Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit les conditions d'exécution des prélèvements microbiologiques, à l'exception des prélèvements urinaires.

Responsabilités

Les examens de biologie médicale sont réalisés sous la responsabilité des biologistes médicaux qui déterminent les procédures applicables : ordonnance n°2010-49 du 13/01/2010, articles L. 6211-7 et 211-15.

Personnel autorisé :

- Infirmières diplômées d'état (article R 4311.7 décret n°2004-802 du 29 juillet 2004 relatif aux parties IV et V du Code de la Santé Publique et modifiant certaines parties de ce code) : prélèvement non sanglant effectué au niveau des téguments ou des muqueuses directement accessibles, prélèvement et collecte de sécrétions ou d'excrétions, recueil aseptique des urines.
- Sages-femmes : agissant en tant qu'infirmiers (ières) en dehors de soins donnés aux femmes enceintes ou aux nouveau-nés, elles peuvent effectuer les mêmes prélèvements que les infirmiers (ières). Dans le domaine de leur activité spécifique, elles peuvent réaliser le frottis cervico-vaginal au cours de la grossesse et lors de l'examen post-natal.
- Médecins
- Pharmaciens-biologistes : décret n°2016-46 du 26 janvier 2016

  « Les pharmaciens biologistes peuvent effectuer, sur prescription médicale et en vue d'analyses de biologie médicale :

  1° Les ponctions de moelle osseuse. Ces prélèvements ne peuvent être réalisés que dans des établissements de santé et dans un environnement médicalisé permettant une intervention immédiate en cas de complications ;

  2° Les ponctions artérielles au niveau de l'artère fémorale ou de l'artère radiale, selon les modalités prévues par arrêté du ministre chargé de la santé. Ces prélèvements ne peuvent être réalisés sur une personne mineure qu'en situation d'urgence.

  Les pharmaciens biologistes doivent justifier de la possession d'une attestation de formation. Le contenu de cette formation et les conditions de délivrance de cette attestation sont fixés par arrêté du ministre chargé de la santé. »

Déroulement de l'activité

1. <u>Conditions d'asepsie générale</u>

Pour tout prélèvement de microbiologie, suivre le protocole d'utilisation d'un antiseptique chez l'adulte de l'établissement de santé.

Avant chaque prélèvement, réaliser une hygiène des mains par PHA et mettre des gants dès contact avec des liquides biologiques.

2. Prélèvement urétral

Le prélèvement urétral doit être fait de préférence le matin avant toute toilette, avant le 1er jet d'urine ou au moins 2 heures après la dernière miction en recueillant le pus ou l'écoulement au méat urétral.

- *Femme :*

  Patiente en position gynécologique.
  Recueillir à l'aide d'un écouvillon fin le pus d'écoulement spontané.

- *Homme :*

  Patient assis ou en position semi-allongé.
  Recueillir l'écoulement urétral de préférence le matin avant toute émission d'urines.
  Pour la recherche de chlamydia ou de mycoplasmes, il est préférable de pratiquer un grattage endo-urétral à l'aide d'un écouvillon en dacron monté sur une tige métallique.

3. Prélèvement vaginal ou cervico-vaginal

Généralités

La patiente doit éviter toute toilette intime, tout traitement local (crème, gels, savons, ovules…) ainsi que tout rapport sexuel dans les 24 heures précédant le prélèvement
Il est conseillé d'éviter le prélèvement pendant la période menstruelle car la flore est modifiée.
Le prélèvement doit être réalisé, de préférence, avant ou à distance de tout traitement antibiotique (> 15 jours pour les chlamydiae, > 5 jours pour les germes banals).
Le prélèvement au niveau de l'endocol s'effectue après nettoyage de la glaire cervicale.

Prélèvement

Patiente en position gynécologique
Spéculum sans lubrifiant avec un éclairage adapté.
Eliminer le mucus et les secrétions de l'exocol.
Prélever en fonction du tableau suivant :

Site de prélèvement	Cul de sac vaginal			Endocol		Vulvo-vaginal
Que rechercher ?	Germes banals	Mycoplasmes	Trichomonas	Chlamydia trachomatis	Gonocoque (Neisseria gonorrhoeae)	Herpès
Nombre d'écouvillons	1	1	1	1	1	1
Type d'écouvillons	Ecouvillons floqués (milieu AMIES liquide)	Ecouvillons floqués (milieu AMIES liquide)	Ecouvillons floqués (milieu AMIES liquide)	Ecouvillons floqués (milieu AMIES liquide)	Ecouvillons floqués (milieu AMIES liquide)	Ecouvillon sec à décharger dans milieu de transport

4. Prélèvement de sperme

Classiquement après une abstinence de 3 jours.
Mais peut être réalisé sans période d'abstinence, après une miction suivie d'une désinfection soignée avec un antiseptique : du gland, du méat, du sillon balano-préputial, du prépuce et des mains, suivie d'un rinçage soigneux avec du sérum physiologique.
Recueil dans un flacon stérile à large ouverture.
En cas de symptomatologie urétrale, il est conseillé de procéder également à un prélèvement urétral ou 1er jet d'urine.

