

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITY ABOU BAKR BELKAID

TLEMCEM

FACULTE DE MÉDECINE

DEPARTMENT DE PHARMACIE

THÈME

Les prélèvements en microbiologie

Mémoire en microbiologie

Présenté par:

- ❖ M^{elle} ABABOU Hadjer
- ❖ M^{elle} DAFFI Soumia
- ❖ M^{elle} BENMOSTEFA Khawla

Encadré par: Dr: BENABADJI
Chef service de Microbiologie

Année Universitaire: 2010-2011

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITY ABOU BAKR BELKAID

TLEMEN

FACULTE DE MÉDECINE

DEPARTMENT DE PHARMACIE

THÈME

Les prélèvements en microbiologie

Mémoire en microbiologie

Présenté par:

- ❖ M^{elle} ABABOU Hadjer
- ❖ M^{elle} DAFFI Soumia
- ❖ M^{elle} BENMOSTEFA Khawla

Encadré par: Dr: BENABADJI
Chef service de Microbiologie

Année Universitaire: 2010-2011

dédicace

*Que DIEU a tout le puissant que nous avons pu achever ce
travail*

Je dédie :

*A mes tres chere parents FATIMA et MOHAMED, leurs
puissance et leurs aides morales et matériel.*

*A ma sœur KHADIDJA que je souhaite le bohneur ;et mon
frère ABDALMALLEK,*

A mes très chères tantes: ZAHRA, YAMINA et FATIHA

*A ma grande mere KHADRA et mes cousines ASMA ,
SALIMA ,HAFSA FATIMA ,et IKHLAS*

Atoute la famille ABABOU, MEDJEHED ,

A mes amies SOMIA, DALILA et AMINA .KHAWLA

A mon encadreur Dr BENABEDJI et leur famille

A toute la promotion de 5^{eme} année pharmacie



PLAN

Chapitre1

I) introduction.....	3
I).1.microbiologie.....	5
-définition.....	5
-objectif.....	5
-historique.....	6
I).2.les micro-organismes.....	6
-définition.....	6
-historique.....	6
-classification.....	7

chapitre2

II) la phase pré-analytique des analyse médical.....14

1. prescription médicale.....	14
a-ordonnance.....	15
b-La prescription détaillée.....	16
2. prélèvement.....	16
a-préleveur.....	17
b-le moment de prélèvement.....	17
c-cite de prélèvement.....	17
d-une quantité suffisante de matériel est nécessaire de prélèvement.....	17
e-les méthodes de prélèvement.....	18
f-contamination de prélèvement.....	19
g-récipient contenant les échantillons.....	19

3. délai de transport et conservation.....	19
a-conservation des échantillons.....	19
b-milieux de transport.....	20
c-transfert d'échantillon.....	20

Chapitre3

III) les différentes types de prélèvements en microbiologie.....	22
III).1.Prélèvement du sang	19
III).2.Prélèvement de liquide céphalorachidien.....	27
III).3.Prélèvement d'urine.....	30
III).4.Prélèvement de matière fécale.....	33
III).5.Prélèvement d'expectoration bronchique.....	36
III).6.Tubage gastrique.....	38
III).7.Prélèvements cutanées.....	39
III).8.Prélèvement vaginale.....	41

I. INTRODUCTION :

La microbiologie médicale est l'étude des micro-organismes pathogènes pour l'homme. Elle a pour principal objectif le diagnostic spécifique des infections, mais embrasse également l'épidémiologie, la pathogénèse, le traitement et la prévention des maladies infectieuses.

Bien que l'incidence des maladies microbiennes ne soit pas très élevée dans les pays développés, les épidémies d'infections restent encore inquiétantes. Dans les pays en voie de développement, les maladies microbiennes font un grand nombre de victimes, en terme de morbidité comme de mortalité. Chaque année surviennent, dans le monde, 3 à 5 milliards d'épisodes de diarrhée infectieuse (causés par une trentaine d'agents pathogènes possibles), qui provoquent 5 à 10 millions de décès (principalement des enfants).

Cependant, même les diarrhées infectieuses deviennent insignifiantes en comparaison des 12 millions de morts causées chaque année par les infections aiguës de l'arbre respiratoire. Des infections comme la poliomyélite, la coqueluche et la typhoïde (qui ont été à peu près éradiquées dans les pays développés) ont encore une forte incidence globale. On estime à 10 milliards le nombre d'infections par le Poliovirus chaque année, occasionnant 10 millions de cas de poliomyélite, et dix mille décès par an. La tuberculose était qualifiée de « capitaine des soldats de la mort » dans l'Europe du dix-neuvième siècle, période au cours de laquelle elle était responsable d'un taux annuel de 500 morts pour 100 000 habitants. Avec les progrès de l'alimentation et des conditions sociales, de la chimiothérapie et de la vaccination, l'incidence de la tuberculose a considérablement décru. Dans les années 60 et 70 par exemple, elle diminuait de 5 à 10 % chaque année. Malheureusement, un plateau a été atteint dans les pays développés avec un taux de 10 pour 100 000 habitants, et une recrudescence a été observée entre 1985 et 1992 avec, par exemple, une augmentation de 20 % de l'incidence aux États-Unis.

En plus de la résurgence d'« anciens » germes infectieux, comme *Mycobacterium tuberculosis*, on assiste à l'identification, voire à l'émergence de « nouveaux » agents pathogènes, allant de pair avec la mise au point de nouvelles technologies, les modifications des modes de vie, et les progrès dans le domaine de la survie médicalement assistée. Nous estimons qu'au cours des deux dernières décennies, deux à trois « nouveaux » pathogènes ont été décrits chaque année. Parmi eux, des virus comme celui de Muerto Canyon (responsable du syndrome pulmonaire à Hantavirus), le virus de l'immunodéficience humaine (responsable du SIDA), ou les Astrovirus (responsables de diarrhées), des bactéries comme *Bartonella henselae* (responsable de la maladie des griffes du chat), *Legionella pneumophila* (responsable de la maladie du légionnaire) et

Tropheryma whippelii (responsable de la maladie de Whipple), des parasites comme *Cryptosporidium parvum* et *Cyclospora cayetanensis* (tous deux responsables de diarrhées), et *Strongyloides* (responsable de décès chez des nouveau-nés en Papouasie-Nouvelle Guinée).

On a longtemps espéré qu'avec l'avènement de l'ère des antibiotiques (voire des antiviraux), on disposerait d'armes miraculeuses pour traiter la plupart des infections. Bien qu'initialement ces espoirs aient été concrétisés, des bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques sont apparues récemment (les « super-microbes »). Citons par exemple certaines souches de *Salmonella typhi* (agent de la typhoïde), résistantes à tous les antibiotiques de première intention (cotrimoxazole, ampicilline, chloramphénicol, tétracycline et ciprofloxacine). La plupart des gènes responsables de la résistance sont portés par des plasmides (ADN circulaire extra-chromosomique), qui peuvent facilement être transférés entre espèces ou genres bactériens. À l'heure actuelle, l'émergence des résistances est à peine en retard sur la production de nouveaux antibiotiques. Ceci est en partie dû au mauvais usage de ces derniers, et en partie à la capacité infinie des bactéries à muter sous la pression des antibiotiques, ainsi qu'à leur vitesse de réplication (dans des conditions optimales, certaines multiplient leur nombre par deux toutes les vingt minutes).

Enfin, les nouvelles technologies permettent de mieux comprendre comment les microorganismes causent les maladies, aident à diagnostiquer les infections, et même à définir de « nouveaux » agents pathogènes. Ainsi, bien que le virus de l'hépatite C n'ait pu jusqu'à présent être cultivé artificiellement, la combinaison de techniques de clonage, d'insertion dans des vecteurs, d'amplification par PCR et d'expression du génome viral, ont conduit à la mise au point d'outils de diagnostic et de typage.

1). la microbiologie :

❖ Définition de la microbiologie :

-Branche de la médecine s'attellant à la recherche des microbes dans les prélèvements d'origine humaine dans le but de diagnostiquer des pathologies infectieuses. Elle est dans certains pays une spécialité médicale à part entière (associée le plus souvent à l'infectiologie) et dans d'autres une sous-spécialité de la biologie médicale.

-La microbiologie est la science qui étudie les micro-organismes, on a :

- La Bactériologie clinique
- La *Virologie médicale* (les virus n'étant pas considérés comme de véritables êtres vivants, certains auteurs les excluent du monde des microbes).
- La *Mycologie médicale*
- La *Parasitologie médicale* (on ne parle pas tout le temps de microbiologie pour la parasitologie étant donné la taille de certains parasites).

-Les agents infectieux sont les micro-organismes capables d'envahir et de se multiplier au sein des tissus des organismes vivants (animaux ou végétaux). Ces micro-organismes peuvent occasionner des maladies lorsque leur multiplication n'est pas contrôlée par l'immunité de l'organisme cible. Ces micro-organismes sont transmissibles, c'est à dire qu'un individu sain peut s'infecter au contact d'un individu infecté

❖ Objectifs de la microbiologie :

Les objectifs de la microbiologie sont la connaissance de l'ensemble des microorganismes qui nous entourent (bactéries, champignons, algues, virus), la compréhension et le contrôle de leurs activités lorsqu'elles sont nuisibles (examen microbiologique des prélèvements et des liquides biologiques, contrôle de qualité, antibiothérapie,...), l'utilisation et l'amélioration de leurs propriétés lorsqu'elles sont bénéfiques (levures, yaourt, antibiotiques, vaccins.. ;).

Donc Microbiologie concerne :

-Avoir des notions sommaires sur les classifications des microbes

-Expliquer sommairement la biologie microbienne

-Connaître les modes de transmission et les moyens de lutte contre les microorganismes.

- le contrôle des infections et maladies infectieuses des hommes et des animaux (Microbiologie médicale). On parle de zoonose pour une infection qui peut affecter plusieurs espèces, voire l'homme (anthropozoonose). Les microorganismes pathogènes ne forment qu'une petite partie des germes vivant au contact des hommes et animaux (à distinguer des germes commensaux et opportunistes). La sécurité sanitaire des aliments devient actuellement une composante essentielle.

- le contrôle des maladies des plantes

- l'utilisation des bactéries de l'environnement et de l'industrie (fermentation alcoolique, usines de traitement des eaux usées...)

❖ Historique :

Dès l'Antiquité, on croyait à l'existence d'agents infectieux transmissibles, invisibles à l'œil nu. Les micro-organismes seront observés pour la première fois en 1677 par Antoine van Leeuwenhoek et son microscope.

A partir de 1857, Louis Pasteur met en évidence le rôle des micro-organismes dans les fermentations lactique et alcoolique.

En 1884, Hans Christian Gram développe une technique de coloration (nommée « coloration de Gram ») qui permet la classification des bactéries.

Il faudra attendre 1928 pour qu'Alexander Fleming découvre les propriétés antibactériennes de la pénicilline ; puis 1997 pour que le premier génome bactérien (celui d'*Escherichia coli*) soit séquencé.

A. Antoine van Leeuwenhoek (1632-1723)

Antoine van Leeuwenhoek a amélioré le microscope en 1677, en polissant des lentilles à la main. Cet outil qui grossissait 300 fois a ainsi permis la découverte des bactéries. C'est le premier à avoir étudié les micro-organismes et la biologie cellulaire.

B. Louis Pasteur (1822-1895)

A partir de 1854, Pasteur étudie les processus de fermentation. Ses recherches s'étaleront sur 15 ans. Il constate, grâce au microscope, que toutes les fermentations sont l'œuvre de micro-organismes : les ferments.

En 1862, grâce à l'expérience du ballon «à col de cygne», il démontre qu'un liquide reste inaltéré en prenant la précaution de le mettre à l'abri des micro-organismes. En revanche, si ce liquide est laissé à l'air libre, de nombreux microbes s'y développent. (C'est la découverte de la notion de stérilité d'un milieu).

Louis Pasteur isolera 3 germes entre 1878 et 1880 : le streptocoque, le staphylocoque et le pneumocoque. En affirmant que chaque maladie a son microbe et que celui-ci vient de l'extérieur dehors, Pasteur établit les règles de bases de l'asepsie.

En 1880, Pasteur travaille sur le choléra des poules. Il découvre que les animaux ne meurent pas si on leur injecte la culture d'un microbe vieilli. De plus, ces mêmes poules inoculées quelques jours plus tard avec une culture très virulente, demeurent en parfaite santé : elles sont vaccinées. Louis Pasteur réussit à affaiblir le virus de la rage en suspendant une moelle contaminée dans un bocal dont l'air est asséché. Il applique pour la première fois, avec succès, son vaccin antirabique à un jeune garçon, Joseph Meister, le 6 juillet 1885.

