DU d’Hygiène Hospitalière et de Gestion de la Contagion

Lundi 21 septembre 2026

Bases en microbiologie médicale : étapes de diagnostic microbiologique

Dr Sophie BARON
MCU-PH, Laboratoire des Agents Infectieux
IHU Méditerranée Infection
Email : sophie.baron@ap-hm.fr

OBJECTIFS

Rappel de l'organisation d'un laboratoire de microbiologie

Rappel du principe des outils d'un laboratoire de microbiologie

Rappel de la démarche du patient au laboratoire

- diagnostic d'une bactériémie/ fongémie
- diagnostic d'une méningite +/- encéphalite
- diagnostic d'une infection urinaire
- diagnostic d'une infection gastro-intestinale
- diagnostic d'une infection respiratoire

Tests de diagnostic rapide : Point of care

PLAN

1. **Généralités sur les maladies infectieuses**
2. **Organisation d'un laboratoire de microbiologie**
3. **Outils diagnostiques en microbiologie**
   - Outils en culture bactérienne
     - Examen direct : microscopie
     - Culture
     - Identification
     - Antibiogramme
   - Détection d'antigène bactérien
   - La biologie moléculaire en pleine expansion
   - La sérologie
     - Immunofluorescence
     - ELISA
   - Diagnostic des infections virales
   - Diagnostic des infections mycologiques et parasitaires
4. **Importance de la phrase pré-analytique**
   - Catalogue d'analyse
   - Bon d'examen
   - Bonne pratique de réalisation des prélèvements
   - Transport
   - Non-conformité
5. **La démarche du patient au laboratoire**
   - Hémoculture
   - Ponction lombaire
   - Examen cytobactériologique des urines
   - Coproculture
   - Examen cytobactériologique des crachats
   - Ecouvillons
6. **Point-of-Care**

Diagnostic d'une maladie infectieuse

1. **Clinique**
   - Signes généraux
   - Signes spécifiques

2. **Examens complémentaires**
   - Radiologiques
   - Biologiques

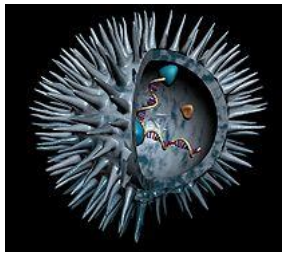
3. **Diagnostic de l'étiologie de la maladie bactérienne**

Les maladies infectieuses: un vaste monde

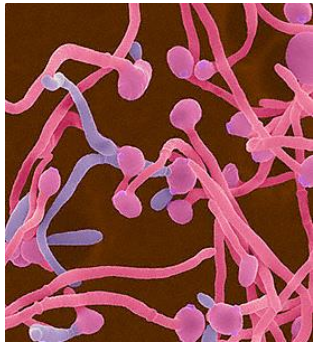
BACTERIES



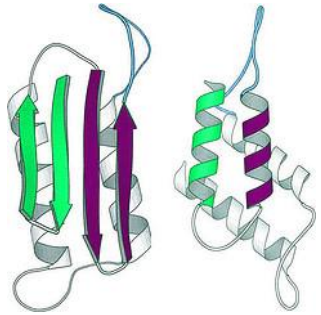
VIRUS



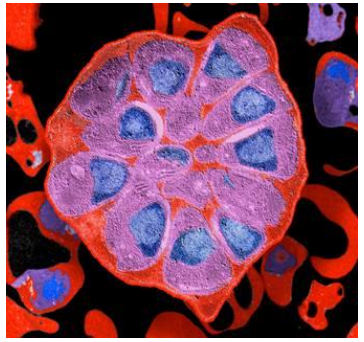
5 types de pathogènes



CHAMPIGNONS



ATNC



PARASITES

	Virus	Bactérie	Eucaryotes
Structure du noyau	ADN ou ARN	ADN circulaire	ADN + protéines
Localisation structure du noyau	Capside	ADN dans le cytoplasme	Noyau (membrane nucléaire)
ADN	Simple brin ou double brin	Nucléotide ou plasmide	noyau et les mitochondries
Cytoplasme	Pas de systèmes enzymatiques	Ribosomes 70S; pas de mitochondries ni d'organites	mitochondries et d'organites; ribosome 80S
Paroi cellulaire	Enveloppe virale	paroi rigide	Uniquement chez les champignons
Multiplication	Asexuée par parasitisme	Asexuée par simple division	Asexuée et sexuée

Diagnostic des maladies infectieuses

Guidés par la symptomatologie et l'examen clinique

Quand ?

le plus tôt possible

avant l'antibiothérapie

Où ?

à la porte d'entrée

dans le sang au cours de la dissémination (bactériémie)

Le foyer = dans les organes cibles

LCR, abcès profonds, par ponction, épanchements...

Comment ?

de façon stérile et rapidement acheminés au laboratoire

Organisation d'un laboratoire de Microbiologie

PRE-ANALYTIQUE

échantillons

Prélèvements d'environnement
- réservoirs
- vecteurs

> Réception 24/24, 365 jours/an

> Enregistrement

> Dispatching

ANALYTIQUE

Sérologies Automates

inoculation automatique

Inoculation Manuelle
- cellules
- animaux

Identification MALDI-TOF

- Identification par séquençage
- Génomique au débit

Antibiogramme automatisé

POST-ANALYTIQUE

- Validation
- Expertise et conseil thérapeutique
- Contact avec cliniciens









Article L6211-2

Un examen de biologie médicale se déroule en trois phases :

1° La phase pré-analytique, qui comprend le prélèvement d'un échantillon biologique sur un être humain, le recueil des éléments cliniques pertinents, la préparation, le transport et la conservation de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il est analysé ;

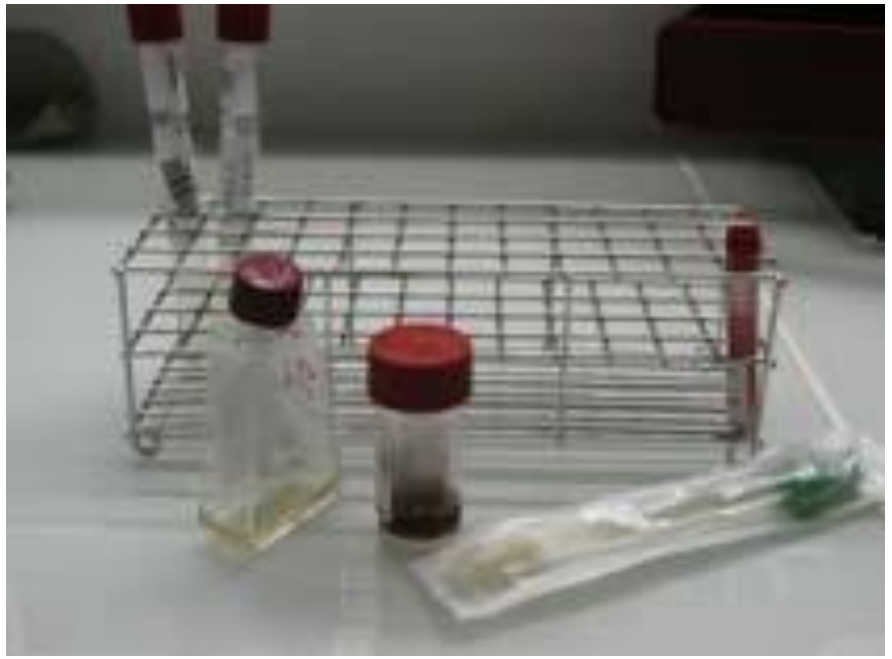
2° La phase analytique, qui est le processus technique permettant l'obtention d'un résultat d'analyse biologique ;

3° La phase post-analytique, qui comprend la validation, l'interprétation contextuelle du résultat ainsi que la communication appropriée du résultat au prescripteur et, dans les conditions fixées à l'article L. 1111-2, au patient, dans un délai compatible avec l'état de l'art.