5. Prélèvement des fosses nasales

Réaliser un écouvillonnage des fosses nasales ou des fosses antérieures (portage de staphylocoques) ou des fosses postérieures (sinusite, rhinopharyngite).
Il est également possible de réaliser un lavage naso-pharyngé avec de l'eau physiologique et recueillir le liquide dans un flacon stérile.

6. Prélèvement de gorge

Prélèvement réalisé avec un écouvillon au niveau:

- Soit des amygdales de préférence
- Soit des piliers du voile du palais
- Soit de la paroi postérieure du pharynx

Abaisser la langue
Frotter l'écouvillon sur la surface de chaque amygdale et toute la surface d'aspect pathologique.

7. Prélèvement d'oreille externe

Préciser s'il s'agit d'un prélèvement d'otite externe ou moyenne.
Nettoyer le conduit auditif.
Prélever en appuyant sur les parois à l'aide d'un ou 2 écouvillons.

8. Prélèvement oculaire

Un écouvillonnage de la sécrétion oculaire lors d'une conjonctivite peut être réalisé.

9. Prélèvement des sécrétions broncho-pulmonaires et expectorations

Il y a plusieurs types d'échantillons possibles.

- Expectoration (crachat) : prélèvement à effectuer de préférence le matin après un rinçage bucco-dentaire à l'eau stérile) ou lors d'un effort de toux

- Aspiration bronchique: recueil dans un pot stérile par fibroscopie

- Aspiration endo-trachéale : recueil du produit d'aspiration par la sonde d'intubation dans un pot stérile.

De manière générale, il convient d'éviter la présence de salive.

10. Prélèvement des cathéters, stérilet, pacemaker

Procéder stérilement au retrait du matériel, couper stérilement les 5 cm de l'extrémité distale pour les cathéters longs et la partie insérée pour les cathéters courts (cf. protocole en vigueur dans l'établissement).

Placer tous ces prélèvements dans des récipients stériles et hermétiques.

11. Biopsies diverses

Placer la biopsie dans un tube stérile et ajouter éventuellement (petits échantillons) quelques gouttes de sérum physiologique stérile (NaCl 0.9 ‰ stérile).
Pour la recherche d'Helicobacter pylori, il convient d'utiliser un milieu de transport spécifique contenant au minimum deux morceaux de biopsie.

12. Prélèvement de matières fécales ou prélèvement rectal

Recueillir les selles dès émission dans un récipient propre puis mettre l'équivalent d'une noix dans le récipient stérile à l'aide d'une spatule.
Réaliser un écouvillonnage au niveau du rectum.

13. Liquide de ponction

Il s'agit d'un acte médical.
Prélèvement par ponction dans des conditions d'asepsie rigoureuse pour éviter une contamination par la flore commensale cutanéo-muqueuse. **Les écouvillons sont formellement déconseillés.**
Le liquide de ponction est transvasé dans un tube stérile ou une seringue bouchée stérilement et hermétiquement (d'au moins 3 ml de liquide) sans bulle d'air.

14. Liquide céphalo-rachidien

Il s'agit d'un acte médical.
Ponction lombaire réalisée avec une asepsie rigoureuse.
Quantité de LCR : la quantité de LCR nécessaire est de 2 à 5ml chez l'adulte et idéalement de 2ml chez l'enfant, répartis dans 3 tubes stériles (si examens biochimiques et microbiologiques prescrits). Des analyses complémentaires (mycobactéries, dépistage de la maladie de Lyme…) nécessitent 1 à 2 ml supplémentaires.

15. Prélèvements péri-nataux

- Liquide gastrique : aspirer quelques millilitres de liquide gastrique avec une sonde gastrique montée sur une seringue et transférer dans un pot stérile.

- Prélèvements périphériques (sites cutanés et orificiels) : écouvillonnage (milieu de transport si acheminement différé).

16. Prélèvement de lésions et suppurations cutanées

Au préalable, une détersion au sérum physiologique de la zone à prélever et éventuellement une désinfection des zones proximales sont nécessaires.

• Prélèvement sur peau saine ou lésion non suintante
Utiliser 2 écouvillons avec milieu de transport.

• Peau avec lésions cutanées superficielles
En cas d'impétigo, ecthyma, bulles, folliculite, furoncle, …prélever 2 écouvillons avec milieu de transport.