Il recherchera ensuite les causes possibles des altérations du vin. Il démontre que les responsables sont des germes bactériens parasites au processus de fermentation naturel. Il apprend alors aux industriels à ne travailler qu'avec des

germes purs et leur montre comment des instruments mal lavés deviennent rapidement le refuge de germes parasites. Il invente une technique appelée pasteurisation. Elle consiste à chauffer le liquide quelques minutes à une température située entre 55 et 60°C afin d'éliminer les germes indésirables du milieu.

❖ Les micro-organismes :

1. Définition :

Les micro-organismes sont des êtres vivants microscopiques, invisibles à l'œil nu : ils doivent être observés au microscope.

2. Classification et caractéristiques

On distingue les micro-organismes procaryotes qui ne possèdent pas de noyau, comme les bactéries et les Archaea, et les micro-organismes eucaryotes qui possèdent un noyau, comme les champignons, les levures, les algues et les protozoaires.

A. Les procaryotes Les archéobactéries

Les archéobactéries sont des bactéries primitives qui se distinguent des eubactéries (bactéries « vraies ») par certains caractères biochimiques comme la constitution de la membrane cellulaire ou le mécanisme de réplication de leur ADN (Acide DésoxyriboNucléique).

Le groupe des archéobactéries ou Archaea ne comprend essentiellement que des espèces anaérobies, c'est-à-dire n'ayant pas besoin d'oxygène.

Elles sont très diversifiées. Certaines sont connues pour leur capacité à vivre dans des milieux extrêmes et occupent des niches écologiques qu'elles sont souvent seules à occuper comme les milieux très acides, très salés ou très chauds. Par exemple, *Acidophilus thermophilus* s'est adaptée aux conditions (acides et brûlantes) de vie dans les geysers. D'autres vivent dans des milieux plus courants comme le sol, la mer ou l'intestin des animaux.

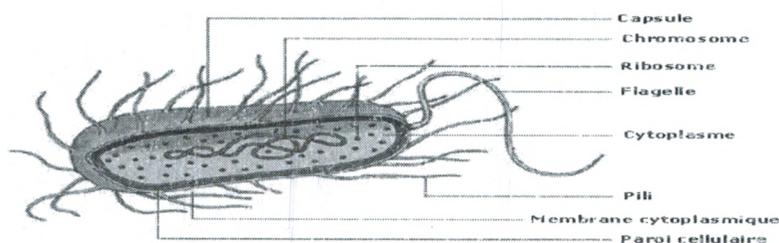


Figure 1 : Structure d'une cellule procaryote (bactérie)

1. Les eubactéries

On retrouve les bactéries dans notre quotidien, sol, nourriture...

2. Les bactéries

Les bactéries sont communément appelées microbes. Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, caractérisés par une absence de noyau et d'organites. L'ADN d'une bactérie est contenu dans un seul chromosome. Certaines bactéries n'ont aucune division interne, tout leur métabolisme s'effectue dans le cytoplasme ou sur la membrane cellulaire. Les ribosomes, petites structures nécessaires à la synthèse des protéines, sont dispersés dans le cytoplasme ou fixés à l'intérieur de la membrane plasmique.

A. Identification des bactéries

1. Coloration de Gram

Les bactéries sont généralement entourées d'une paroi cellulaire. Celle-ci permet l'identification de nombreux types de bactéries. La coloration de Gram est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie médicale pour la classification des bactéries. On distingue :

Les bactéries à Gram positif (colorées en violet ou mauve avec la coloration de Gram) ; Les bactéries à Gram négatif (colorées en rose par la technique de Gram)
Le résultat du test permet de choisir un antibiotique efficace en cas d'infection.

2. Les formes

Les bactéries se présentent sous des formes diverses :

les cocci (ou coques) de forme ronde (ex. Streptococcus) ;

les bacilles, bâtonnets allongés aux extrémités arrondies (ex. Lactobacillus) ;

les formes intermédiaires ou coccobacilles (ex. les bactéries du genre Brucella) ; les

spirilles de forme plus ou moins spiralée (ex. Azospirillum).

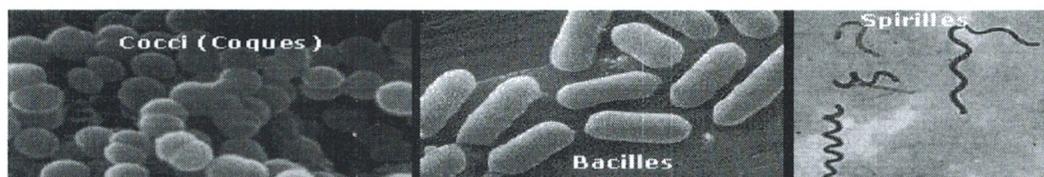


Figure 2 : Formes des bactéries

B. Les eucaryotes

Les eucaryotes ont un système membranaire interne enfermant des organites comme le noyau, les mitochondries ou les vacuoles. Le noyau contient le matériel génétique de la cellule. Les mitochondries libèrent l'énergie fournie par les aliments : ce sont les centrales énergétiques de la cellule. Les vacuoles sont de petites cavités membranaires chargées d'une multitude de fonction dont la décomposition de substances absorbées par la cellule (digestion).

Ils présentent un cytosquelette interne constitué de tubules et de filaments qui peuvent se contracter. Ils sont essentiels pour les mouvements internes et la division (mitose) de la cellule.

Les protistes regroupent les êtres vivants mobiles et unicellulaires. Le règne des protistes se divise principalement en trois groupes : les protozoaires à affinités animales, les protophytes à affinités végétales et les myxomycètes à affinité fongique.

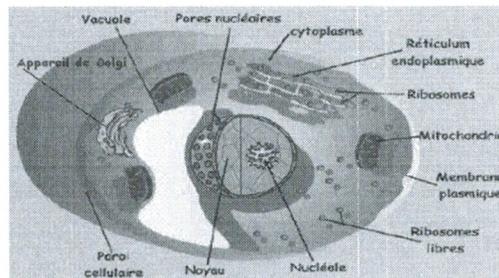


Figure 4 : Structure d'une cellule eucaryote

1. Les protozoaires

Ils se trouvent dans le sol, l'eau douce, l'eau de mer, mais aussi comme parasites des animaux et des Hommes.

Les protozoaires ne possèdent pas de paroi cellulaire. Ils se nourrissent par endocytose : le protozoaire émet dans la direction de sa proie des protubérances cytoplasmiques (pseudopodes) qui l'enveloppent, puis les pseudopodes se rejoignent, et la proie est alors enfermée dans une vésicule dans le cytoplasme-même. Elle sera digérée grâce à l'intervention d'enzymes digestives.

Remarque : selon la taille du matériel absorbé, on distingue la pinocytose (ingestion de fluides ou de macromolécules) et la phagocytose (absorption de grosses particules voire de cellules).

Parmi les protozoaires, on peut citer les amibes avec leurs pseudopodes, les ciliés qui possèdent deux noyaux (macro et micronucléus) et les sporozoaires qui sont des parasites.

2. Les algues

Contrairement aux champignons et aux protozoaires, les algues ont des pigments chlorophylliens. Ce sont des êtres vivants capables de photosynthèse dont le cycle de vie se déroule généralement en milieu aquatique.

Les algues sont présentes dans le sol, les plantes, l'eau douce et l'eau de mer.

Elles sont autotrophes, c'est-à-dire qu'elles ont la capacité de produire de la matière organique en procédant à la réduction du carbone minéral (dioxyde de carbone). Cela s'accompagne d'un prélèvement de sels minéraux dans le milieu.

La majorité des protophytes constitue le phytoplancton.

3. Les champignons

Les champignons sont présents dans le sol, les plantes, les débris végétaux, le lichen. Ils peuvent être parasites de l'Homme, des animaux et des plantes.

Les champignons sont absorbotrophes (ils se nourrissent par absorption). Ils secrètent des enzymes qui digèrent des polymères dans le milieu extérieur : ce mécanisme chimique transforme par exemple les glucides en petites molécules qui sont ainsi absorbées. Parmi les champignons on peut citer les levures. Ce sont des champignons unicellulaires qui provoquent la fermentation de matières organiques animales ou végétales. Elles sont employées pour fabriquer le pain, la bière, le vin .

4. Les lichens (association champignon-algue)

Un lichen est une association entre un champignon hétérotrophe (ascomycète) et une algue verte (cyanobactérie). Cette symbiose est durable et reproductible: elle donne naissance à de nouveaux individus. Le champignon fournit le support, les sels minéraux et la réserve d'humidité, tandis que l'algue apporte les nutriments issus de la synthèse chlorophyllienne.

c.virus :

La virologie est l'étude des virus et des agents infectieux associés. Elle cherche à décrire leurs structures, évolutions, les mécanismes leur permettant d'infecter les cellules et de mettre à profit les mécanismes cellulaires pour se reproduire, afin de les classer. Cette étude concerne aussi les maladies causées par les virus, les techniques pour les isoler et les cultiver, et leur usage en recherche et en thérapeutique. La virologie est généralement considérée comme une branche de la microbiologie ou de la pathologie.

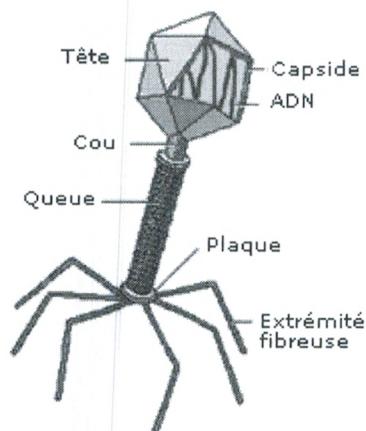
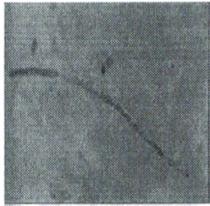


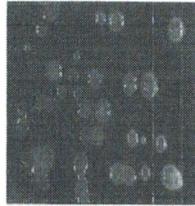
Figure 6 : Structure d'un virus bactériophage

Quelques exemples des germes étudiés :

Les champignons :

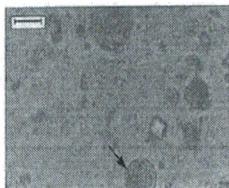


Candida albicans

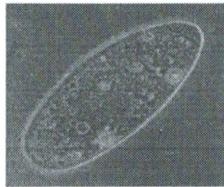


Culture de *Cryptococcus neoformans*

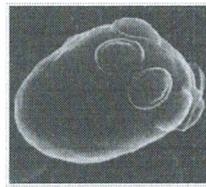
Les protozoaires :



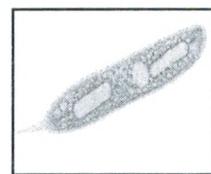
Kystes d'*Entamoeba histolytica*



Exemple de protozoaire

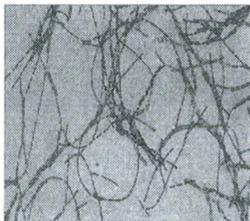


Levure



Algue

Les bactéries :



Bacillus cereus



Moraxella catarrhalis.



Clostridium perfringens



Gardnerella vaginalis,

II). Phase pré-analytique des analyses de microbiologie médicale

1. Introduction :

Les principaux objectifs des analyses microbiologiques sont d'isoler et d'identifier les micro-organismes pathogènes et de mesurer leur sensibilité aux antibiotiques. Les analyses sont définies par un ensemble d'étapes successives, allant du prélèvement de l'échantillon biologique jusqu'à la remise des résultats. La qualité des résultats microbiologiques dépend aussi de celle des phases pré-analytique et analytique, ainsi que de la validation des résultats.

La phase pré-analytique comprend plusieurs étapes, dont la séquence et la coordination doivent être sans faille. Il s'agit en effet d'une phase "critique" pour laquelle le choix de l'échantillon et de ses modalités de prélèvement, de transport et de conservation doivent être de qualité optimale. Dans le cas contraire, les résultats des analyses risquent de n'avoir aucune utilité clinique. La traçabilité, dans le respect de la confidentialité, est une des garanties des démarches effectuées par plusieurs professionnels médicaux et para-médicaux. Le prélèvement est effectué par le prescripteur, ou par un biologiste, ou par une personne déléguée (infirmier, technicien, interne), selon la réglementation en vigueur. Le prescripteur est celui qui juge de l'indication des analyses et en attend des résultats contribuant au diagnostic et à la thérapeutique. Qu'il soit ou non le préleveur, ses objectifs et ses constatations médicales doivent garantir la qualité et la sécurité des prélèvements.

La sécurité concerne le malade, lorsque les prélèvements sont invasifs, ainsi que les personnes qui effectuent le prélèvement, le transport ou les analyses microbiologiques.

Les biologistes sont tenus de s'assurer de l'organisation des différentes étapes de la phase pré-analytique. Ils doivent instruire toutes les personnes concernées pour effectuer les prélèvements et assurer le minimum de risques au malade et à l'entourage.