Les prélèvements

Les grandes catégories:

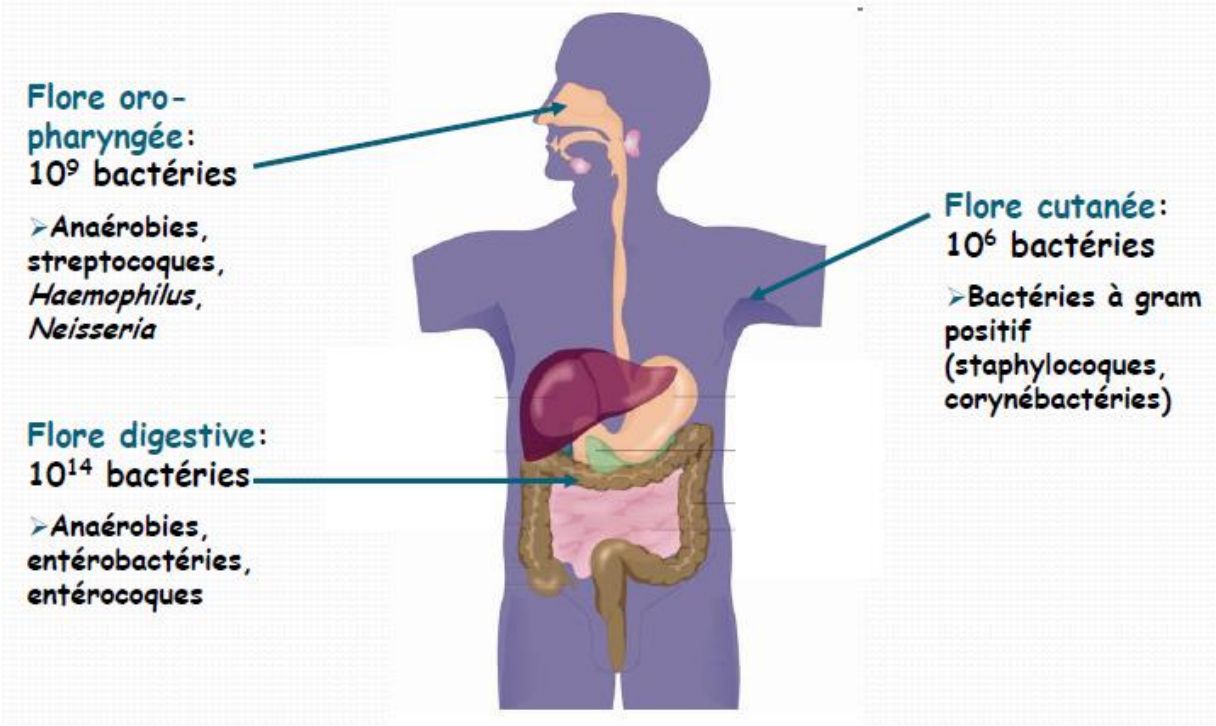
- Hémoculture
- Fluides biologiques
- Collections
- Biopsies
- Cutanéo-muqueux
- Sang veineux



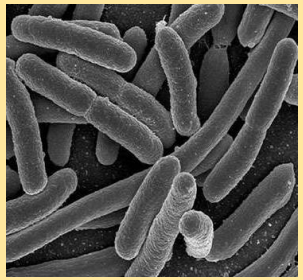
Les prélèvements

2 Grands types de prélèvements:

- Provenant d'un site stérile: sang, urine, LBA,…
- Provenant d'un site contaminé: cutané, selles, crachats,…



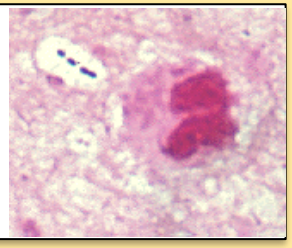
Outils diagnostiques en microbiologie



Diagnostic direct

Agent infectieux ou l'un de ses constituants

Microscopie



Détection d'antigène bactérien



Culture

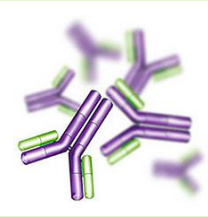


Biologie moléculaire



Diagnostic indirect

Réaction immunologique spécifique contre l'agent infectieux



Anticorps (IgG, IgM)

MÉDITERRANÉE INFECTION
Infections à Bartonella
Nouvelles maladies infectieuses
Obésité & microbes
Infections & piqûres de tiques
Endocardites
Senegalvirus
Microvirga
Methanomassiliicoccus
Génomique microbienne
Pathogènes émergents
Infections à Rickettsia
Virus géants
Fièvre Q
Maladie de Whipple

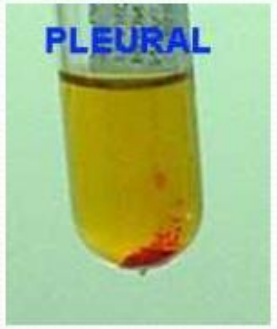
Outils en culture bactérienne

Examen Macroscopique

Aspect :

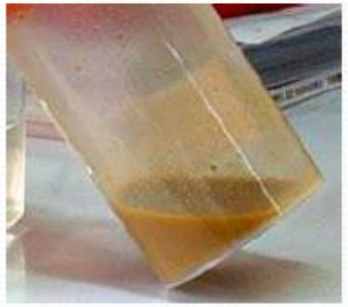
- Trouble
- Hématurique
- Citrin
- Liquide…











Cytologie : automatique ou manuelle

- Présence de GB/GR
- Quantification
- Présence de cristaux, cylindres…

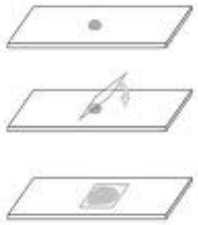




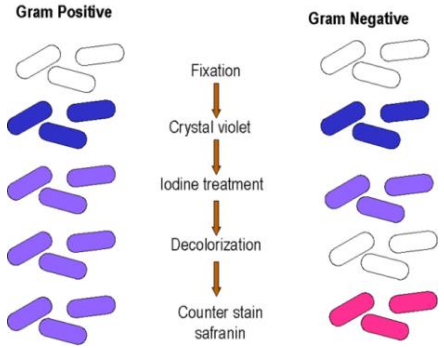
Examen direct: Microscopie

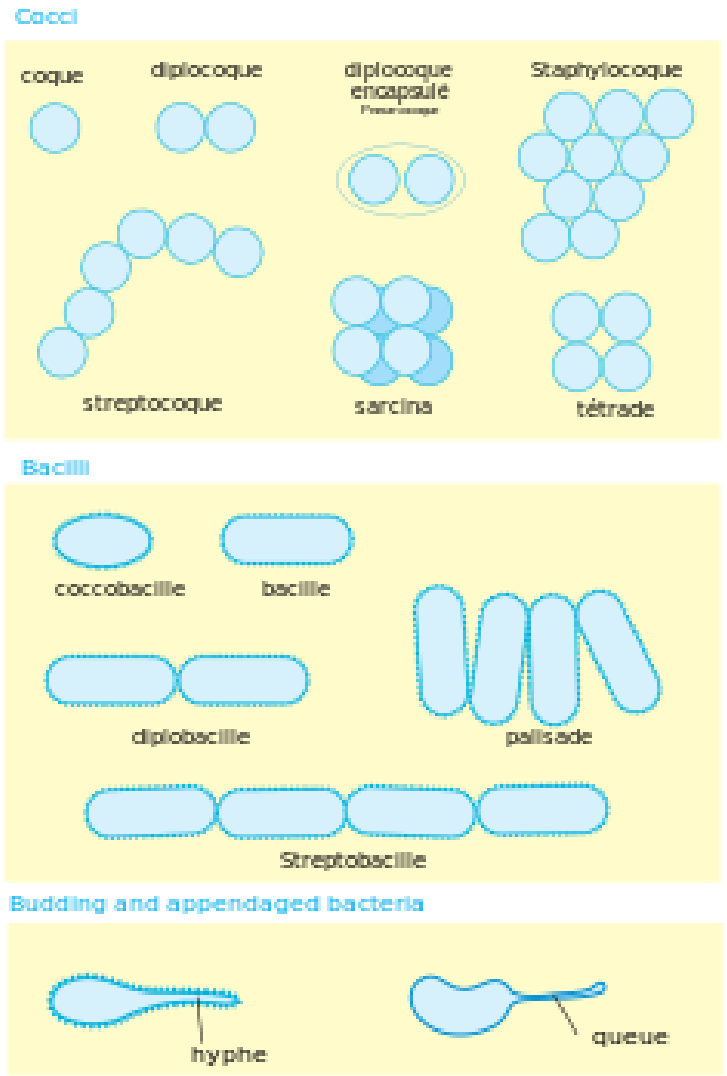
Examen direct :