• Inflammation cutanée, érysipèle, hypodermite
Après avoir nettoyé le site, aspirer un peu de sérosité à l'aide d'une seringue (aiguille boutonnée, cathéter souple…). Aspirer ensuite 1 ml d'eau physiologique stérile dans la seringue pour éviter le desséchement. Boucher stérilement.
L'autre possibilité est la réalisation d'une biopsie de la lésion qu'il faut ensuite placer au fond d'un flacon stérile.

• Morsures
Aspirer le liquide présent dans la blessure avec une seringue (aiguille boutonnée, cathéter…). Aspirer ensuite 1 ml d'eau physiologique stérile pour éviter le desséchement. Boucher stérilement. A défaut, après désinfection des zones proximales, pratiquer un écouvillonnage profond et utiliser un milieu de transport.

• Plaies superficielles
Pour les infections superficielles du site opératoire, prélever l'écoulement de la cicatrice de préférence par aspiration à la seringue (aiguille boutonnée, cathéter…) ou pratiquer une biopsie ou une aspiration à l'aiguille fine au cours de la reprise chirurgicale. **L'écouvillonnage de la cicatrice doit être évité.**

• Ulcération, escarre, lésions cutanées nécrotiques
Les écouvillonnages des escarres sont à bannir car ils reflètent la colonisation bactérienne.
Nettoyer la plaie, éliminer les exsudats, débrider les tissus nécrosés si nécessaire, (l'application d'un antiseptique cutané est possible (REMIC 2018)) et laisser sécher. Rincer au sérum physiologique stérile. Réaliser une biopsie de la lésion ou cureter le bord actif de la lésion et placer l'échantillon dans un flacon stérile. Eventuellement, aspirer le liquide inflammatoire produit par la lésion.
L'écouvillonnage doit être évité.

• Fistule
Après avoir désinfecté la partie superficielle avec un antiseptique, aspirer à l'aide d'une aiguille boutonnée ou avec un cathéter souple la partie profonde de la lésion, dans une seringue acheminée bouchée au laboratoire. Si nécessaire, aspirer 1 ml d'eau physiologique stérile pour éviter le dessèchement dans la seringue.

17. Prélèvement pour un examen mycologique de la peau et des phanères

• Lésions de la peau glabre

Pour les lésions squameuses, prélever en raclant fortement les squames à la périphérie des lésions à l'aide d'une curette, d'un grattoir ou, à défaut d'un vaccinostyle stérile. Les échantillons sont recueillis dans un flacon stérile.
Réaliser un prélèvement au ruban adhésif transparent pour la mise en évidence de P. versicolor.
Régions pileuses, lésions inflammatoires ou suintantes : prélèvement de squames à l'écouvillon.

• Lésions des plis
Selon l'aspect des lésions : gratter les squames en bordure de la lésion (lésions sèches et squameuses), frotter les sérosités successivement à l'aide d'écouvillons (lésions macérée et suintante), percer les vésicules et prélever la sérosité à l'écouvillon (lésion vésiculeuse).

• Lésions unguéales
Couper toute la partie de l'ongle atteint avec des ciseaux, jusqu'à la limite des tissus sains. Il est aussi possible de prélever des poussières d'ongles en raclant la tablette interne de l'ongle, ou les îlots blanchâtres de la surface de l'ongle, au vaccinostyle ou à la curette stérile. Prélever le pus de périonyxis éventuel en pressant la lésion (écouvillon).

• Lésions du cuir chevelu et des zones pileuses
Prélever les cheveux cassés à proximité du bulbe. Prélever les squames et les croûtes éventuelles en raclant à la curette. Recueillir les divers prélèvements dans un flacon stérile. En cas de lésions inflammatoires suppurées, prélever les suppurations avec un écouvillon.

Règles de conservation et archivage

Tous les documents relatifs à la qualité des activités du laboratoire sont archivés par le qualiticien. Les archives sont conservées en lieu sûr, à l'abri de l'humidité et de la lumière, dans un local prévu à cet effet, dont l'accès est limité au personnel du laboratoire (porte fermée à clef).

A l'issue de la période définie d'archivage, les archives sont détruites sous la responsabilité du RAQ avant d'être éliminées (dans le respect de la confidentialité des données).

La procédure de gestion des enregistrements et archivage décrit les principes de gestion et d'archivage des documents externes et de tous les documents produits par le laboratoire.

Bibliographie et/ou supports de rédaction

- REMIC 2018
- PROT-PB-020 Protocole d'utilisation des antiseptiques chez l'adulte

Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Dr MOUNZER Salam *Biologiste médical*	*Dr MOUNZER Salam* *Biologiste médical*	*Dr KHORSI Slimane* *RAQ*