Lorsque le prélèvement est effectué au laboratoire, ces étapes sont sous la responsabilité immédiate du biologiste. Dans certains cas, un échantillon nécessite un pré-traitement, notamment lorsqu'une partie doit être transférée dans un autre laboratoire d'analyses. Cette manipulation doit être effectuée avec les mêmes précautions de sécurité et de sauvegarde de l'échantillon que celles prises lors du prélèvement. En résumé, le prescripteur porte la responsabilité de l'indication de l'analyse microbiologique. Le biologiste assume réglementairement la responsabilité du prélèvement et du transport bien que cette disposition soit peu réaliste en pratique. Son rôle ensuite est de choisir les méthodes analytiques qu'il conduira et dont il interprétera les résultats. Lorsque ces méthodes impliquent des procédures

particulières durant la phase pré-analytique, elles doivent être connues à la fois du prescripteur et du préleveur. Un certain nombre de règles générales peuvent être données pour les différentes étapes de la phase pré analytique afin d'assurer la qualité et d'éviter certaines erreurs préjudiciables à la validation du résultat. Des règles complémentaires s'appliquent à certaines indications, notamment en cas d'urgence, et de particularités des micro-organismes ou des techniques d'analyses.

1. Prescription médicale :

L'analyse est habituellement demandée dans le but d'établir le diagnostic et de concourir au traitement d'une maladie infectieuse. Le biologiste cherchera à mettre en évidence et à cultiver les agents pathogènes capables de provoquer des manifestations infectieuses particulières. Dans certains cas, l'analyse a pour but de détecter la persistance ou le portage de micro-organismes particuliers en vue de prévenir ou de mesurer leur dissémination à d'autres sujets réceptifs. Telles sont, par exemple, la recherche d'un portage maternel de *Streptococcus agalactiae* dans la prévention d'une infection néonatale, et la détection de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques à risque épidémique.

Une modification de la flore microbienne commensale peut être parfois étudiée à l'occasion de protocoles épidémiologiques bien déterminés.

a. L'ordonnance

L'analyse microbiologique doit être prescrite explicitement sur l'ordonnance, selon la nomenclature des actes de biologie médicale. Le prescripteur, son nom, sa qualité, et la manière de le contacter doivent être clairement identifiés. Il doit mentionner l'identité du malade (nom, prénom, sexe, date de naissance). Éventuellement son numéro d'identification, une date d'hospitalisation ou de transfert d'un établissement de soins à un autre doivent être précisés, ainsi que tous les renseignements utiles à la qualité de l'analyse et à la validation des résultats. Ces renseignements concernent notamment le but de l'analyse : diagnostic étiologique d'une infection, choix ou poursuite d'une thérapeutique, suivi sous traitement, contrôle après traitement, ou recherche d'une modification de la flore commensale impliquée dans la prise en charge du malade ou comportant un risque pour son entourage. Le prescripteur doit préciser la recherche de micro-organismes particuliers. Il doit mentionner également la nature des manifestations pathologiques, le site des lésions infectieuses, et leur date d'apparition. Il doit préciser éventuellement l'état physiologique du malade et l'existence d'affections associées, telles que l'intolérance aux produits utilisés pour le prélèvement, une allergie aux antibiotiques, une immunodépression. Sont utiles à préciser : l'éventualité d'un séjour en pays d'endémie et le risque d'infection ou de colonisation par un agent potentiellement épidémique ou résistant aux agents thérapeutiques : tuberculose, méningococcémie, brucellose, shigellose, hépatite virale... Ces renseignements contribuent au choix des

techniques de prélèvement et d'analyse, à la prévention des incidents liés à la nature du prélèvement, ainsi qu'à la limitation des risques de dissémination.

Les traitements qui peuvent interférer avec le choix des techniques de prélèvement (traitement anticoagulant) ou d'analyse (traitement antibiotique) doivent être mentionnés. L'interprétation des résultats tiendra compte des antibiotiques pris avant ou au moment du prélèvement. Le degré d'urgence de l'exécution du prélèvement avant de débiter un traitement antibiotique est précisé lorsque les résultats vont modifier la conduite du diagnostic ou de la thérapeutique. Toutefois, une analyse prévue pour un suivi thérapeutique est généralement différée, et dans ce cas la date à laquelle le prélèvement doit être effectué doit être précisée.

b- La prescription détaillée (ou une fiche de liaison)

Elle est utile pour coordonner les démarches du prescripteur, du préleveur et du biologiste. Elle peut comporter les rubriques mentionnées plus haut et de la place pour indiquer des situations non envisagées. En effet le choix des techniques microbiologiques les mieux adaptées nécessite que le prescripteur informe le biologiste de la situation du malade et des particularités de chaque prélèvement. Ces éléments sont pris en compte par le biologiste lors de l'interprétation des résultats. La fiche de liaison doit être simple et adaptée aux circonstances rencontrées en pratique quotidienne. Elle doit être confidentielle.

Son esprit est celui d'une collaboration étroite et efficace entre les différents acteurs de l'analyse microbiologique. Cependant, pour éviter la multiplication des "écrits" et la redondance des informations, et pour s'aider des outils informatiques, un (ou plusieurs) modèle(s) de prescription d'analyse microbiologique pourrai(en)t être proposé(s). En l'absence de précisions utiles, le biologiste appliquera les techniques correspondant à la recherche systématique des bactéries les plus souvent pathogènes dans un contexte clinique par "défaut

2. prélèvement :

Le prélèvement d'un produit pathologique est un acte clé de la phase pré analytique. Il existe un très grand nombre de méthodes de prélèvements. Lorsque les lésions infectieuses sont profondes et que leur pronostic est sévère, le prélèvement invasif le plus proche du foyer infectieux et comportant peu de risque de contamination sera le plus approprié. Il pourra être associé à des prélèvements au niveau des portes d'entrée probables et des voies d'excrétion, ainsi qu'à des hémocultures et des recherches de métastases septiques permettant d'apprécier la dissémination de l'infection. Lorsque l'étiologie infectieuse peut être facilement déterminée sur un échantillon prélevé par une méthode non invasive, celle-ci sera privilégiée. Ainsi l'examen cyto-bactériologique des urines est habituellement effectué sur un échantillon du milieu du jet, plutôt que sur le produit d'un prélèvement invasif. Dans tous les cas la méthode de prélèvement doit être signalée, si elle ne correspond pas à la technique usuelle.

a. Le préleveur :

Le préleveur habilité doit être clairement identifié. Il respecte les règles de soins et d'hygiène, notamment en ce qui concerne le port de gants, blouses, et dans certains cas de masques ou lunettes de protection. Il est informé des circonstances particulières par l'ordonnance ou la fiche de liaison. Lui-même doit transmettre les indications techniques du prélèvement sur une fiche de renseignements jointe aux échantillons destinés au laboratoire. En cas d'incident survenu lors du prélèvement ou de difficulté préjudiciable à la validité des résultats, le biologiste doit en être informé.

b. Le moment du prélèvement :

Un prélèvement à visée étiologique doit être effectué dès le début du processus infectieux. Dans le cas fréquent des infections aiguës communautaires, les échantillons doivent être prélevés avant l'administration d'agents antimicrobiens. En cas d'échec d'un traitement préventif ou curatif institué sans analyse microbiologique préalable, celui-ci doit être interrompu. Si la sévérité de l'évolution ne permet pas l'arrêt des antibiotiques pendant plus de quelques heures ou s'il existe un risque d'infections opportunistes plurimicrobiennes ou successives chez un malade neutropénique ou immunodéprimé, l'antibiothérapie en cours reste justifiée et des modalités techniques particulières peuvent être proposées. L'ensemencement pourra par exemple être pratiqué dans des milieux liquides permettant de diluer les antibiotiques de l'échantillon, ou dans des milieux contenant des inhibiteurs d'antibiotiques.

c. Le site du prélèvement :

Les sites anatomiques appropriés sont généralement les plus proches du foyer infectieux initial et des localisations secondaires, ou ceux qui constituent la porte d'entrée, les voies d'excrétion ou d'évacuation de l'infection (fistule, drainage). Il ne convient pas cependant de prélever les liquides de drainage recueillis dans les collecteurs. En effet les souches isolées seraient alors représentatives des espèces les plus aptes à se multiplier secondairement ex vivo et non celles des micro-organismes présents dans les lésions profondes.

d. Une quantité suffisante de matériel est nécessaire pour une analyse complète :

Une trop petite quantité de matériel ne permet pas au laboratoire de réaliser les frottis et les cultures appropriés. Le microbiologiste privilégie alors les techniques permettant la reconnaissance des bactéries les plus souvent en cause. Ceci est particulièrement problématique pour les lésions chroniques contenant un petit nombre de micro-organismes qui risquent de ne pas être détectés à l'examen microscopique d'un frottis, ni même récupérés en culture. Des volumes insuffisants peuvent donc donner lieu à des résultats faussement négatifs. Comme les échantillons de sang, les produits de ponction ou de biopsie contenant une faible quantité de bactéries peuvent être ensemencés directement dans un milieu de

culture liquide. Il faut alors réduire au maximum les risques de contamination par des bactéries se multipliant plus rapidement que l'agent pathogène

e. Les méthodes de prélèvement :

Elles dépendent des micro-organismes capables d'infecter différents organes ou tissus. Elles dépendent également du type de lésion et de l'enjeu du diagnostic étiologique, en limitant les indications des prélèvements invasifs selon le bénéfice escompté et les risques iatrogènes. Dans tous les cas, les prélèvements seront réalisés avec du matériel stérile à usage unique, selon les règles d'hygiène et d'asepsie appropriées. Le procédé d'analyse de l'échantillon dépend du type de prélèvement et la valeur des résultats est tributaire de la qualité de l'échantillon. Ainsi l'écouvillonnage est à proscrire à cause du faible volume d'échantillon recueilli et des risques de dessiccation et de contamination. Son usage est limité aux prélèvements des téguments ou des muqueuses. Il est alors recommandé de prélever deux échantillons, afin que l'un soit utilisé pour l'examen microscopique direct et l'autre pour les cultures. Ces échantillons ne peuvent cependant pas remplacer les prélèvements obtenus par ponction, aspiration, biopsie ou chirurgie. Les bactéries intracellulaires doivent être récoltées par "grattage" des muqueuses à l'intérieur desquelles elles se sont développées. Une erreur fréquente est de transmettre au laboratoire de microbiologie uniquement un écouvillon, à partir duquel il sera difficile de pratiquer un nombre suffisant de frottis et de cultures, alors que la totalité du matériel de biopsie ou d'excision chirurgicale a été recueillie dans un fixateur, comme le formol, réservé à l'examen histo pathologique. La ponction, le cathétérisme, ou l'abord chirurgical sont indiqués pour les suppurations d'une séreuse, d'un organe creux, d'un tissu ou d'une cavité abcédée. Il est utile de préciser si d'autres échantillons ont été réservés pour des examens cytologiques, histo-pathologiques, immunologiques et biochimiques, ou si la répartition doit être faite au laboratoire. Des constatations morphologiques et histopathologiques, qui contribuent au diagnostic d'une infection, peuvent permettre au microbiologiste de compléter son analyse par des techniques particulières. Lorsqu'il existe un risque de dissémination et un enjeu vital à isoler la bactérie en cause et à ajuster le traitement, ces prélèvements sont complétés par des hémocultures

f. Contamination des prélèvements :

Des précautions particulières doivent être prises pour éviter la contamination des prélèvements par les bactéries de l'environnement et par une grande variété de micro-organismes commensaux. Ces bactéries ou levures peuvent inhiber la multiplication in vitro des bactéries pathogènes et être prises à tort pour des pathogènes opportunistes. Ceci concerne en particulier les infections dont le site est respiratoire, ORL, oculaire, intestinal, génito-urinaire, cutané ou sous-cutané, ainsi que les prélèvements de sang pour hémoculture. Il existe, notamment pour les prélèvements respiratoires profonds, ainsi que pour les prélèvements intra-utérins, des brosses ou cathéters télescopiques qui permettent d'atteindre les sites profonds en évitant le contact avec les muqueuses colonisées par la flore endogène. Le risque de contamination existe pour tous les échantillons prélevés à la surface des téguments ou des muqueuses. Ainsi le matériel recueilli par écouvillonnage de l'orifice d'une fistule a plus de chance de contenir des bactéries commensales non pathogènes que le matériel prélevé en profondeur, par aspiration, curetage ou biopsie. L'aspiration peut être faite au moyen d'un dispositif stérile (cathéter, pipette)

introduit dans la fistule ou le long du dispositif de drainage, après décontamination de l'orifice ou de la plaie de surface. Les procédés de décontamination de surface comportent soit le simple rinçage avec du sérum physiologique stérile (recueil d'une expectoration, prélèvement de plaie, d'escarre ou de brûlure), soit l'utilisation sur la peau ou même sur une muqueuse d'une solution antiseptique. L'antiseptique doit être éliminé avec du sérum physiologique stérile, afin de ne pas inhiber la culture des bactéries pathogènes. Les ponctions et l'abord chirurgical sont les meilleurs procédés de prélèvement pour éviter les contaminations.