– **Etat frais**: morphologie, mobilité



– Coloration de **Gram**: CGP, CGN, BGP, BGN





⇨ **1ère information pour adaptation de l'antibiothérapie probabiliste**

Examen direct: Microscopie

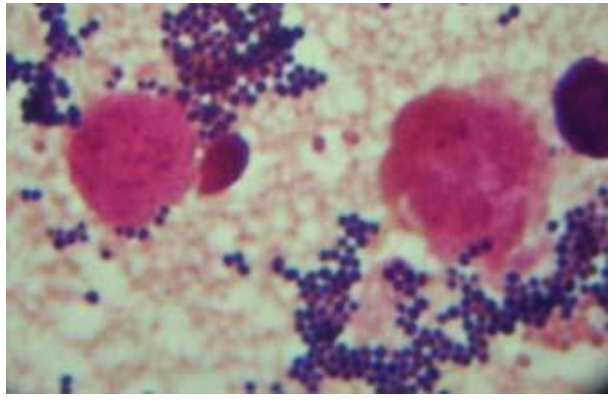
Coloration de Gram

Gram positif :

→ Coque :

- Amas*: Staphylococcus*
- Chainettes*: Streptococcus, Enterococcus ….*

→ Bacille : *Corynebacterium, Listeria ...*



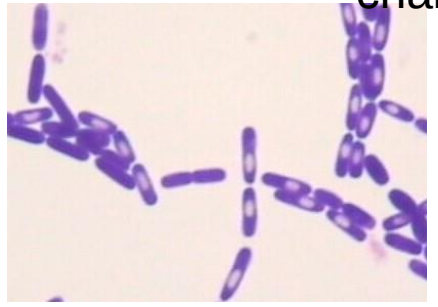
En amas



En chainette



CGN



BGP

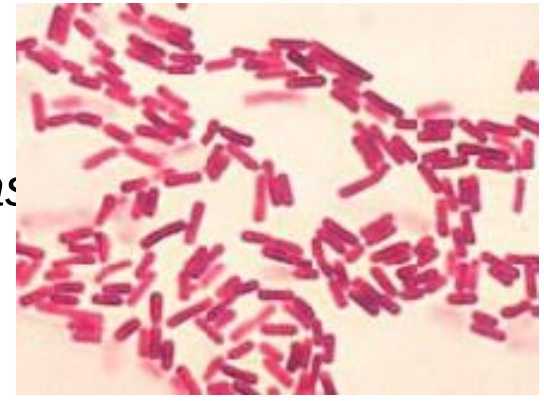
levures

Gram négatif :

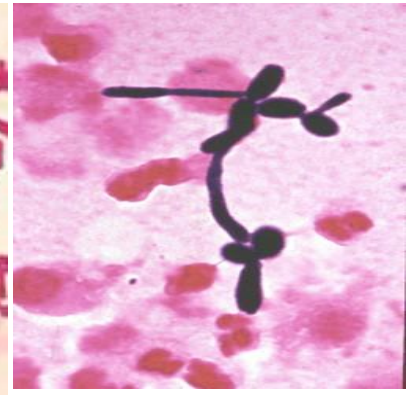
→ Coque : *Neisseria*

→ Bacille : enterobactéries, BGN non fermentants (*Pseudomonas* etc...)

Levures



BGN

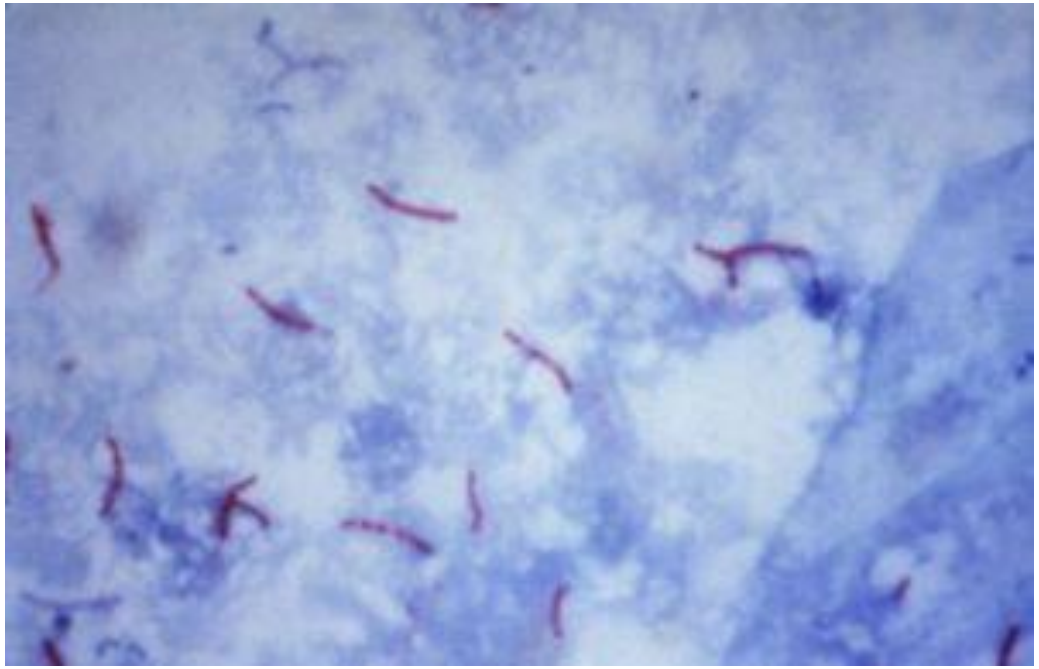


Examen direct : Microscopie

Autres colorations

Coloration de Ziehl-Neelsen

Mise en évidence de bacilles acido-alcoolo résistants



Exemple de: *Mycobacterium tuberculosis*, agent de la tuberculose

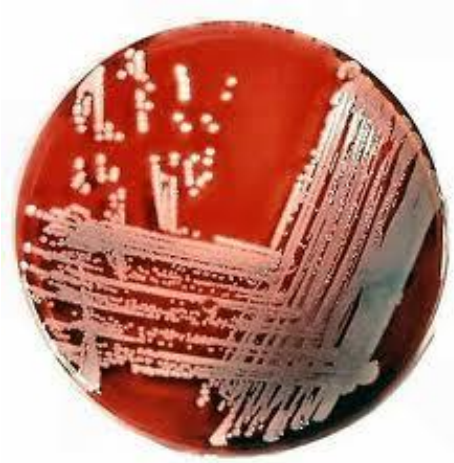
Culture

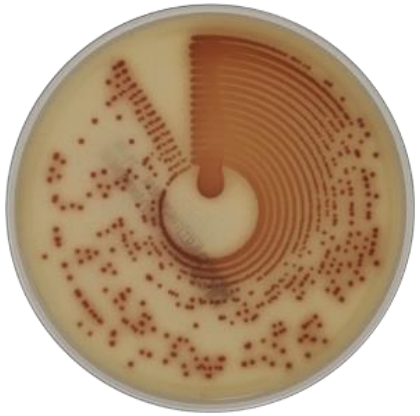
- Isolement de la bactérie





- Sur gélose





- Incubation des géloses à l'étuve (35+/-2° C)



