

C2 – INS 20 Version 4

Prélèvements pour dépistage de germes spécifiques: Bactéries Multi Résistantes(BMR), mycobactéries, mycoplasme, chlamydia trachomatis

1. Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit les étapes à suivre pour réaliser les dépistages de portage de bactéries multi résistantes (BMR), pour rechercher les mycoplasmes urogénitaux, recherche de *Chlamydia trachomatis* ou recherche de mycobactéries.

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
EMCM : European manual of Clinical Microbiology 2012
Annexe au contrat de coopération LBM VIALLE – CCF

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 (origine anatomique) et le but de l'analyse (recherche de BMR) doivent être indiqués. La nature du prélèvement bactériologique doit être indiquée (les mycobactéries atypiques sont systématiquement recherchées sur les biopsies cutanées), ainsi que certains contextes (immunodépression).

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 selon les différentes recherches

- Ecouillons avec milieu de transport (tige plastique ou aluminium),
- Ecouillons secs (tige plastique ou aluminium)
- Ecouillons Eswab
- Flacons avec milieu de transport pour mycoplasmes UMMt
- Kits de prélèvement ROCHE pour *Chlamydia trachomatis* (contenant des écouillons spécifiques et un milieu de transport spécifique)
- Kits de prélèvements **du laboratoire sous traitant** pour *Chlamydia trachomatis* (contenant des écouillons spécifiques et un milieu de transport spécifique)
- Spéculums à usage unique
- Flacons à urine sans acide borique (d'après les fiches techniques Roche).
- Flacons stériles à large ouverture
- Gants sans talc

4.2. Modalités et technique de prélèvement

4.2.1. BMR :

Le CLIN définit les catégories de patients concernés par le dépistage et le moment du dépistage.

La recherche de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) est effectuée au niveau nasal ou sur plaie chronique. La recherche d'entérobactéries avec céphalosporinase hyperproduite (HCase), Bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), Carbapénèmase (EPC), d'entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), de *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime (PARC), d'*Acinetobacter baumannii* multi-résistantes au beta-lactamines (ABMR), est effectuée au niveau rectal. La recherche de PARC ou ABMR peut également être réalisé sur gorge ou aspiration trachéale (si dispositif intra-trachéal).

4.2.1.1. Prélèvement nasal

A l'aide d'un écouvillon avec milieu de transport ou Eswab petit diamètre (bouchon orange), écouvillonner les fosses nasales antérieures (1 seul écouvillon pour les 2 côtés). Introduire l'écouvillon sur 1 à 2 cm et effectuer 5 rotations de l'écouvillon (protocole CCLIN Ouest).

4.2.1.2. Prélèvement de gorge

Abaisser la langue pour dégager le pharynx et éviter tout contact salivaire, faire émettre le son « A » pour diminuer le réflexe nauséeux. Ecouvillonner les amygdales et les piliers du voile du palais avec un écouvillon avec milieu de transport ou Eswab.

4.2.1.3. Prélèvement rectal

Réaliser un écouvillonnage rectal avec un écouvillon avec milieu de transport ou Eswab gros diamètre (bouchon rose) ou recueillir un échantillon de selles.

4.2.2. Mycoplasmes urogénitaux:

4.2.2.1. Prélèvement génital chez la femme

Les modalités de mise en place du speculum sont détaillées dans « les prélèvements génitaux féminins ». Nettoyer l'exocol à l'aide d'un écouvillon ordinaire. A l'aide d'un autre écouvillon sec (éviter les écouvillons avec milieu de transport), prélever l'endocol et le vagin en écouvillonnant bien la muqueuse pour recueillir des cellules. L'écouvillon prélevé peut être conservé 3 H à température ambiante ou 4 H au réfrigérateur. S'il ne peut parvenir dans ces délais au laboratoire, le décharger dans le flacon de milieu de transport UMMt qui sera apporté au laboratoire dans les meilleurs délais.

4.2.2.2. Prélèvement génital chez l'homme

Choisir un écouvillon sec tige aluminium (éviter les écouvillons avec milieu de transport). Prélever en introduisant l'écouvillon dans l'urètre sur 3-4 cm. L'écouvillon prélevé peut être conservé 2 H à température ambiante ou 4 H au réfrigérateur. S'il ne peut parvenir dans ces délais au laboratoire, le décharger dans le flacon de milieu de transport UMMt qui sera apporté au laboratoire dans les meilleurs délais.