g. Récipients contenant les échantillons :

Des récipients stériles à usage unique et étanches sont utilisés pour contenir les échantillons. Chaque récipient doit être identifié par une étiquette comportant le nom, le prénom et la date de naissance du malade, ainsi que la date, l'heure, la nature et le site du prélèvement. Le préleveur doit être identifié par son nom ou ses initiales. Le récipient est transporté dans un sac en plastique étanche et fermé hermétiquement, comportant un compartiment pour les papiers et la prescription

3- Délai de transport et conservation des échantillons

En règle générale, les bactéries ne résistent pas à la dessiccation et au froid, en particulier lorsque de petits volumes d'échantillons sont prélevés. Les petits échantillons et les biopsies doivent être acheminés en 15 à 30 mn au laboratoire, les autres en moins de 2 heures, afin de préserver la survie des micro-organismes les plus fragiles et d'éviter qu'ils soient inhibés par des bactéries plus résistantes à l'environnement extérieur. Les bactéries qui ne supportent pas de délai peuvent être préservées dans des milieux de transport. Ceux-ci sont couramment utilisés pour des délais de transport de plus de 2 heures.

a- Conservation des échantillons :

Pour éviter la dessiccation des échantillons de faible volume, notamment sur écouvillon, ceux-ci peuvent être placés dans des tubes contenant des milieux de Transport. La conservation à + 4°C inhibant la multiplication bactérienne est recommandée pour préserver les proportions relatives des différentes espèces quand des cultures semi-quantitatives sont nécessaires à l'interprétation des résultats. Cette mesure est bien adaptée aux urines et aux selles, cependant les shigelles sont très sensibles au froid et nécessitent un ensemencement immédiat. En revanche elle est controversée pour les échantillons d'origine pulmonaire qui peuvent contenir des bactéries pathogènes fragiles comme *Haemophilus influenzae*. D'autres espèces bactériennes comme *Neisseria meningitidis* et *N. gonorrhoeae* sont particulièrement sensibles au froid. Les échantillons génitaux, oculaires, respiratoires, ou céphalo-rachidiens destinés à la culture des bactéries ne doivent pas être conservés à 4°C.

b- Milieux de transport

Ces milieux sont destinés à la conservation de certains types de micro-organismes et à l'inhibition d'autres organismes de croissance plus rapide. Les milieux de type Stuart conviennent pour la plupart des bactéries, y compris les anaérobies strictes. D'autres milieux sont nécessaires pour la recherche de certaines bactéries, comme

les Chlamydia. L'inclusion d'un échantillon dans un milieu de transport empêche l'examen microscopique et l'appréciation de la morphologie des cellules et des bactéries. Si la quantité d'échantillon est suffisante, une partie peut être placée en milieu de transport et une partie conservée dans un tube stérile, contenant ou non un faible volume (0,5 à 2 ml) de sérum physiologique stérile ou de bouillon de culture. Les conditions d'inoculation et de transport de ces milieux doivent être respectées. Même dans les conditions recommandées, la prolongation du délai entre prélèvement et analyse, ainsi que les variations de température, peuvent être préjudiciables à la survie des microorganismes. La plupart des échantillons sont transportés à la température ambiante, d'autres nécessitent d'être réfrigérés. La responsabilité fréquente des bactéries anaérobies dans les processus infectieux nécessite que les échantillons biologiques soient placés dans des conditions maintenant les bactéries anaérobies en survie pendant plusieurs heures.

c- Transferts d'échantillons

Certaines techniques sont difficiles à maîtriser ou trop coûteuses lorsqu'elles ne sont pas pratiquées quotidiennement. Elles méritent la mise en place d'une organisation permettant l'acheminement rapide des échantillons ou des cultures vers des laboratoires de référence. L'emballage, la signalisation et le transport des échantillons de matériel infectieux doivent être effectués selon des procédures légales nationales et internationales permettant d'assurer la sécurité des personnes et le maintien de la viabilité des micro-organismes à cultiver

iii). Les différents types des prélèvements en microbiologie :

1. Prélèvement du sang:

sang :

Le sang est un tissu conjonctif liquide formé de populations cellulaires libres, dont le plasma est la substance fondamentale et est présent chez la plupart des animaux, Le volume sanguin total est d'environ 5 litres chez l'adulte et 250 ml chez le nouveau-né.

Ce liquide sert à diffuser le dioxygène (O₂) et les éléments nutritifs nécessaires aux processus vitaux de tous les tissus du corps, et à transporter les déchets tels que le dioxyde de carbone (CO₂) ou les déchets azotés vers les sites d'évacuation (intestins, reins, poumons). Il sert également à amener aux tissus les cellules et les molécules du système immunitaire, et à diffuser les hormones dans tout l'organisme. C'est la moelle osseuse qui produit les cellules sanguines au cours d'un processus appelé hématopoïèse

1. Prélèvement du sang veineux :

Le prélèvement sanguin est un soin réalisable par un infirmier, un technicien de laboratoire ou un médecin. Il permet de réaliser des examens de laboratoire sur un échantillon de sang prélevé par ponction veineuse ou artérielle

▪ Indication :

Dépister des troubles biologiques
Aider au diagnostic
Suivre l'évolution d'un traitement ou d'une maladie.

▪ Matériel

1-Seringue stérile et aiguille.

2-Tube(s) de prélèvement

- Héparinate de lithium (vert) : alcool
- Fluorure de sodium (gris) : glycémie
- EDTA (violet) : NFS, RAI, GS
- Citrate (bleu)

- Tube sec sans accélération de coagulant (blanc)
 - En flacon d'hémoculture

3-Antiseptique ou alcool modifié à 70°.

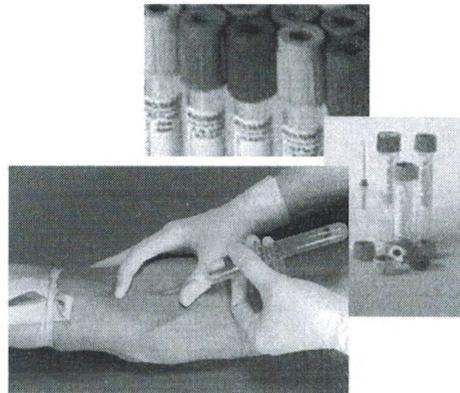
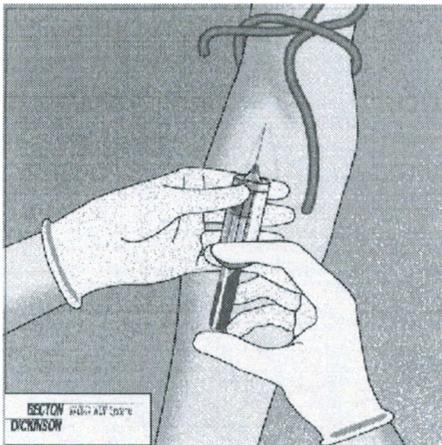
4-Compresse non stériles ou boules de coton.

5-Garrot.

6-Gants à usage unique.

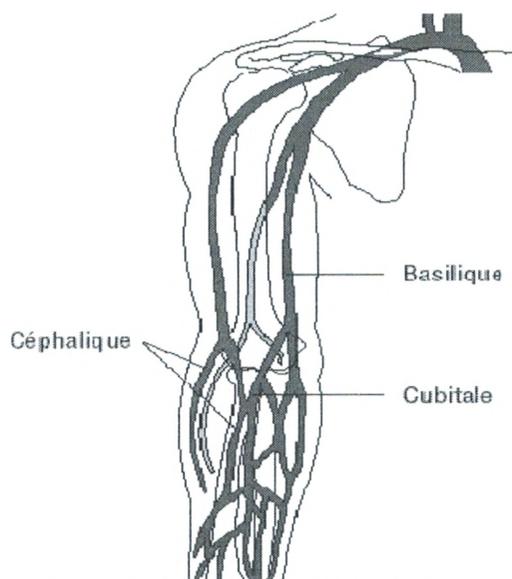
7-Etiquettes laboratoire d'identification patient.

- 8-Bons d'analyses laboratoire, avec pochette de transport.
- 9-Sac à élimination des déchets.
- 10-Conteneur à déchets contaminés piquants et tranchants.
- 11-Désinfectant de surface et chiffonnette.

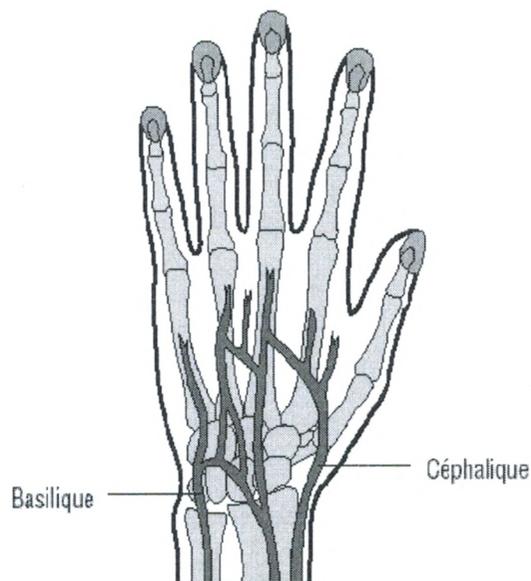


▪ Mode opératoire :

- Vérifier la prescription médicale.
- Vérifier la concordance entre la prescription médicale et le choix des tubes d'analyses.
- Prévenir le patient du soin.
- Installer le matériel après vérification des dates de péremptions et de l'intégrité des emballages.
- Installation sur une surface propre et désinfectée au préalable
- Installer le réniforme et le container à déchets contaminés piquants loin du matériel propre.
- Respecter le triangle d'hygiène, de sécurité et d'ergonomie : Propre (matériel) – Patient – Sale
- Prélever le sang du côté opposé à la perfusion intraveineuse.
- Mettre le garrot 10 cm au-dessus du point de ponction et vérifier la présence d'un pouls artériel en contrebas (pouls radial), sinon, risque de thrombose.
La pose du garrot durant plus de 3 minutes peut modifier les résultats d'analyse car puisqu'il y a un risque d'hémolyse des globules.
- Choisir la veine à ponctionner.
- Favoriser la vasodilatation de la veine, ce qui rend le geste plus facile :
- Demander au patient de serrer le poing.
- Mettre le bras en déclive.
- Tapoter la veine.



Veines du membre supérieur droit



Veines superficielles de la main gauche

- Mettre la protection sous la zone de ponction.
- Effectuer un lavage antiseptique des mains ou effectuer un traitement hygiénique des mains par frictions avec une solution hydro-alcoolique puisqu'il s'agit d'une geste invasif : hygiène des mains.
- Mettre les gants non stériles pour diminuer le risque d'exposition au sang.
- Pratiquer une antiseptie de la peau :
 - Procéder en partant du bas (de la main) et en allant vers le haut (vers le coeur) ce qui permet de désinfecter sous les poils et favoriser un afflux de sang.
 - Aller de l'extérieur vers l'intérieur = faire un côté, l'autre côté et terminer par le milieu (site de ponction).
 - Ne jamais repasser à un même endroit.
 - Utiliser une compresse par passage puis la jeter dans le sac à déchets.
 - Respecter le temps de contact de l'antiseptique.
- Immobiliser la veine en tendant la peau avec le pouce en dessous du point de ponction pour éviter qu'elle ne roule.
- Introduire l'aiguille sous un angle de 30°, biseau vers le haut, dans la veine, puis abaissé légèrement l'aiguille parallèlement à la peau et pénétrer doucement la veine.
- Maintenir et immobiliser le corps de prélèvement avec le pouce et l'index de la main dominante.
- Introduire les tubes de prélèvements avec la main non dominante selon un ordre précis (critère de bon prélèvement) : voir la fiche Ordre de prélèvement des tubes d'analyses biologiques.
- Pendant que le tube se remplit, homogénéiser le tube précédent par des retournements lents (pour ne pas lyser les globules) à 180° :
- Tout en maintenant l'aiguille (sans présence de tube), desserrer le garrot d'une main.
- Demander au patient de desserrer le poing.
- Retirer l'aiguille et comprimer le point de ponction pour éviter un hématome.
- Jeter immédiatement le corps de pompe et l'aiguille dans le container à déchets contaminés piquants.

- Enlever et jeter les gants.
- Mettre un pansement.
- remplir les bords d'analyse et acheminer les tubes au laboratoire d'analyse.