Identification = caractères biochimiques

Tests rapides d'orientation

+

Galeries API



BGN

1er test d'identification = cytochrome oxydase

Positif	Négatif
-BGN non fermentaires - *Vibrio/ Aeromonas*	-Entérobactéries - *Acinetobacter*

Type respiratoire

AAF	Aerobie strict
Vibrio/Aeromonas	*Pseudomonas*

AAF	Aérobie strict
Entérobactéries	*Acinetobacter*

Identification biochimique complète : galerie classique ou système Api

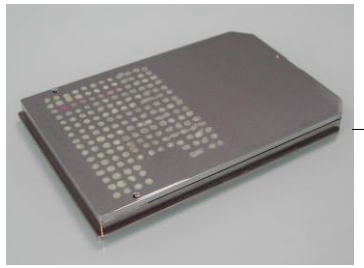


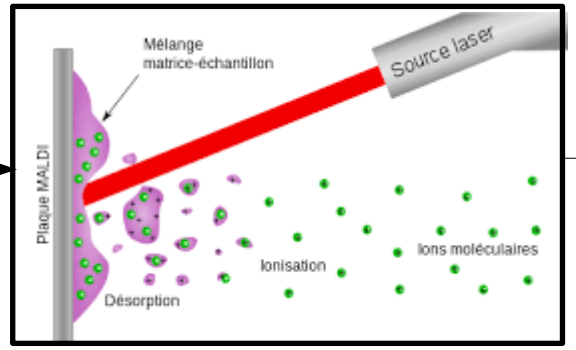


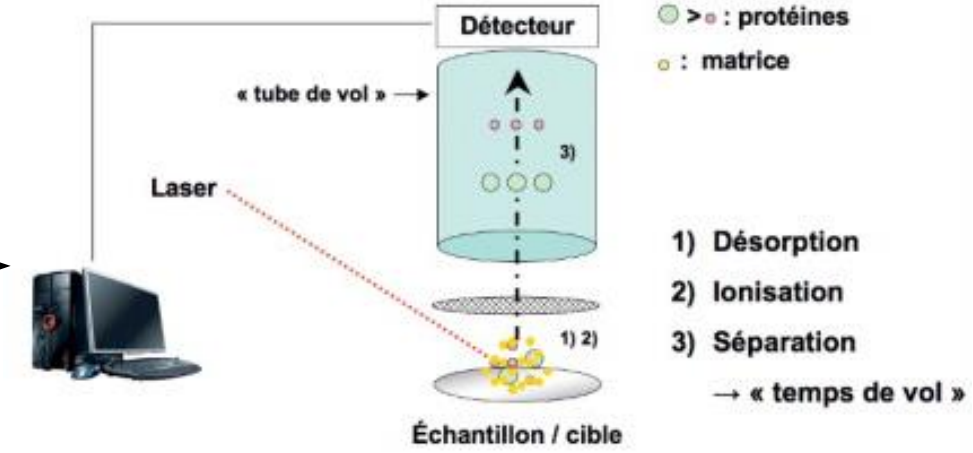
≈24h

Identification : Profil protéique

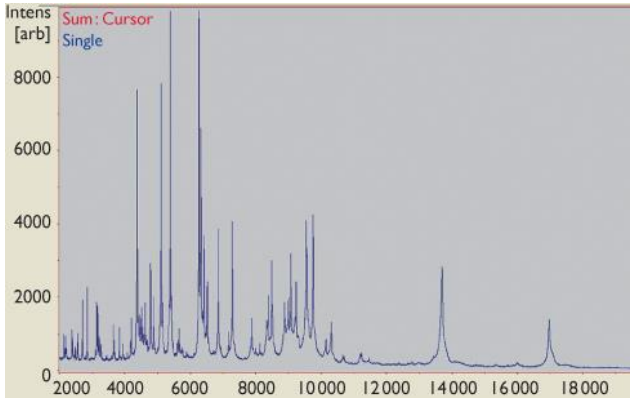
Spectrométrie de masse
MALDI-TOF (Bruker)











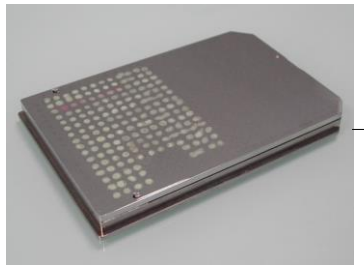
MALDI-TOF

- Produit un spectre protéique
- Comparaison à une base de données
- Score d'identification (probabilité)

Identification : Profil protéique

Gamme de score	Description	Symboles	Couleur
2.300 ... 3.000	Identification à l'espèce hautement probable	(+++)	Vert
1.900 ... 2.299	Identification au genre sûre, identification à l'espèce probable	(++)	Vert
1.700 ... 1.899	Probable identification au genre	(+)	Jaune
0.000 ... 1.699	Sans identification fiable	(-)	Rouge

Spectrométrie de mas
MALDI-TOF (Bruker)