4.2.2.3. Urines

Le recueil est effectué au mieux le matin (1^{ère} miction du matin) chez un patient n'ayant pas uriné depuis plus de 1h ou à distance de la miction précédente (au moins 3 H) dans le cas des urétrites subaiguës. Il consiste à recueillir le 1^{er} jet urinaire (moins de 10 ml). Ne pas utiliser de flacons à urine avec conservateur (type acide borique).

4.2.2.4. Sperme

Le recueil est effectué après un délai d'abstinence de 2 à 5 jours. Le jour du recueil : Uriner aux toilettes, se laver les mains, procéder à une désinfection soigneuse du gland, du méat, du sillon balano-préputial et du prépuce à l'aide de la lingette. Recueillir le sperme par masturbation dans le flacon stérile fourni par le laboratoire.

4.2.2.5. Liquide gastrique de nouveau-né

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

4.2.3. Chlamydia trachomatis

Pour vérifier une éradication après traitement antibiotique, respecter un intervalle d'un mois entre la fin du traitement et le prélèvement (délai d'élimination des acides nucléiques). Il faut éviter les prélèvements sanglants.

4.2.3.1. Prélèvement génital chez la femme avec utilisation du Kit ROCHE (analyse transmise au laboratoire CCF)

Nepas prélever pendant la période menstruelle. En cas de symptomatologie évocatrice, un prélèvement endocervical est souhaitable (HAS). Les modalités de mise en place du spéculum sont précisées dans « prélèvements génitaux féminins ».

Nettoyer l'exocol à l'aide du 1^{er} écouvillon. Introduire ensuite le 2^{ème} écouvillon *Chlamydia trachomatis* dans l'endocol de manière à ne plus voir l'extrémité et faire tourner l'écouvillon pendant 3 à 5 secondes.

Retirer l'écouvillon en évitant de toucher les parois vaginales. Décharger l'écouvillon dans le milieu de transport spécifique en l'agitant ou en le tournant vigoureusement pendant une quinzaine de secondes puis le laisser dans le milieu de transport en cassant l'extrémité de la tige.

A noter que chez la femme asymptomatique, un dépistage par prélèvement vaginal simple peut être effectué (HAS)

4.2.3.2. Urines avec utilisation du Kit ROCHE (analyse transmise au laboratoire CCF)

Moment du recueil : au mieux la 1^{ère} miction du matin, sinon recueillir les urines à distance de la miction précédente (3 H d'intervalle au moins). Ne pas faire de toilette locale ou de désinfection. Recueillir le 1^{er} jet urinaire (moins de 10 ml). Ne pas utiliser de flacon contenant un conservateur (acide borique).

4.2.3.3. Prélèvement génital chez l'homme avec utilisation du Kit MultiCollect, Abbott (analyse transmise au laboratoire CERBA)

Le patient ne devrait pas avoir uriné pendant au moins une heure avant la collecte de l'échantillon.

- Introduire délicatement la partie terminale de l'écouvillon de collecte d'échantillon dans l'urètre.
- Tourner doucement l'écouvillon pendant 2 à 3 secondes dans l'urètre.
- Placer immédiatement l'écouvillon de collecte d'échantillon dans le tube de transport d'échantillon.
- Casser la tige au niveau de la ligne de coupe ; procéder avec précaution pour éviter la projection du contenu.

- Refermer hermétiquement le tube de transport d'échantillon.

4.2.3.4. [Ulcération génitale avec utilisation du Kit MultiCollect, Abbott \(analyse transmise au laboratoire CERBA\)](#)

Sérovars L1 à L3 : lymphogranulomatose vénérienne ou maladie de Nicolas et Favre, rare en Europe : ulcération génitale indolore qui peut passer inaperçue puis lymphadénite parfois fistulisée ou rectite.

Le prélèvement consiste en une ponction ganglionnaire ou un écouvillonnage de l'ulcération à déposer dans le milieu de transport spécifique. En cas de rectite, réaliser une biopsie rectale ou un écouvillonnage anal et déposer dans le milieu de transport spécifique. En pratique, cette demande est exceptionnelle.

4.2.3.5. [Sperme avec utilisation du Kit MultiCollect, Abbott \(analyse transmise au laboratoire CERBA\)](#)

Le prélèvement est effectué après un délai d'abstinence de 2 à 5 jours. Le jour du recueil : Uriner aux toilettes, se laver les mains, procéder à une désinfection soigneuse du gland, du méat, du sillon balano-préputial et du prépuce à l'aide de la lingette. Recueillir le sperme par masturbation dans le flacon stérile fourni par le laboratoire et le transférer dans le milieu spécifique.

