchement du prélèvement. Boucher stérilement (sans aiguille).

Morsure Aspirer le liquide de la blessure avec une seringue. Aspirer ensuite 1 ml de sérum physiologique dans la seringue pour éviter le dessèchement du prélèvement.

Boucher stérilement (sans aiguille). A défaut faire 2 écouvillonnages profonds à l'aide d'écouvillons Eswab

Infection superficielle de site opératoire Habituellement réalisé en établissement de soins par un praticien entraîné (chirurgien). L'écouvillonnage de la cicatrice n'est pas recommandé. Il est préférable de prélever au cours de l'ouverture chirurgicale de la plaie, par aspiration à l'aiguille fine ou par biopsie. En cas de suppuration profonde fistulisée, voir le chapitre des prélèvements profonds.

Ulcération, escarre, lésion cutanée nécrotique : Le prélèvement n'est recommandé qu'en cas de signes locaux (douleur, inflammation péri-ulcéreuse) ou généraux (adénite, fièvre). Le prélèvement d'escarre ne doit être fait qu'aux stades III et IV. Ne pas prélever les escarres à l'écouvillon. Ce type de prélèvement recueille en effet les germes de colonisation (la colonisation est habituelle et massive sur ce type de lésions) ou de contamination cutanée et ne permet pas d'isoler le germe éventuellement responsable d'infection profonde.

Le prélèvement le plus adapté est la biopsie osseuse ou de tissus profonds. Pour cela, nettoyer la plaie, éliminer les exsudats, débrider les tissus nécrosés, appliquer l'antiseptique cutané, laisser sécher. Rincer au sérum physiologique stérile. Biopsier la lésion ou cureter le bord actif, placer l'échantillon au fond d'un pot stérile et ajouter 3 à 4 gouttes de sérum physiologique stérile.

En cas d'impossibilité ou de non disponibilité d'un praticien entraîné, prélever à l'aiguille fine le liquide inflammatoire produit par la lésion, en injectant et réaspirant si nécessaire un peu de sérum physiologique stérile. Aspirer ensuite 1 ml de sérum physiologique dans la seringue pour éviter le dessèchement du prélèvement.

Plaies cutanées chez le brûlé. Le mode de prélèvement se fait soit par écouvillonnage soit par biopsie. On effectue 2 prélèvements à l'admission du patient : le premier sur la peau saine autour de la brûlure, le second sur la peau brûlée. Au cours de l'hospitalisation, les prélèvements sont orientés par l'aspect clinique, la présence de pus, la lyse d'une greffe, l'aspect cartonné de la brûlure. Il est inutile de faire le prélèvement après déterision ou antiseptie, sauf orientation clinique précise.

4.4. Volume d'échantillon requis

Echantillons obtenus par écouvillonnage : sans objet

Echantillons liquides : autant que possible (en évitant de recueillir de la salive pour les prélèvements par expectoration).

4.5. Conservation et transport

	Ecouvillons secs uniquement	Ecouvillon avec milieu de transport +/- écouvillon sec (réservé à l'examen direct)	Echantillons liquides
Durée maximale de conservation	2 H	12 H (ou 48 H si Eswab)	2 H
Température	Ambiante	Ambiante	Ambiante

5. Classement, sauvegarde et archivage

Des feuilles de travail informatique sur scanbac sont créées automatiquement lors de l'enregistrement du dossier. Ces feuilles sont archivées dans le logiciel.