Détecteur

: matrice

Result Overview

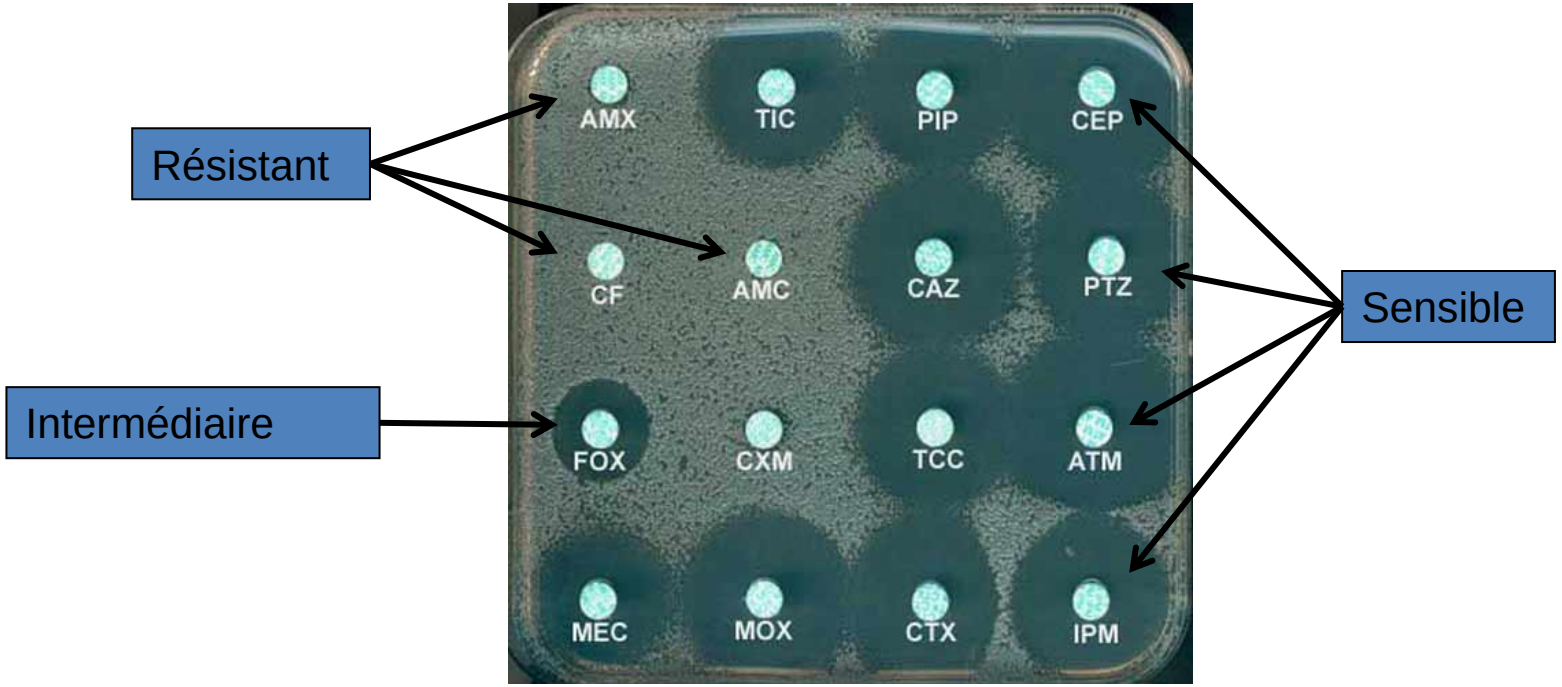
Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
5263003 (++)	E9	Staphylococcus aureus	2.118	Staphylococcus aureus	2.062
5263003 (++)	E10	Staphylococcus aureus	2.261	Staphylococcus aureus	2.254
5263003 (++)	E11	Staphylococcus aureus	2.196	Staphylococcus aureus	2.182
5263003 (++)	E12	Staphylococcus aureus	2.052	Staphylococcus aureus	2.048
5263004 (++)	J12	Staphylococcus aureus	2.1	Staphylococcus aureus	2.053
5263004 (++)	J11	Staphylococcus aureus	2.132	Staphylococcus aureus	2.051
5263004 (++)	J10	Staphylococcus aureus	2.277	Staphylococcus aureus	2.234
5263004 (++)	J9	Staphylococcus aureus	2.075	Staphylococcus aureus	2.063
5268320 (++)	I17	Staphylococcus aureus	2.098	Staphylococcus aureus	1.995
5268320 (++)	I18	Staphylococcus aureus	2.124	Staphylococcus aureus	2.024

Inter
[arl
800
600
400
200
0
2000 4000 6000 8000 10000 12000 14000 16000 18000

Antibiogramme



Permet d'évaluer *in vitro* la sensibilité de la bactérie aux ATB

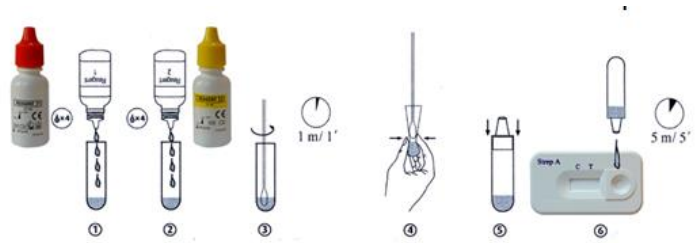


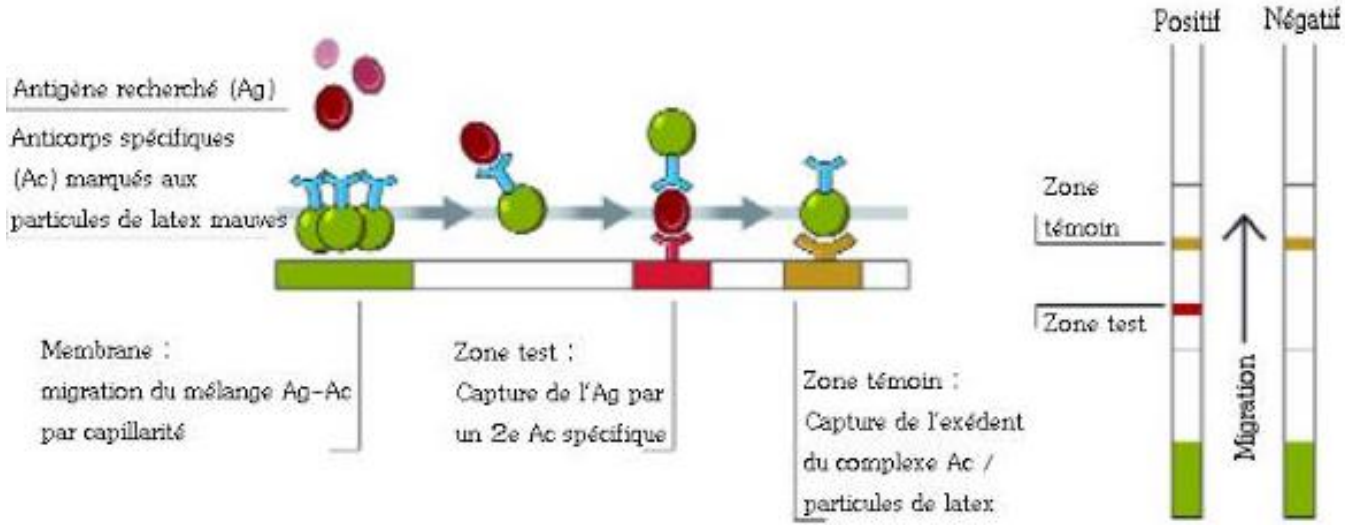
Détection d'antigène bactérien

Test immunochromatographique sur membrane

Détection d'antigènes de *Streptococcus pyogenes* (A)



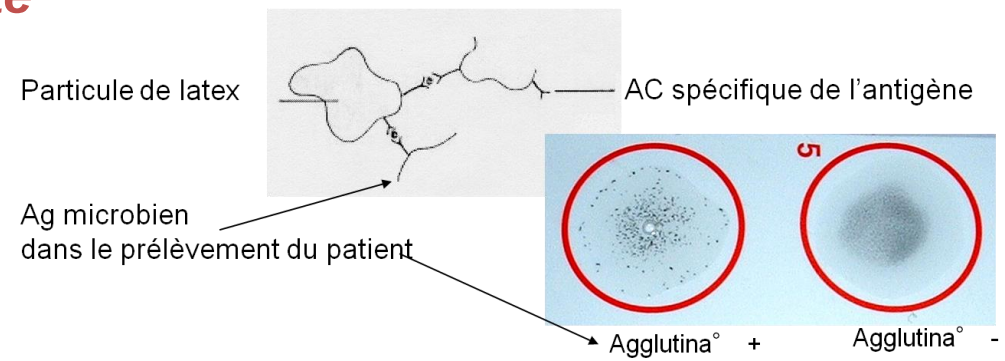




Rôle dans le diagnostic des Angines à *Streptococoque* A

Détection d'antigènes de *Streptococcus pneumoniae*

Antigènes solubles par agglutination



Détection d'antigène bactérien

- Ag urinaire
  - *Streptococcus pneumoniae*
  - *Legionella pneumophila*





- Ag soluble dans le LCR
  - Recherche des antigènes capsulaires spécifiques des bactéries habituellement responsables de méningites
    - *E. coli K1, Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae…*

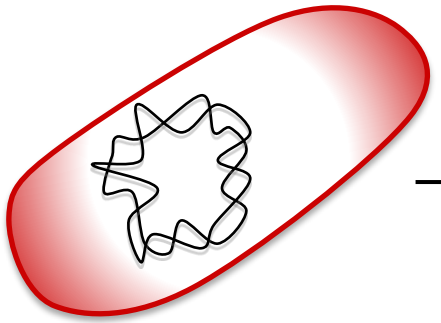
- Recherche de toxines de *Clostridium difficile*