- Risques et complications

- Hématome au point de ponction : bien comprimer le point de ponction après le prélèvement.
- Défaut de reflux du sang : non ponction de la veine, transperçement de la veine, veine trop ou pas assez comprimée.
- Douleur.
- Malaise vagal : stopper le soin, mettre le patient en déclive.

- Précautions :

- En principe le garrot ne doit pas rester en place durant la ponction de sang.
 - En présence de veines fines ou difficiles, le laisser mais le serrer modérément (contrôle du pouls radial).
 - Choisir si possible une veine palpable, compacte et souple.
- Choisir un site de ponction éloigné de toute perfusion ou en dessous de la voie veineuse
- L'heure du prélèvement doit figurer sur la fiche de demande d'examens

- Examens courants réalisables

- Hémoculture
- Sérologie

Une hémoculture : est un examen sanguin essentiel en maladie infectieuse. Il consiste en un prélèvement de sang veineux, qui est ensuite mis en culture afin d'y rechercher des germes. Il est effectué si possible avant la mise en route d'une antibiothérapie. On réalise en général 3 prélèvements différents, à quelques heures d'intervalle, effectués si possible au moment d'un pic d'hyperthermie ou d'hypothermie ou lors de frissons qui signent une décharge bactériémique. L'hémoculture consiste donc à mettre en culture un échantillon de sang, afin d'identifier un ou plusieurs germes. La présence de germes signe une bactériémie. Une bactériémie accompagnée d'un syndrome infectieux est une septicémie, dont la forme la plus grave est le choc septique. L'hémoculture permet également de réaliser un antibiogramme sur le germe retrouvé, et oriente ainsi le médecin dans le choix du traitement antibiotique.

Il est parfois nécessaire d'indiquer au laboratoire le type de germe recherché comme pour la listériose, les mycobactéries, les bactéries à croissance lente ou difficile (Brucella, Campylobacter, Legionella, Mycoplasme Ureaplasma, Leptospira, Groupe HACEK, Streptocoques déficients, Bartonella), les levures et moisissures ... car le germe en cause nécessite alors un milieu de culture spécifique (Bactec, Isolator ...) et ne poussera pas sur les milieux usuels conventionnels.

La sérologie : est l'étude des sérums et des variations ou modifications de leurs propriétés au cours des maladies. Depuis les progrès de la biologie, elle consiste surtout via ce qu'on appelle communément une analyse de sang, à mettre en évidence des indices de présence de pathogènes dans l'organisme, au moyens de différents tests. Elle permet une approche quantitative et qualitative, avec par exemple le dosage d'anticorps spécifiques. Elle est donc liée à l'étude des immunoglobulines du sérum sanguin ou d'autres liquides organiques. Elle est utilisée comme outil diagnostique, comme outil de dépistage (SIDA, Hépatite,...) et comme outil épidémiologique et de plus en plus écoépidémiologique. En raison de réactions croisées, et du développement à bas bruit de certains pathogènes ou du délai nécessaire à l'apparition détectable d'anticorps, ce n'est pas un outil de diagnostic fiable à 100 %. Une « sérologie positive » pour un microbe X (ou séropositivité) signifie simplement que l'organisme a dans un passé plus ou moins récent combattu le microbe X. Le microbe peut ne plus être présent. Mais si plusieurs sérologies successives montrent une augmentation du taux d'anticorps, c'est qu'il y a infection (ou réinfection) en cours.



2. Prélèvement du sang capillaire

▪ Définition

- Sang capillaire est Le sang obtenu par prélèvement capillaire est composé d'un mélange de sang des artérioles, veinules et capillaires. Il peut également être dilué par du liquide interstitiel. La première goutte de sang capillaire devrait être éliminée. Le réchauffement du site de ponction artériolise le sang.
- Prélèvement d'un échantillon de sang périphérique pour divers examens nécessitant une petite quantité de sang.
- Les prélèvements se pratiquent sur : le talon enfant < de 6 mois
les doigts enfant dès 4 – 6 mois et les adultes, le lobe des oreilles grands enfants et adultes

▪ Indications

- Abord veineux difficile.
- Protection d'un capital veineux périphérique dans le cas de prélèvements répétés.
- Prélèvement pour un seul examen (goutte épaisse, dosages d'antibiotiques, ...).

▪ Matériel

- Gants
- Désinfectant alcoolique pour les main
- Désinfectant alcoolique
- Lancettes avec ou sans stylo auto-piqueur
- Tube(s) de prélèvement capillaire
- Pansement
- Linge pour séchage

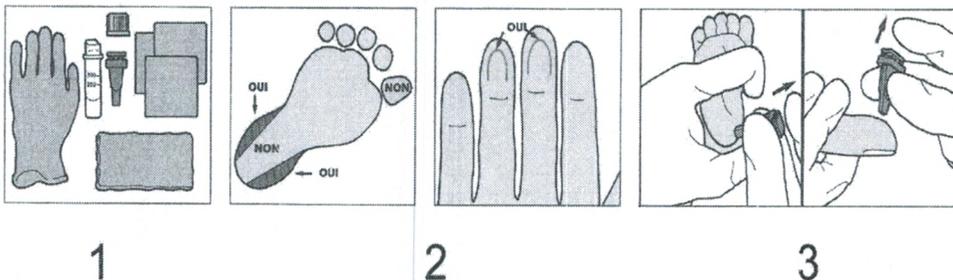
▪ Mode opératoire :

1. Se désinfecter les mains
2. Mettre les gants
3. Désinfecter le site de ponction et laisser sécher
4. Piquer d'un coup sec ou utiliser le stylo auto-piqueur
5. Masser le membre, du centre vers la périphérie, et relâcher la pression pour permettre la reperfusion
6. Faire les prélèvements nécessaires
7. Désinfecter le point de ponction
8. Recouvrir le point de ponction avec une compresse ou un sparadrap
9. Enlever les gants
10. Se désinfecter les mains

▪ Prévention – précautions :

- ⇒ Respecter les zones de ponction (voir schémas ci-dessous)

RÉUSSIR LE PRÉLÈVEMENT CAPILLAIRE EN TOUTE SÉCURITÉ AU DOIGT ET AU TALON



⇒ **spécifiques lors de prélèvement dans le doigt :**

- Les échantillons de sang capillaires sont prélevés sur les bords latéraux de la pulpe des doigts, l'irrigation sanguine étant plus importante et la sensation de douleur est moins intense.
- Préserver l'intégrité de la pince pouce – index.

⇒ ***spécifiques lors de prélèvement dans le talon :***

- Lors de prise de sang sur le talon placer un doigt dans le pli jambe/coup de pied, pour ne pas écraser le pied contre la jambe.
- Pour éviter l'ostéochondrite nécrosante, utiliser des lancettes adaptées, ne pénétrant pas à + de 2,4 mm de profondeur

▪ Risques

- Ostéochondrite nécrosante causée par la pénétration de la lancette dans le calcanéum lors de prise de sang capillaire au talon
- Abscesses
- Hématome : risque accru chez le nouveau-né et l'enfant prématuré dû à la fragilité capillaire.
- Diminution de la sensibilité par épaissement de l'épiderme.
- Étirement ligamentaire lors de prise de sang sur le talon
- Douleurs
- Brûlure si contact avec de l'eau trop chaude. Contrôler la température de l'eau en maintenant l'extrémité de la main dans l'eau

▪ Examens courants réalisables

Le prélèvement de sang capillaire est surtout pratiqué pour la recherche de paludisme ou de trypanosomes. On peut aussi l'utiliser pour mesurer l'hématocrite. On réalise ensuite un frottis ou une goutte épaisse. Que l'on colorera suivant les techniques adéquates. Dans le cas d'une recherche de trypanosomes, c'est la première goutte qui servira à l'analyse.

Frottis sanguin

Principe :

Le frottis sanguin consiste en la réalisation d'un étalement monocellulaire des éléments sanguins.

Matériel : 2 lames, un vaccinostyle

Mode opératoire :

- Prélever une petite goutte de sang capillaire et la déposer à l'extrémité d'une lame
- Avec la deuxième lame tenue à 45 degrés par rapport à la première, toucher la goutte de sang puis l'étaler d'un mouvement bref sur la première lame pour obtenir un étalement fin. Sécher aussitôt en agitant la lame.
- Fixer le frottis avant coloration, (le plus souvent au MGG) sans fixer la partie de la lame réservée à la goutte épaisse.

Goutte épaisse

Principe :

La goutte épaisse est une technique de concentration des hématies en vue de la *recherche de paludisme* dans le sang.

Matériel :

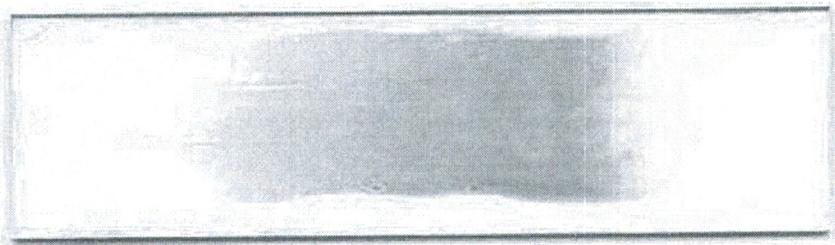
2 lames, un vaccinostyle.

▪ Mode opératoire :

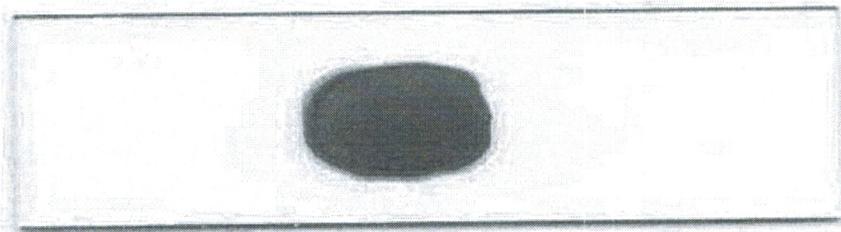
- Prélever une grosse goutte de *sang capillaire*.
 - Étaler une grosse goutte de sang à l'extrémité d'une lame (l'autre étant généralement réservée au *frottis*).
 - A l'aide du coin de la deuxième lame, étaler la goutte sur 1 cm de diamètre en tournant pendant quelques secondes
 - Laisser sécher avec soin, ne jamais
 - Déposer quelques gouttes d'eau propre pour recouvrir entièrement la goutte, laisser agir 1 minute puis rejeter.
- La goutte épaisse doit être transparente.

On peut ensuite colorer : MGG ET Geimsa

frottis sanguin



goutte épaisse



2. prélèvement de liquide céphalorachidien :

LE LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN :

Est un liquide clair, qui circule continuellement dans l'espace sous arachnoïdien autour de l'encéphale et de la moelle épinière, ainsi que dans les ventricules. En permanence des cellules spécialisées de l'encéphale au niveau du plexus choroïde, sécrètent le LCR, celui-ci descend dans les ventricules puis une proportion minime continue dans la moelle, la majeure partie passant dans le compartiment externe méningé par des orifices : trou de Magendie et Luschka. Il joue un :

- **rôle protecteur** : sert de coussin amortisseur pour l'encéphale et la moelle épinière
 - rôle chimique : tout changement de la composition ionique du L.C.R peut perturber les synapses
 - nourricier : où se font des échanges de substances nutritives et des déchets entre sang et tissu nerveux
- Quantité totale : 100 à 150 CC
 - composition : liquide clair « en eau de roche », composé de protéines de glucose et le chlorure
 - pression normale du LCR est de 10mmHg

1. Définition de la ponction lombaire:

La ponction lombaire consiste à introduire une aiguille au niveau du cul de sac méningé pour l'accès à la cavité sous arachnoïdienne dans un but de prélever du LCR ou d'y injecter une substance médicamenteuse.