4.2.3.6. [Œil \(conjonctivite\) avec utilisation du Kit MultiCollect, Abbott \(analyse transmise au laboratoire CERBA\)](#)

A l'aide de l'écouvillon spécifique *Chlamydia trachomatis*, gratter prudemment la conjonctive après retournement des paupières inférieure et supérieure en effectuant 4 allers-retours. Décharger et casser l'écouvillon dans le milieu de transport spécifique.

4.2.4. [Mycobactéries](#)

Etant donné la sensibilité limitée de l'analyse, la répétition des examens (3 minimum) est nécessaire.

4.2.4.1. [Expectoration](#)

Le recueil a lieu de préférence le matin à jeun si possible. Au minimum 2 à 3 ml de crachats doivent être obtenus, après un effort de toux. La recherche est également possible sur aspiration bronchique, lavage broncho-alvéolaire, brosse bronchique protégé.

4.2.4.2. [Tubage gastrique](#)

Chez les sujets qui ne peuvent ou ne veulent pas cracher, le tubage gastrique permet de recueillir les sécrétions bronchiques dégluties au cours de la nuit chez les patients à jeun. Le patient doit être maintenu alité depuis la veille et le prélèvement réalisé le plus tôt possible après le réveil. 5 à 6 ml d'aspiration du liquide gastrique sont recueillis dans un récipient stérile. Le tubage gastrique est effectué comme les crachats 2 à 3 jours consécutifs.

4.2.4.3. [Urines.](#)

Le recueil doit être réalisé 3 jours de suite. Recueillir après toilette locale soigneuse la totalité de la 1^{ère} miction du matin.

4.2.4.4. [Abcès, biopsies, liquides de séreuses, LCR.](#)

Les prélèvements sont réalisés stérilement par le médecin.

4.3. Volume requis, conservation et transport

	Volume	Conservation et transport
Dépistage BMR	<p>Ecouvillon : sans objet</p> <p>Selles :</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Echantillons avec milieu de transport : 12H à température ambiante - Ecouvillons Eswab : 24h à température ambiante. - Selles : 12 H au réfrigérateur
Mycoplasmes uro-génitaux	Ecouvillon sec : sans objet	<p>3H à température ambiante</p> <p>4 H au réfrigérateur</p> <p>(*d'après les informations obtenues auprès d'ELITECH (Mycofast))</p>
	Ecouvillon sec déchargé dans un flacon UMMt : sans objet	<p>20 H à température ambiante</p> <p>56 H au réfrigérateur</p> <p>(*d'après les informations obtenues auprès d'ELITECH (Mycofast))</p>
	Echantillons liquides urines, sperme, gastrique : 0,3 mL	<p>3 H à température ambiante</p> <p>4 H au réfrigérateur</p> <p>(*d'après les informations obtenues auprès d'ELITECH (Mycofast))</p>
	Echantillon liquide transféré dans un flacon UMMt : 0,3mL	<p>20 H à température ambiante</p> <p>56 H au réfrigérateur (*d'après les informations obtenues auprès d'ELITECH (Mycofast))</p>
Chlamydia trachomatis	Milieu ROCHE : Urines du 1 ^{er} jet : 2mL à 10mL	<p>Entre 2 et 30°C jusqu'à 12 mois</p> <p>*d'après les fiches techniques Roche.</p>
	Milieu ROCHE : Echantillons obtenus par écouvillonnage : sans objet	<p>Entre 2 et 30°C jusqu'à 12 mois</p> <p>*d'après les fiches techniques Roche.</p>
	Sperme : au moins 0,5 mL	
	Ecouvillons et autres types de prélèvements (biopsies, sperme, liquide péritonéal...) dans le milieu de transport MultiCollect, Abbott	<p>14j à 4°C ou -20°C (milieu de transport MultiCollect, Abbott)</p>
Mycobactéries	Expectoration : Au minimum 2 mL	<2H ou 48H au réfrigérateur si prescription <u>exclusive</u> de recherche de mycobactéries
	Tubage gastrique : autant que possible	<2H ou 48H au réfrigérateur si prescription <u>exclusive</u> de recherche de mycobactéries
	Urines : totalité de la 1 ^{ère} miction du matin (minimum 30mL) x 3jours	<2H (apporter chaque jour les urines au laboratoire) ou 48H au réfrigérateur si prescription <u>exclusive</u> de recherche de mycobactéries
	Abcès, biopsie, liquide de séreuse : autant que possible	<2H ou ou 48H au réfrigérateur si prescription <u>exclusive</u> de recherche de mycobactéries
	LCR : 1mL	<2H ou ou 48H au réfrigérateur si prescription <u>exclusive</u> de recherche de mycobactéries

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 Scanbac.