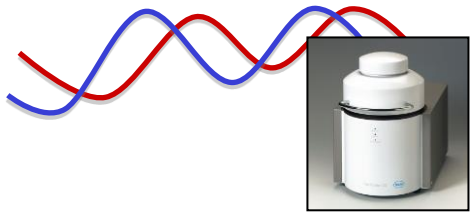
Avantage: réalisation aisée, rapide
Inconvénient: manque de sensibilité et spécificité, pas de culture

La biologie moléculaire

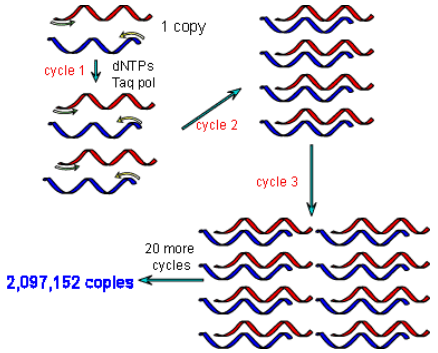
« Polymerase Chain Reaction » = PCR

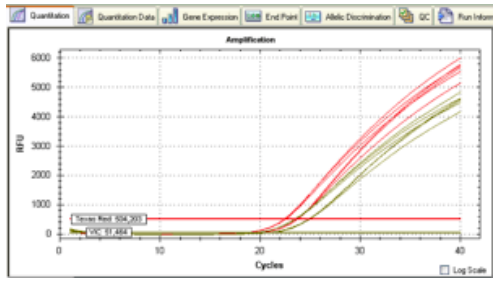


1. Sélection d'un gène spécifique d'un pathogène



2. Amplification génique





3. Détection



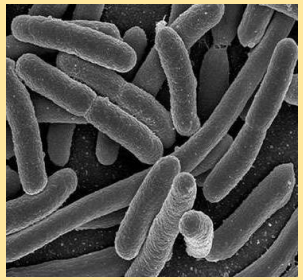
Intérêt:

- Tout type de prélèvements
- Germe de croissance difficile
- Tmt ATB préalable (VCA, LCR,…)
- Rapidité: LCR, portage vaginal Streptocoque B

Limite:

- Coût
- Contamination

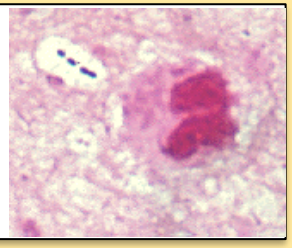
Outils diagnostiques en microbiologie



Diagnostic direct

Agent infectieux ou l'un de ses constituants

Microscopie



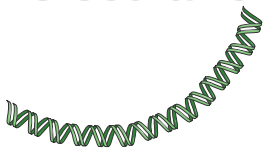
Détection d'antigène bactérien



Culture

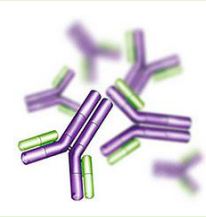


Biologie moléculaire



Diagnostic indirect

Réaction immunologique spécifique contre l'agent infectieux

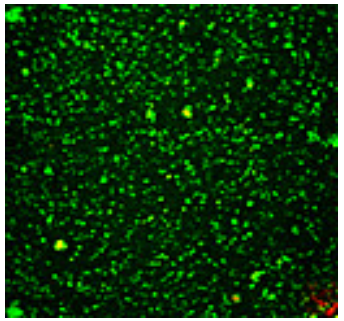


Anticorps (IgG, IgM)

Sérologie

Diagnostic indirect

Détection d'anticorps antimicrobiens dans le sérum du patient (IgG, IgM, IgA)



Prélèvement sur **tube sec**

Pour les germes:

- Culture fastidieuse: *C. burnetii, Treponema pallidum, Mycoplasma pneumoniae*
- Diagnostic rétrospectif
- Epidémiologie
- Prélèvement trop invasif
- Infection décapitée



Avantage: réalisation aisée
Inconvénient: apparition des Ac à partir de 8-10 jours, réactions croisées

Immunofluorescence

C infectée

2 Support solide

Anticorps anti-immunoglobuline Humaine (anti-IgG ou anti-IgM)