Le prélèvement se fait au niveau de L3-L4 ou L4-L5

2. Indication

- En neurologie :
 - à titre diagnostique : infections du système nerveux central ainsi que les atteintes inflammatoires : (*méningite, encéphalites, sclérose en plaque...*), ou encore des hémorragies méningées
 - à titre thérapeutique : ponction évacuatrice pour diminuer la pression intracrânienne lorsqu'il existe une HTIC sans lésion expansive au scanner

- en radiologie : introduction d'un produit de contraste pour une myélographie par exemple
- en traitement : anesthésiques, antalgiques, corticoïdes, injection d'antibiotiques de médicaments chimiothérapeutiques, traitement de la

- spasticité : baclofène...
- en médecine nucléaire : avec l'emploi des isotopes

c'est un examen qui peut être demandé à n'importe quel âge y compris chez nourrisson

=>INDICATIONS EN URGENGE : ++++

- Suspensions de méningite ou de méningo-encéphalite : 30 min suivant l'arrivée à l'hôpital doit être réalisée pour débiter un traitement antibiotique précoce : un aspect trouble impose le début du traitement sans attendre les résultats de la ponction, en sachant que l'examen neurologique aura éliminé l'existence de signes neurologique de localisation imposant d'abord la réalisation d'un scanner cérébral.
La PL sera réalisée sans attendre le scanner en cas de syndrome méningé fébrile sans trouble de la conscience et sans signes de localisation. le Fond d'œil ne sera d'aucune utilité.
- Suspicion d'hémorragie sous arachnoïdienne : MALGRÉ un scanner normal. seule la présence de pigments dans LCR est fiable, elle apparaît de 6 à 12 h après l'hémorragie
- Suspicion d'hypertension intracrânienne : céphalées récentes(<1 mois) inhabituelles par leur sévérité ou ténacité ou encore en « coup de tonnerre » après que l'imagerie cérébrale ait éliminé une lésion focale ou un processus expansif intra-crânien

3. Contre indication

- hypertension intracrânienne* avec signes focaux ou imagerie montrant une lésion expansive ou hydrocéphalie
- Syndrome médullaire d'origine inexpliquée : imagerie médullaire prioritaire pour éliminer une compression médullaire
- Céphalées posturales survenant en procubitus et disparaissant en décubitus(contre indication relative) : IRM encéphalique+GADO à la recherche de signes d'hypotension du LCR
- Infections cutanées en regard de la région lombaire, les états septiques non traités chez un enfant de mois de 1 an : éviter la contamination méningée
- Troubles majeurs de l'hémostase :
 - thrombocytopénie
 - traitement anticoagulant à dose curative
 - insuffisance hépato-cellulai

4. Matériel

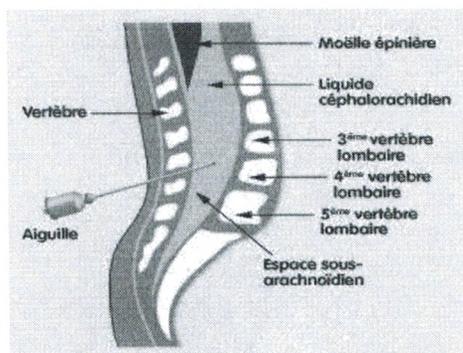
- o matériel de rasage si nécessaire
- o plateau décontaminé et nettoyé
- o gants stériles
- o antiseptiques
- o matériel à anesthésie locale(xylocaine, pommade Emla, seringue, pompeuse, aiguille sous cutané)

- aiguille à ponction lombaire de 7-12 cm de long et de 0.9-1.5 mm de diamètre muni d'un mandrin stérile à usage unique
- tubes étiquetés préparés avant
- container à aiguilles
- tubulure de perfusion pour mesure de la pression

4. Mode opératoire

- Installation du patient torse nu : position assise penchée en avant ou en décubitus latéral au bord du lit le dos bien arrondi pour dégager les espaces inter-épineux(menton rapproché du sternum et genoux de la poitrine)
- installer un champ sur le lit du malade
- repérer le site de la ponction : on trace la ligne horizontale passant par les épines iliaques antéro-supérieures
- aseptie large de la zone de ponction à la bétadine
- Introduire l'aiguille au niveau de l'espace inter épineux de façon horizontale légèrement oblique vers le haut
- Pour la mesure de la pression, dès que vous obtenez du LCR, branchez la tubulure et dirigez-la verticalement, le LCR va monter dans la tubulure et s'arrêter à un certain niveau, qui correspond à la pression du LCR qui sera mesurée en centimètre d'eau par un mètre ruban
- L'examen du LCR doit se faire rapidement, le prélèvement aussitôt effectué devra être envoyé au laboratoire.
- Repos au lit en décubitus dorsal pendant quelques heures pour éviter les céphalées post ponction lombaire.

Attention : une ponction lombaire est un acte réservé au médecin.



3. Prélèvement d'urine :

L'urine

est un liquide biologique composé des déchets de l'*organisme*.

L'urine est sécrétée par les *reins* par *filtration* du *sang*, puis par récupération des *molécules* de l'urine « primitive » pour former l'« urine définitive », qui sera expulsée hors du corps par le *urinaire*. De nombreux produits chimiques peuvent être détectés par analyse d'urine.

Le composant principal de l'urine est, bien sûr, l'eau, mais le principal déchet qu'elle contient est l'*urée*. Dans une autre mesure, un autre déchet très important de notre métabolisme, la *créatinine*, est dosé, à la fois dans le sang et dans l'urine, afin d'évaluer la fonction rénale chez l'être humain. Bien au-delà du taux d'urée, c'est essentiellement la *clairance* de la créatinine qui déterminera si un individu présente ou non une insuffisance rénale, et permettra d'en quantifier la sévérité.

1. Définition

C'est une technique qui consiste à prélever les urines fraîches pour UCBU, le prélèvement se fait généralement le matin à jeun

2. Intérêt

Recherche ou confirmation d'une infection urinaire.

Permet aussi de rechercher la présence de cristaux ou de cylindres.

Plusieurs parties :

- Examen direct
- Culture
- Antibiogramme

3. Indications

Tous signes d'infection urinaire :

- Brûlures mictionnelles
- Fièvre
- Douleurs lombaires
- Pollakiurie
- Anurie
- Hématurie macroscopique
- Lithiase urinaire
- Colique néphrétique
- Surveillance post-transplantation (greffe rénale)

4. Mode opératoire :

A - ECBU D'UN PATIENT AUTONOME :

a) Toilette minutieuse :

Rappeler au patient que c'est un examen stérile. Nécessité de suivre les indications suivantes :

- Toilette génito-urinaire avec un savon doux
- Rinçage puis séchage
- Toilette génito-urinaire avec des compresses stériles et un antiseptique non moussant : DAKIN ®

Expliquer au patient qu'il doit manipuler le flacon de recueil d'urines avec précaution :

- Une fois ouvert, mettre le bouchon à l'envers pour ne pas le stériliser
- Ne pas toucher au rebord ni à l'intérieur du flacon

b) recueil d'urines :

Expliquer que le 1er jet (2 ml) doit être rejeté.

Recueillir le 2ème jet d'urine directement dans le flacon ou dans un verre à pied stérile (femmes).

Une fois les urines recueillies, lui dire de les apporter immédiatement.

Bien de conserver les urines dans la glace.

B - ECBU D'UN PATIENT CONTINENT MAIS ALITE :

- Installer le patient avec une protection
- Procéder à une toilette comme déjà cité.

5. Matériel nécessaire :

- Gants stériles
- Sonde rigide béquillée
- Compresses stériles
- Lubrifiant (vaseline)
- Pot stérile
- Protection Ouvrir les gants stériles et se servir de l'emballage comme champ stérile.
- Préparer le pot stérile : dévisser le bouchon mais le laisser dessus
- Enfiler les gants.
- Lubrifier la sonde.
- L'introduire béquille vers le haut dans le méat, orifice au-dessus du haricot.
- Quand l'urine commence à s'écouler, prendre rapidement le pot stérile et le remplir sans toucher la sonde.
- Quand le pot est plein, ôter la sonde.
- Refermer le flacon aussitôt.
- Nettoyer une dernière fois avec un antiseptique et rincer éventuellement si on a utilisé un antiseptique colorant (Bétadine) avec un sérum physiologique.

-S'il s'agit d'un homme, le premier sondage vésical est un acte médical qui doit être fait par un médecin.

C - ECBU D'UN PATIENT PORTANT UNE SONDE URINAIRE :

a) Matériel nécessaire :

- Gants à usage unique
- Compresses stériles
- Antiseptique (Bétadine)
- Seringue (10 ml) et aiguille stérile
- Flacon stérile identifié au nom du patient
- Pince pour clamber la sonde à demeure.

b) Technique de prélèvement :

- Prévenir le patient
- Lui expliquer le but de cet examen et son déroulement
- Lavage des mains simple
- Clamber la sonde pendant 10 min.
Durant ces 10 min, préparer le matériel
- Lavage des mains
- Mettre les gants
- Désinfecter le site de prélèvements, le sécher
- Ponctionner l'urine à l'aide de la seringue
- Mettre le contenu de la seringue dans le flacon stérile
- Désinfecter à nouveau le site et vérifier qu'il n'y ait pas de fuite
- Déclamber la sonde

D - ECBU D'UN NOUVEAU-NÉ ET D'UNE PERSONNE AGÉE :

Pour la préparation, on procède de la même manière que dans les cas précédents : toilette non stérile, puis toilette antiseptique.

Cependant, on ne peut pas contrôler les mictions d'un nouveau-né ni l'incontinence d'une personne âgée. Pour cette raison, après la toilette antiseptique, on met en place une poche à urines stérile auto-adhésive. On attend environ 30 min avant de recueillir les urines avec une seringue stérile puis de les transvider dans le flacon à ECBU. Si au bout de 30 min il n'y a pas d'urines, retirer la poche et en mettre une nouvelle.

6. précautions

-Après le prélèvement, le flacon d'urine doit être mis dans un sachet contenant de la glace et être acheminé au laboratoire le plus rapidement possible accompagné d'une feuille de laboratoire.

-Il doit porter mention de l'heure du prélèvement.

-Si ces précautions ne sont pas suivies (surtout la température) les bactéries vont se multiplier dans le flacon et fausser les résultats.

4. Prélèvement des matières fécales:

1. Définition

C'est une technique qui consiste à prélever les selles fraîchement émises en vue de culture des germes.

2. Indications

-pour la technique aseptique

Etude bactériologique des selles en cas de :

- Diarrhée
- Syndrome dysentérique résistant au traitement symptomatique
- Syndrome cholériforme
- Recherche de porteur sain
- Fièvre typhoïde
- GEA : gastro-entérite aigue

-pour la technique septique

- Étude parasitologique
- Étude de la fonction digestive : pH des selles
- Dosage des graisses dans les selles
- Recherche du sang dans les selles

3. Matériel nécessaire :

Un pot à coproculture ou à défaut un pot de yaourt bien propre.

4. Mode opératoire :

Recueillir toutes les selles, les classer en différentes catégories :

1. selles moulées
2. selles pâteuses ou molles
3. selles liquides
4. selles diarrhéiques

Noter la présence éventuelle de mucus, de sang, de pus.

Les selles trop dures seront difficiles à analyser, on ne retrouve pas de formes végétatives de protozoaires, il faut mettre en suspension les matières fécales pour rechercher kystes et œufs, ce qui est long.

Les selles trop liquides diluent les éléments parasitaires, il faut donc tout d'abord centrifuger le liquide pour le concentrer, comme pour la technique du *culot urinaire*.

Technique

1. Prévenir le patient, lui demande de sonner dès qu'il a envie de déféquer
 - Se laver les mains
 - Faire uriner le patient avant de défécation
 - Lui donner le bassin
 - S'éloigner pendant la défécation
 - Mettre les gants
 - Enlever le bassin une fois la défécation réalisée. Donner le papier hygiénique.
 - Prélever les matières à l'aide de l'abaisse langue au milieu de la selle. Les déposer dans le pot à coproculture prévu a cet effet.
 - Ne pas mettre les doigt ni le bord du pot car il est stérile, ni à l'intérieur du couvercle.
 - Veuillez à bien refermer le couvercle
 - Pratiquer une toilette génio-anal
- 2- Si les selles contiennent des fragments glaireux ou sanglants, prélever ces éléments.
- 3- Si les selles sont liquides, remplir le pot au tiers environ.
- 4- Bien refermer le pot et le mettre dans le sachet de transport.
- 5- Chez le nourrisson, un écouvillonnage rectal est possible. Le prélèvement de selles dans les couches n'est effectué que dans l'impossibilité de recueillir des selles fraîches lors de leur émission.

5.1. Technique aseptique Chez le nourrisson

5.1.1. matériel

- Écouvillon stérile
- Un plateau stérile
- Champ stérile
- Compresses stériles
- Pince à servir
- Alcool à 70° + Bétadine + Mercryl
- 2 cupules + sérum physiologique
- Thermomètre propre
- Gant stérile
- Haricot + protection
- Nécessaire pour la toilette du siège
- Bon d'examen + étiquetage
- L'aide
- Lampe à alcool + allumettes

5.1.2. Technique

- Préparer le matériel
- Préparer le matériel pour la toilette du siège
- Installer l'enfant sur la table et placer la protection
- Commencer par la toilette du siège

- Sécher avec une serviette
- Placer la couche sous le siège de l'enfant
- Enfiler les gants et placer le champ stérile sur la couche
- Avec une compresse imbibée de Mercryl, nettoyer :
 ==> Pubis, plis inguinaux, verge, testicules, plis inter-fessiers (garçon)
 ==> Pubis plis inguinaux les lèvres la valve et pli inter-fessiers (fille)
- Rincer dans le même ordre avec du sérum physiologique
- Demander à l'aide d'allumer la lampe à alcool
- Lubrifier le thermomètre avec le sérum physiologique
- Demander à l'aide de plier les jambes de l'enfant
- Stimuler les selles avec le thermomètre en l'introduisant dans l'anus au dessous en circulaire
- Laisser la première selle passer et prendre la 2eme par l'écouvillon
- Introduire l'écouvillon dans son tube et l'envoyer au laboratoire
- Refaire la toilette du siège puis ranger et entretenir le matériel

5.2. Technique septique Chez le nourrisson

5.2.1. Définition

C'est une technique qui consiste à prélever les selles au niveau de la couche

5.2.2. Matériel

- Le nécessaire pour la toilette du siège
- Boite de pétrie
- Abaisse langue
- Bon d'examen + étiquette

5.2.3. la technique

- Prélever les selles au niveau de la couche avec l'abaisse longue
- Les mettre dans la boîte de pétrie étiquetée
- L'envoyer au laboratoire
- Faire la toilette du siège
- Ranger le matériel

5. conservation

- Les selles doivent être apportées rapidement au laboratoire. Si c'est impossible, conserver les selles au réfrigérateur 12 heures maximum. Si la parasitologie des selles est demandée conserver l'échantillon à température ambiante.