IgG ou IgM

Avantages

Visualisation du pathogène
Sensibilité
Linéarité du signal
IgG, IgM, IgA

Limites

Manuelle : longue
Non contrôlé
20 µl de sérum
Un seul microbe testé

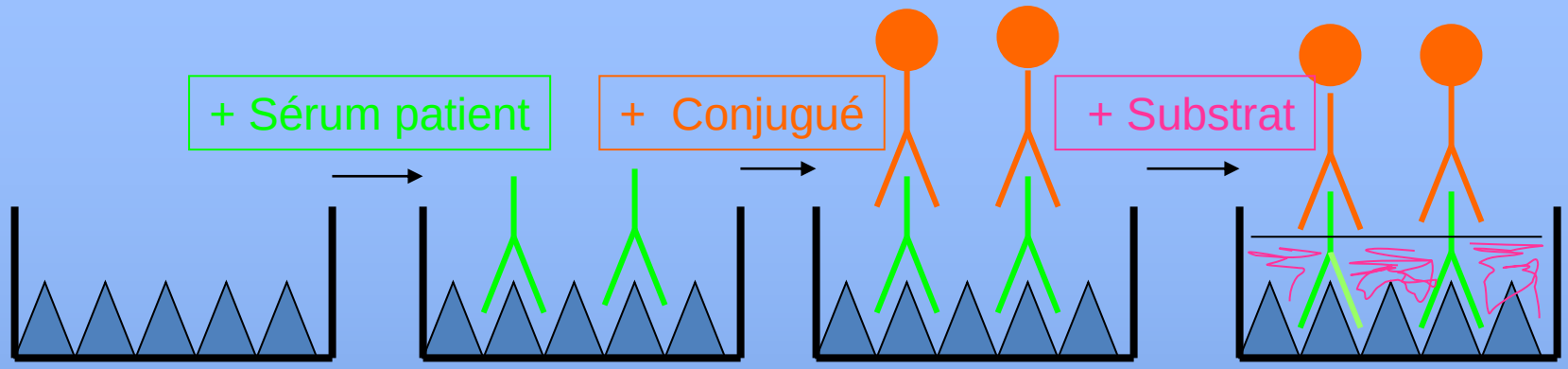


1 sérum

3 Réaction sérum-microbe

4 Révélation de la réaction microbe-sérum

Méthodes ELISA +++



Etape 1
Antigènes viraux fixés sur une cupule

Etape 2
Ac se fixent sur les Ag
Lavages

Etape 3
Fixation des Antiglobulines

Etape 4
Révélation



Avantages

96 échantillons

Automatisé

Connecté

Limites

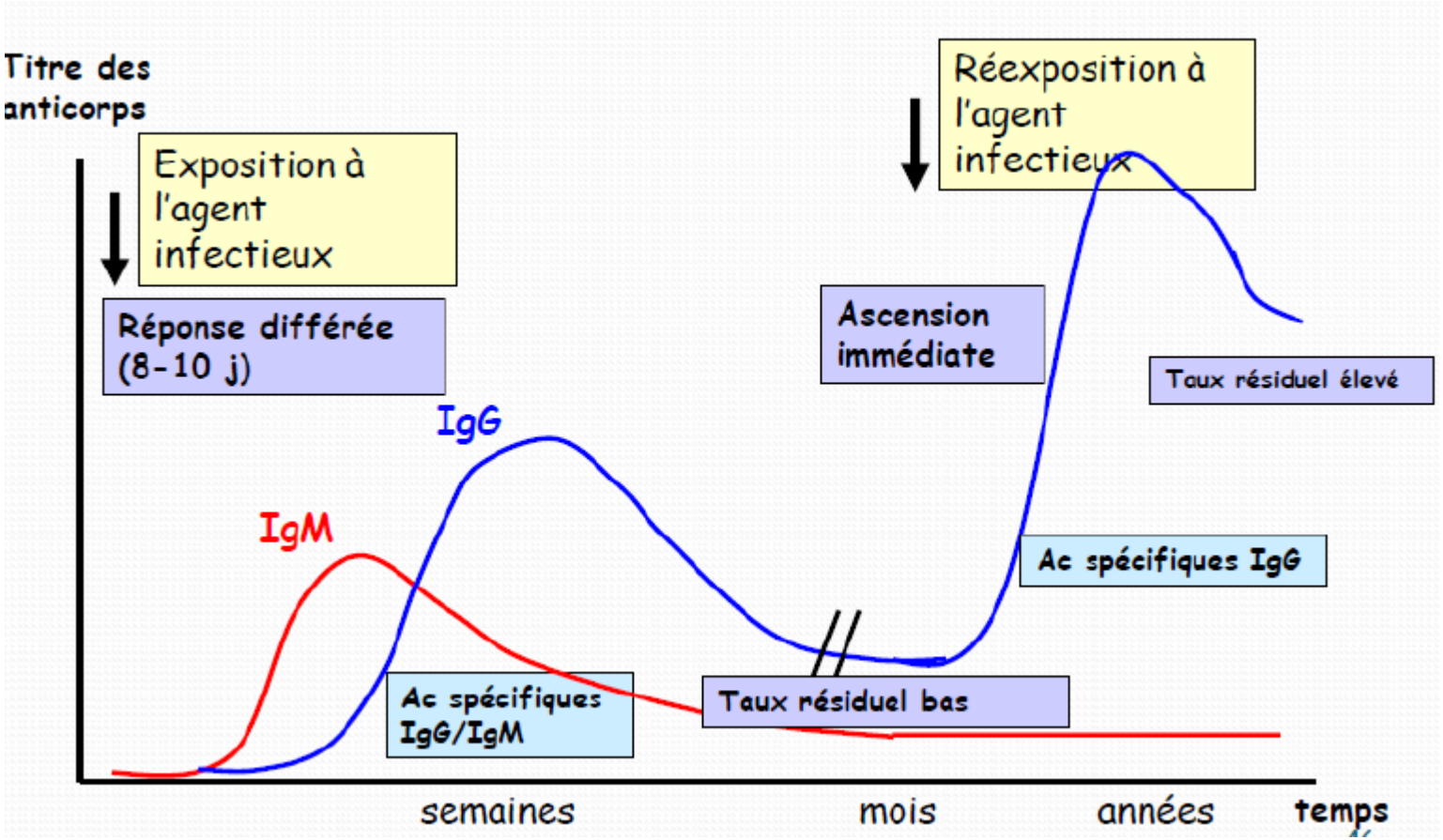
Pas de linéarité du signal

Un seul microbe testé





Interprétation d'une sérologie



Diagnostic des infections virales

Détection des virus

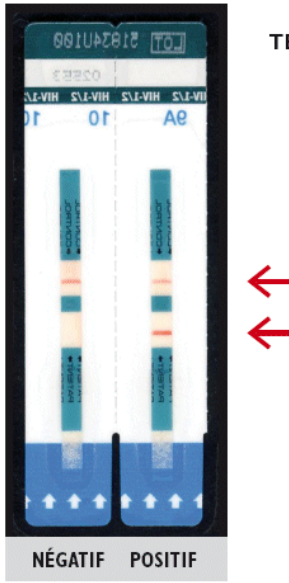
Sérologie+++

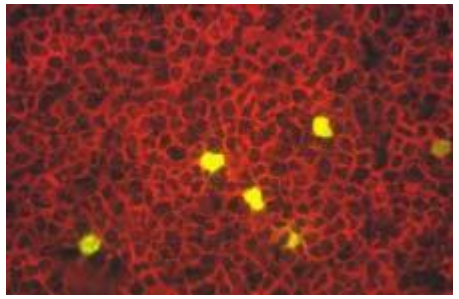
ex: VIH, hépatites, mononucléose infectieuse…



Détection d'antigènes viraux

ex: détection de la grippe, VRS, détection sanguine d'Ag CMV chez les greffés…

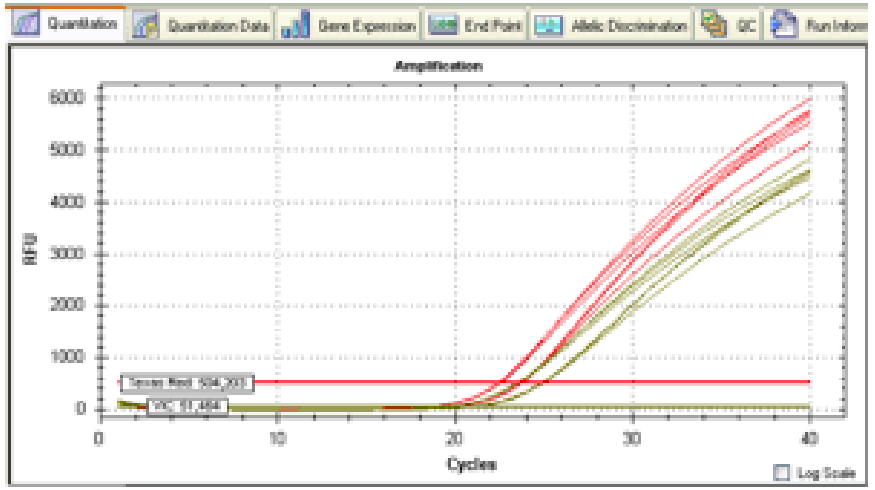




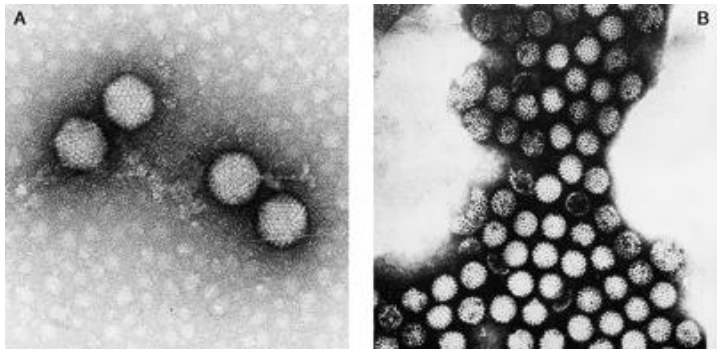
Détection des virus

PCR+++: a permis d'abandonner progressivement la culture

ex: VIH, hépatites, virus herpes…



Microscopie et **culture virale**: laboratoires très spécialisés

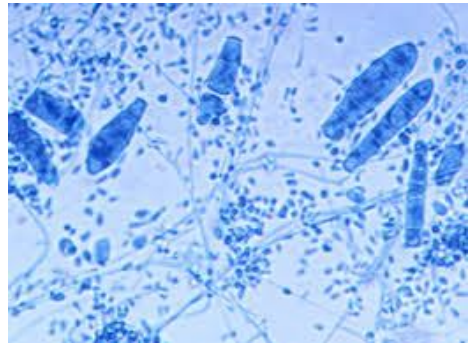


Diagnostic des infections mycologiques et parasitaires

Détection des champignons

Microscopie

ex: recherche de **Cryptocoque** chez l'immunodéprimé (méningite+++),
Recherche de dermatophytes,…





Détection d'antigènes

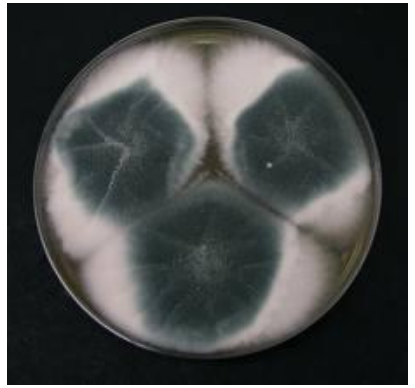
ex: Ag aspergillaire au niveau sanguin (infection disséminée chez l'immunodéprimé), Ag cryptococcique LCR/sang