6. Principe d'un examen des selles

Les principaux examens des selles sont :

- **Sang** : la recherche de sang dans les selles (recommandée systématiquement à partir de 50 ans) permet de détecter précocement un cancer colo-rectal. Pour réaliser cet examen il faut éviter de manger de la viande dans les quelques jours qui précèdent l'examen, ne pas prendre d'aspirine (risque de saignement)

- **Graisses** : la présence anormale de graisses dans les selles (stéatorrhée) oriente vers une maladie pancréatique ou un trouble de l'absorption de graisses par l'intestin. Normalement on ne doit pas détecter dans les selles plus de 5 g de graisses par 24h.

- **Examen bactériologique** (coproculture). Cet examen consiste à rechercher la présence d'une bactérie déterminée dans un prélèvement de selles, généralement lorsque l'on suspecte une intoxication (salmonellose) ou une infection hospitalière (infection nosocomiale).

- **Examen parasitologique** : la recherche de vers et de parasites (ascaris) nécessite de faire un régime sans résidus dans les jours qui précèdent l'examen. Il faut éviter les légumes verts, crudités, fruits, pain et pâtisseries, ainsi que la viande rouge. Cet examen est demandé devant une diarrhée persistante après un séjour en région tropicale. L'examen parasitologique des selles est un examen difficile qui doit souvent être répété plusieurs fois afin de détecter le parasite ou de pouvoir affirmer que l'examen est négatif

5. prélèvement de l'expectoration bronchique :

1. Définition

Phénomène par le quel des produits normaux ou pathologiques, formés dans les voies respiratoires, sont rejetés hors de ces dernières. Le nom d'expectoration est donné au crachat lui-même, c'est-à-dire au produit de l'expectoration
L'expectoration bronchique peut faire l'objet d'une évaluation quantitative (crachoir)
qualitative (aspect odeur, couleur, consistance).

2. Type d'expectations bronchiques pathologiques

L'expectoration séreuse : Elle est liquide, très fluide, homogène parfois rosée
L'expectoration purulente : C'est un pus franc, homogène ou non. L'expectoration muqueuse : Crachats transparents, visqueux, filants. L'expectoration muco-purulente : Expectoration à caractère mixte, caractéristique des affections bronchiques et bronchopneumoniques.
Expectoration caractérisée par son abondance et une sédimentation en 3 couches (plus de 200 cm³ par jour)

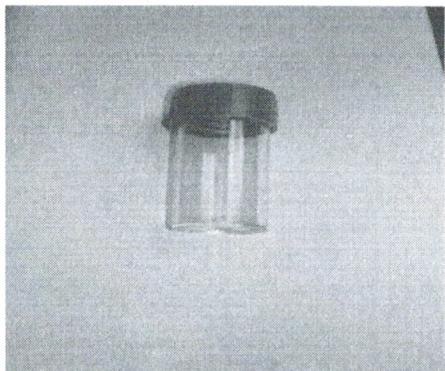
3. Prélèvement

C'est l'étude macroscopique et cyto-bactériologique de l'expectoration bronchique.

4. Moyens de recueil

Si la personne peut cracher on utilise « un pot de recueil stérile »

Si la personne ne peut ou ne veut pas cracher :Utilisation d'un « flacon piège »



5.Indications :

Recherche de germes dans le cadre d'une infection, d'une pneumopathie, d'une toux productive notamment pour le diagnostic bactériologique de la tuberculose et des pneumocystoses dans le cadre du SIDA.un antibiogramme s'associe en général à une recherche de germe.

6.Matériel :

Pot de recueil stérile
Gants non stériles
Masque
Cellulose
Sac poubelle si besoin.

7.Technique :

-Le prélèvement se fait de préférence le matin à jeun ou loin des repas sans antisepsie de la bouche
Le patient doit émettre un crachat venant du fond des poumons en toussant violemment
Le patient crache directement dans le pot de recueil stérile
Avant l'envoi au labo s'assurer de la qualité du prélèvement qui doit contenir un minimum de salive.
Si l'envoi n'est pas immédiat, conserver les crachats à + 4°C.

6. tubage gastrique:

1. Définition :

Introduction d'une sonde gastrique que l'on passe, soit par le nez, soit par la bouche jusque dans l'estomac
Le prélèvement doit être effectué 3 jours de suite le matin à jeun.

2. Indications :

Recherche du bacille de Koch dans les sécrétions

Principalement indiqué chez le sujet qui ne crache pas

3. Matériel :

Sonde gastrique
Seringue de 50 ml gros embout
Cellulose, haricot, masque
Gants non stériles
Stéthoscope ; Pots à prélèvements stériles + bons d'examens.

4. Technique :

- Par l'intermédiaire d'une sonde gastrique, on va prélever le mucus présent dans l'estomac du patient. Cet examen est effectué à jeun strict et avant le lever le matin
- Expliquer le but et le déroulement du soin au patient
- Mettre le masque
- Se laver les mains
- Installer le patient en ½ assis dans le lit
- Introduire délicatement la sonde par la narine Poursuivre l'introduction de la sonde vers l'œsophage en incitant le patient à déglutir.
- Si le malade tousse retirer la sonde de quelques cm
- Vérifier la position de la sonde
- Aspirer en adaptant au bout de la sonde, la seringue à gros embout puis retirer lentement la sonde,
- Effectuer le recueil dans les pots stériles
- Réinstaller le patient
- Se laver les mains
- Envoi de prélèvement

5. Incidents:

Gêne pharyngée, toux ou petits crachats

Nausées vomissements
Irritations de l'œsophage dues au passage de la sonde.

7. Prélèvements cutanées

1. Prélèvement sur peau sain ou non suintante:

Exemple : Prélèvement sur point de ponction cathéter central

- I-1 Effectuer le prélèvement avec 1 écouvillon préalablement imbibés de sérum physiologique stérile en dosette unitaire (1 à 2 gouttes)
- I-2 Coller les étiquettes du patient sur les écouvillons
- I-3 Noter la localisation du prélèvement sur les écouvillons (obligatoire +++ surtout en cas de prélèvements multiples)
- I-4 Joindre un bon de bactériologie renseigné complètement avec le nom du préleveur, la date et l'heure du prélèvement (obligatoires)
- I-5 Acheminer ce prélèvement au laboratoire dans un délai inférieur à 2 h (conservation à température ambiante en attendant)

2. Prélèvement à visée diagnostique sur plaies aiguës ou chronique

- Exemples : - Peau avec lésions cutanées superficielles (impétigo, ecthyma, bulle, folliculite, furoncle, anthrax,
- Inflammation cutanée, érysipèle, dermo-hypodermite
- Morsures
- Ulcération, escarre, lésions cutanées nécrotiques

Indications pour plaies chroniques (ulcères, escarres) :

- Le prélèvement n'est indiqué que s'il ya des signes d'accompagnement locaux (douleur, inflammation péri-ulcéreuse) ou généraux (adénite, fièvre, etc.)
- Les escarres ne sont prélevés qu'au stade III et IV, c'est-à-dire lorsque la perte de substance atteint ou dépasse le fascia

Les ulcères ne sont à prélever qu'en cas d'infection et après débridement.

- Pied diabétique infecté : les prélèvements ne sont indiqués qu'en cas d'infection cliniquement établie, les plaies sans signes cliniques (locaux ou généraux) ne doivent pas être prélevées (sauf avis du praticien responsable).

L'écouvillonnage simple de ces plaies est rigoureusement proscrit pour un prélèvement à visée diagnostique

2-1 Nettoyer la plaie à l'aide d'une compresse imbibée de sérum physiologique stérile (désinfection de la peau à l'aide de polyvidone iodée moussante (ou chlorexidine aqueuse si allergie) pour collections fermées par exemple lésions bulleuses)

2-2 Eliminer les exsudats

2-3 Procéder au débridement des tissus quand cela est nécessaire

2-4 Rincer la plaie au sérum physiologique stérile

2-5 Prélever 2 à 3 écouvillons préalablement imbibés de sérum physiologique

stérile en dosette unitaire (1 à 2 gouttes)

2-6 Coller les étiquettes du patient sur les écouvillons

2-7 Noter la localisation du prélèvement sur les écouvillons (obligatoire +++ surtout en cas de prélèvements multiples)

2-8 Joindre un bon de bactériologie renseigné complètement avec le nom du préleveur, la date et l'heure du prélèvement (obligatoires)

2-9 Acheminer ce prélèvement au laboratoire dans un délai inférieur à 2 h (conservation à température ambiante en attendant)

3.infection du site opératoire:

L'écouvillonnage simple de la cicatrice est rigoureusement proscrit En cas d'écoulement spontané :

3-1 Eliminer les exsudats

3-2 Désinfection de la zone cutanée autour de la cicatrice à l'aide de Polyvidone iodée moussante (ou chlorexidine aqueuse si allergie)

3-3 Rincer au sérum physiologique pour ôter les reliquats d'antiseptique

3-4 Prélever 2 à 3 écouvillons préalablement imbibés de sérum physiologique stérile en dosette unitaire (1 à 2 gouttes)

3-5 Coller les étiquettes du patient sur les écouvillons

3-6 Noter la localisation du prélèvement sur les écouvillons (obligatoire +++ surtout en cas de prélèvements multiples)

3-7 Joindre un bon de bactériologie renseigné complètement avec le nom du préleveur, la date et l'heure du prélèvement (obligatoires)

3-8 Acheminer ce prélèvement au laboratoire dans un délai inférieur à 2 h (conservation à température ambiante en attendant)

Sans écoulement spontané :

Il est recommandé de pratiquer une ouverture chirurgicale de la plaie avant toute antibiothérapie, les prélèvements doivent être réalisés à ce moment par le chirurgien

8. Prélèvement vaginale

1. Définition :

Les prélèvements vaginaux permettent de différencier les différents types d'*infections vaginales* : parasitaires, mycosiques ou bactériennes. Ils permettent aussi le diagnostic de certaines *MST*

2. Indications

Pertes vaginales purulentes

Ulcérations génitales

Prurit génital

3. Matériel :

Spéculum en inox stérilisé, gants, 2 écouvillons stériles, lames

4. Mode opératoire :

Il est conseillé d'apprendre ce geste médical auprès d'une sage-femme ou d'un infirmier compétent avant d'opérer soi-même.

La patiente est allongée, de préférence sur une table gynécologique, ou à défaut sur un lit, et plie les genoux en écartant les cuisses.

- Passer le spéculum sous de l'eau tiède et propre afin de favoriser sa lubrification et détendre la patiente.
- Le spéculum est introduit verticalement, délicatement et en position fermée dans le vagin en prenant appui sur le bas de la fourchette. Lorsqu'il est introduit au 3/4, le retourner délicatement afin de le mettre en position horizontale.
- Presser légèrement le spéculum avec la main pour écarter les parois afin de chercher le col de l'utérus. Lorsque il est repéré, commencer à visser doucement afin d'écarter les mors., cesser de visser avant la pleine ouverture.
- Avec le premier écouvillon, prélever autour du col (gonocoques, trichomonas).
- Avec le deuxième écouvillon, prélever délicatement le col lui-même (chlamydiae) en appuyant fermement l'écouvillon sur l'orifice et en lui imprimant un mouvement rotatif. Si il y a du mucus sur l'orifice (phénomène physiologique) l'enlever grâce à une gaze stérile montée sur une pince avant de prélever.
- L'aspect du col doit être décrit pour le compte-rendu final de l'examen

- Replacer les écouvillons dans leur étui sans toucher l'ouverture.
- Retirer le spéculum en commençant par le dévisser un peu (pas jusqu'au bout, cela pourrait coincer de la muqueuse vaginale entre les mors du spéculum) puis en le tirant tout en effectuant un quart de tour pour le remettre en position verticale. Le placer dans un bac contenant de la Javel.

On procède ensuite à un examen direct et à un étalement sur lame en vue d'une coloration de Gram et de Giemsa.

Il est à noter que la présence de sang au niveau du col, lors du prélèvement fait suspecter la présence de chlamydiae.

On peut aussi noter le pH vaginal à l'aide d'un papier pH appliqué sur la muqueuse de la paroi vaginale (échelle 4-8), et pratiquer un test à la potasse

Nettoyage du spéculum : se reporter au chapitre concernant l'hygiène et la sécurité

Le spéculum doit être immergé dans de la javel puis stérilisé à nouveau avant utilisation. Il est donc conseillé d'en posséder 2 ou 3 .

Ponction d'ascite

I. Rappel clinique sur l'ascite

La ponction d'ascite consiste à retirer du liquide d'ascite, c'est-à-dire d'un épanchement liquidien dans le péritoine dans le but soit diagnostique, soit thérapeutique. Normalement la cavité péritonéale ne doit pas être remplie de liquide. Le diagnostic clinique de cet épanchement se porte :

- A l'inspection : devant un gros abdomen qui retombe en besace, avec parfois l'ombilic déplié.
- Sur la percussion qui montre une matité diffuse, franche, et on ne perçoit plus les sonorités normales de l'estomac et des intestins.
- Sur la palpation en cas de gros épanchement avec le signe du flot: une chiquenaude lancée sur un des flancs de l'abdomen est ressentie par une main posée sur l'autre flanc comme un mouvement de vague.

Le diagnostic clinique est généralement aisé devant un gros épanchement. Il peut être difficile si l'épanchement est petit, l'abdomen est à peine augmenté de volume et le principal signe clinique consiste en une matité des flancs. Mieux vaut dans ce cas s'abstenir de pratiquer la ponction si ce geste n'est pas indispensable et que l'on est hors d'un hôpital. Le principal problème est de déterminer la cause et dans ce but, la ponction devient indispensable.

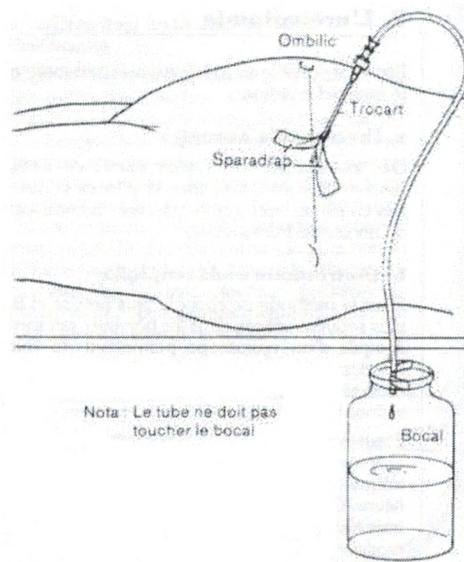
II. Indications

1. La ponction d'ascite peut être pratiquée dans un but diagnostique

- Pour affirmer la présence de liquide dans le péritoine, ce qui est anormal.
- Pour déterminer une étiologie par l'aspect et la composition du liquide :

cancéreuse, tuberculeuse, infectieuse à germes banals, par l'hyperpression veineuse chez le cirrhotique, inflammatoire, etc.

Pour cela, il faut distinguer le type de liquide. On peut se trouver devant les situations suivantes :



a. Un patient présente une ascite, une altération de l'état général (asthénie, anorexie, amaigrissement) et éventuellement un syndrome tumoral (masse abdominale anormale, dure; saignements, douleurs, etc.). La ponction ramène un liquide sanglant qui confirme l'extension du processus cancéreux au péritoine. Inversement, un liquide d'ascite sanglant, en dehors d'un traumatisme abdominal responsable d'une hémorragie interne, est un argument en faveur d'une ascite carcinomateuse.

b. -Un patient tuberculeux présente une ascite. La ponction ramène un liquide citrin jaune-brun. L'analyse biologique du liquide, si elle est possible dans le dispensaire, montre qu'il est riche en cellules, en particulier en lymphocytes et en protéines, plus de 30 g/l. La culture sur milieu de Löwenstein, si elle est pratiquée, mettra en évidence des BK. Le liquide est dit exsudatif, et d'origine inflammatoire. Inversement, un patient avec une ascite au liquide citrin riche en cellules et protéines, a probablement une ascite tuberculeuse.

C. Un patient cirrhotique, ancien alcoolique chronique, présente une volumineuse ascite avec des oedèmes des membres inférieurs. La ponction ramène un liquide jaune-clair, pauvre en cellules et en protéines avec moins de 30 g/l. Il s'agit d'un transsudat, c'est-à-dire que le mécanisme est dû non pas à une inflammation comme dans le cas précédent, mais à une hyperpression veineuse. Le foie étant

dur et scléreux, joue le rôle d'un barrage. Les veines portes qui y affèrent, se dilatent à tel point que le plasma sanguin traverse les parois des vaisseaux pour retomber dans la cavité péritonéale. On peut avoir un liquide pareillement transsudatif chez un malade en grande insuffisance cardiaque.

A noter encore, chez un malade cirrhotique dont le liquide avait été analysé et considéré transsudatif, et dont le même liquide devient riche en cellules et en protéines, donc exsudatif, que cette transformation du liquide traduit souvent une surinfection tuberculeuse récente.

d. Il faut suspecter une ascite infectée à germes banals chez un malade avec un syndrome infectieux (fièvre, mauvais état général) associé à une ascite et à un foyer infectieux régional, possible porte d'entrée. La ponction ramène un liquide trouble, parfois citrin ou légèrement verdâtre, riche en polynucléaires, ou contenant du pus (la mise en culture tachera d'identifier des germes responsables). Il faudra très rapidement déterminer l'origine de cette ascite infectée, tout en débutant un traitement antibiotique énergique.

e. D'autres causes, rares, sont possibles mais nous ne nous y attarderons pas.

2. La ponction d'ascite peut être pratiquée dans un but thérapeutique

Il s'agit d'un cirrhotique souffrant d'un énorme épanchement de dix à vingt litres, comprimant le thorax et gênant la respiration et la pompe cardiaque. Des ponctions vont soulager le patient mais sans le guérir et avec le risque de le priver d'eau et d'électrolytes contenus dans le liquide.

a. En fait, avant de pratiquer une ponction d'ascite, il faut bien réfléchir sur l'utilité et la nécessité de ce geste, car ce geste simple n'est pas anodin. Il y a des risques :

- surinfection du liquide par la ponction,
- fistulisation par l'orifice de ponction,
- blessure de l'intestin ou de la rate par l'aiguille,
- déperdition de protides et d'électrolytes par des ponctions fréquentes et trop répétées,

- malaise ou choc par une évacuation de liquide trop rapide.

b. Par ailleurs, chez certains malades dont le diagnostic est fait et s'avère de mauvais pronostic et dépourvu de ressources thérapeutiques réelles, il faut se poser la question si ce geste est vraiment indispensable et ne serait pas plutôt nuisible.

III. Technique

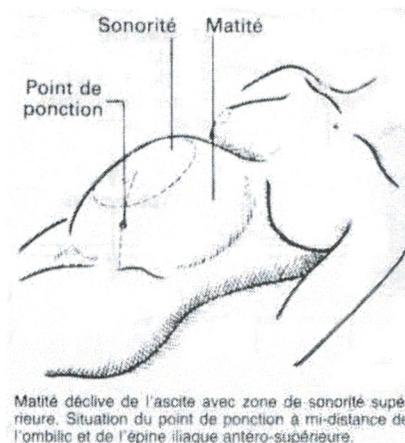
1. Matériel

- Compresses stériles, coton, alcool iodé.
- Trocard stérile, de préférence à usage unique, ou alors stérilisé à l'autoclave à 180° pendant trois quarts d'heure. Rappelons que la poissonnière, fréquemment utilisée, sert à faire cuire les poissons comme son nom l'indique, mais ne peut stériliser les aiguilles. A défaut de trocard, on peut utiliser une aiguille IM longue et large, d'usage unique.
- Seringue stérile de 10 ou 20 cc.
- Deux tubes pour analyse cytochimique.
- En cas de ponction évacuatrice, une tubulure de perfusion et un bocal gradué.

2. Technique

Le patient est en décubitus dorsal, couché sur le dos. Avant tout, on palpe l'abdomen et on s'assure qu'il n'a pas une grosse rate qui descend jusqu'à l'ombilic ou plus bas, comme c'est souvent le cas en milieu tropical. La ponction devient contre-indiquée du côté gauche dans ce cas.

comme c'est souvent le cas en milieu tropical. La ponction devient contre-indiquée du côté gauche dans ce cas.



On repère le point de ponction. Sur le flanc gauche, on trace une ligne entre l'ombilic et l'épine iliaque antéro-supérieure. Cette ligne est partagée en trois tiers et le point de ponction se situe entre le tiers externe et le tiers moyen toujours en pleine zone de matité. Après s'être lavé et désinfecté les mains et avoir désinfecté le point de ponction, on pique perpendiculairement la paroi. L'anesthésie locale est inutile. On retire le mandrin et on recueille le liquide dans les tubes à essai. En cas de ponction évacuatrice, on installe la tubulure et on règle le débit d'écoulement selon la tolérance du malade. En général, on évacue deux litres en une heure. Si le liquide ne vient pas, on demande au malade de se pencher légèrement sur le côté gauche et on bouge un peu l'aiguille. Si le liquide ne vient toujours pas, on n'insiste pas trop et on conclut à une ponction blanche. A la fin, on retire l'aiguille, on aseptise la plaie et on place un pansement stérile, en demandant au malade de se pencher sur le côté droit.

III. CONCLUSION:

Les précautions dites "universelles" doivent être prises pour tous les prélèvements. Tout produit pathologique doit être considéré à l'heure actuelle comme potentiellement infectieux. Toute précaution doit être prise lors des prélèvements et de la manipulation des échantillons pour la protection du personnel, en particulier lorsque le risque infectieux est accru, comme dans le cas d'un micro-organisme très virulent à risque épidémique, ou bien particulièrement résistant aux chimiothérapies anti-infectieuses. Les principales règles de sécurité peuvent être ainsi rappelées. La fermeture des récipients doit être hermétique, pour ne pas contaminer l'extérieur des flacons ou des tubes. Les procédures de désinfection adaptées à chaque type de contamination doivent être connues. Le récipient dont la surface externe a été contaminée peut être placé dans un deuxième récipient ou dans un sac en plastique fermé hermétiquement. La prescription accompagnant le prélèvement doit être alors placée à l'extérieur de cet emballage supplémentaire. Lorsqu'un récipient fuit, il est préférable de ne pas le manipuler. Lorsqu'il ne peut être placé dans un autre récipient étanche, il faut éviter de le transporter. Il doit être autoclavé et un autre échantillon clinique doit être transmis au laboratoire. Il ne faut pas transporter une seringue avec son aiguille; celle-ci doit être retirée avec un dispositif de sécurité et la seringue purgée d'air recapuchonnée, puis placée dans un sac en plastique fermé hermétiquement.

Différents types de défauts ou d'erreurs liés aux circonstances mêmes du prélèvement ou aux modalités utilisées peuvent interférer avec la reconnaissance ou l'isolement du micro-organisme responsable de l'infection. Les exemples comprennent le traitement antibiotique au moment du prélèvement, l'application locale de produits anesthésiques sur les lésions avant le prélèvement, l'utilisation d'un soluté contenant un antiseptique pour recueillir l'échantillon, le transport ou le stockage impropre des échantillons, ainsi que le choix d'un milieu de transport inapproprié. D'autres facteurs peuvent gêner la recherche de l'agent étiologique ou empêcher d'établir la cause d'une infection. Ce sont notamment :

- les difficultés de prélèvement qui peuvent rendre impossible l'obtention d'un échantillon représentatif du processus infectieux;
- la contamination habituelle par la flore endogène de certains sites de prélèvement;
- la difficulté de distinguer une simple colonisation d'une véritable infection due à des bactéries opportunistes. C'est pourquoi plus les prélèvements auront été effectués avec précaution, plus grand sera le niveau de confiance attribué aux résultats de la culture.

Références bibliographiques :

- TONY HART, PAUL SHEARS. Atlas de poche de microbiologie. 1^{ère} édition, 1997.
- Collection Microsoft ® Encarta ® 2004
- Référentiel de microbiologie médicale (REMIC) 3^{ème} édition, 2007
- Définition des infections associées aux soins, document du CTINILS, Mai 2007
- Chef de service laboratoire

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE
Dr. : TIDJANI DAMEROU - TLEMSEN
Sec. de : MICROBIOLOGIE
IMMUNOLOGIE
Dr. B. DEN BADJI
19/01/2011