Culture

majoritairement ***Candida*** et ***Aspergillus*** (terrain immunodéprimé+++)





PCR peu utilisée par rapport aux autres pathogènes

ex: pneumopathie à ***Pneumocystis*** chez l'immunodéprimé

Détection des parasites

Microscopie +++

- PKO
- Paludisme
  - frottis + goutte épaisse
  - Sang total (tube EDTA)

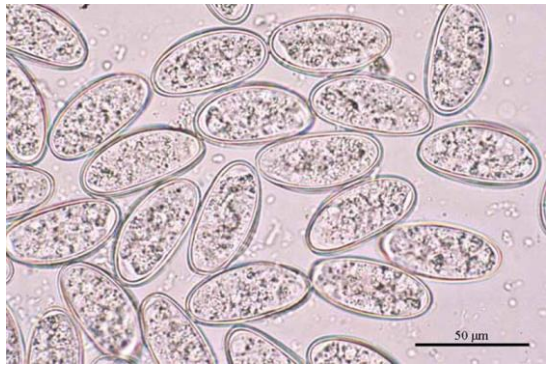
Sérologie +++

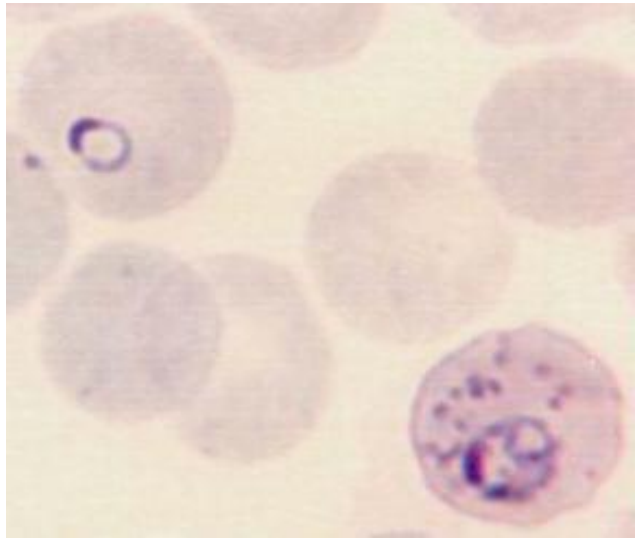
- Toxoplasmose

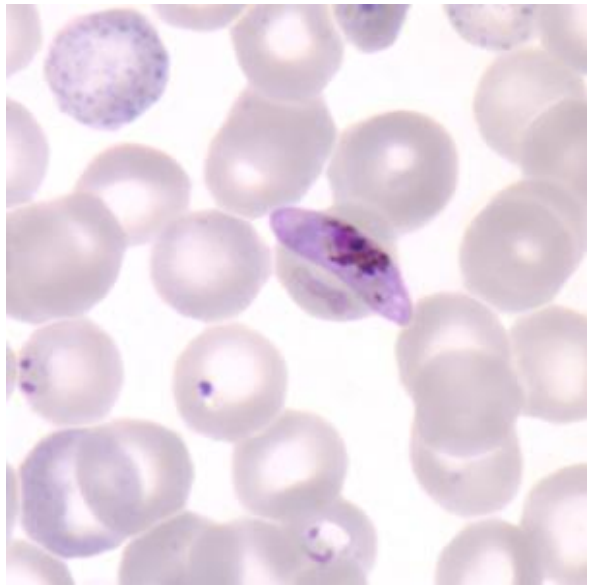
PCR : de + en + utilisées

Culture, détection d'Ag: très peu utilisées

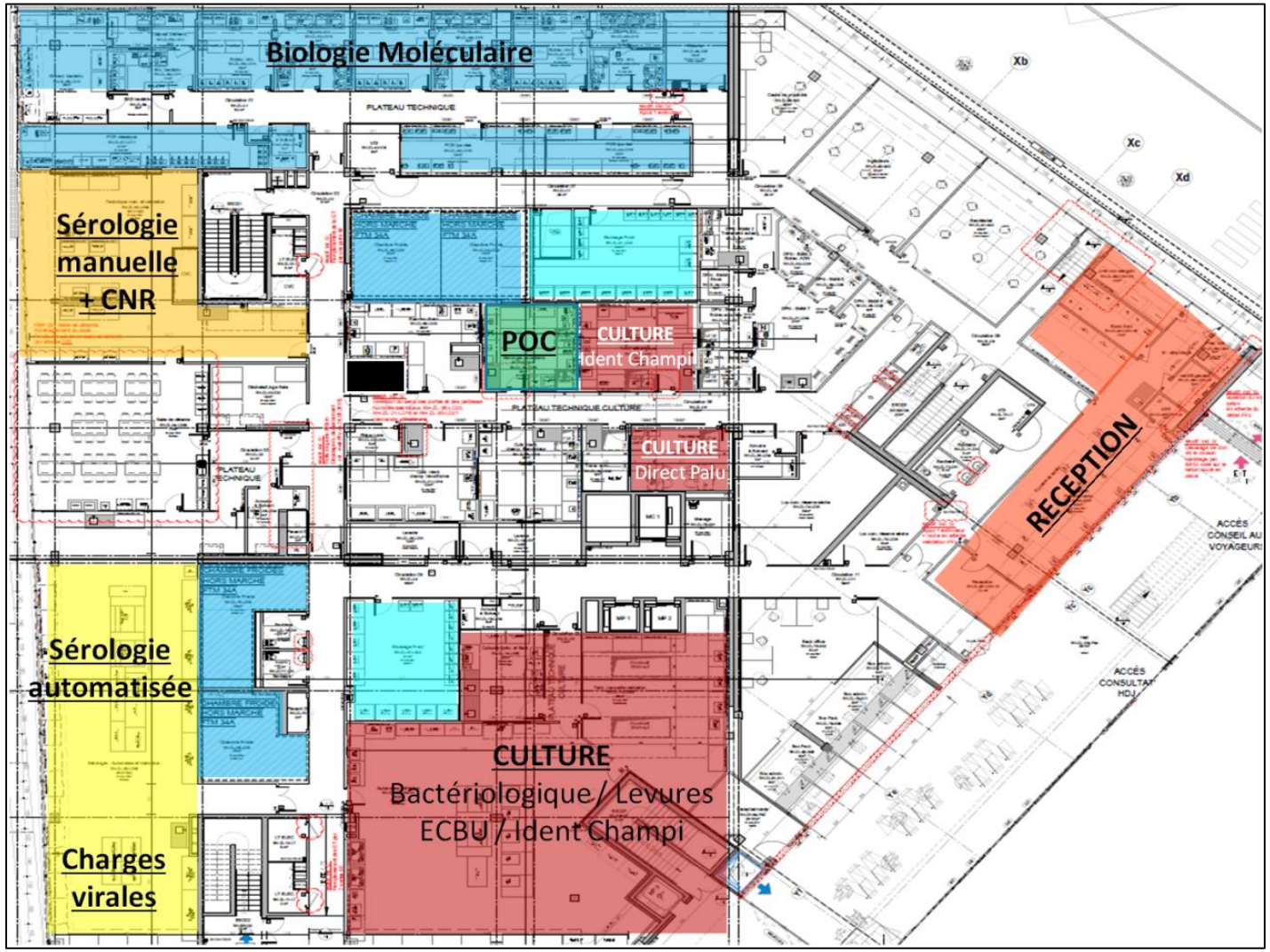




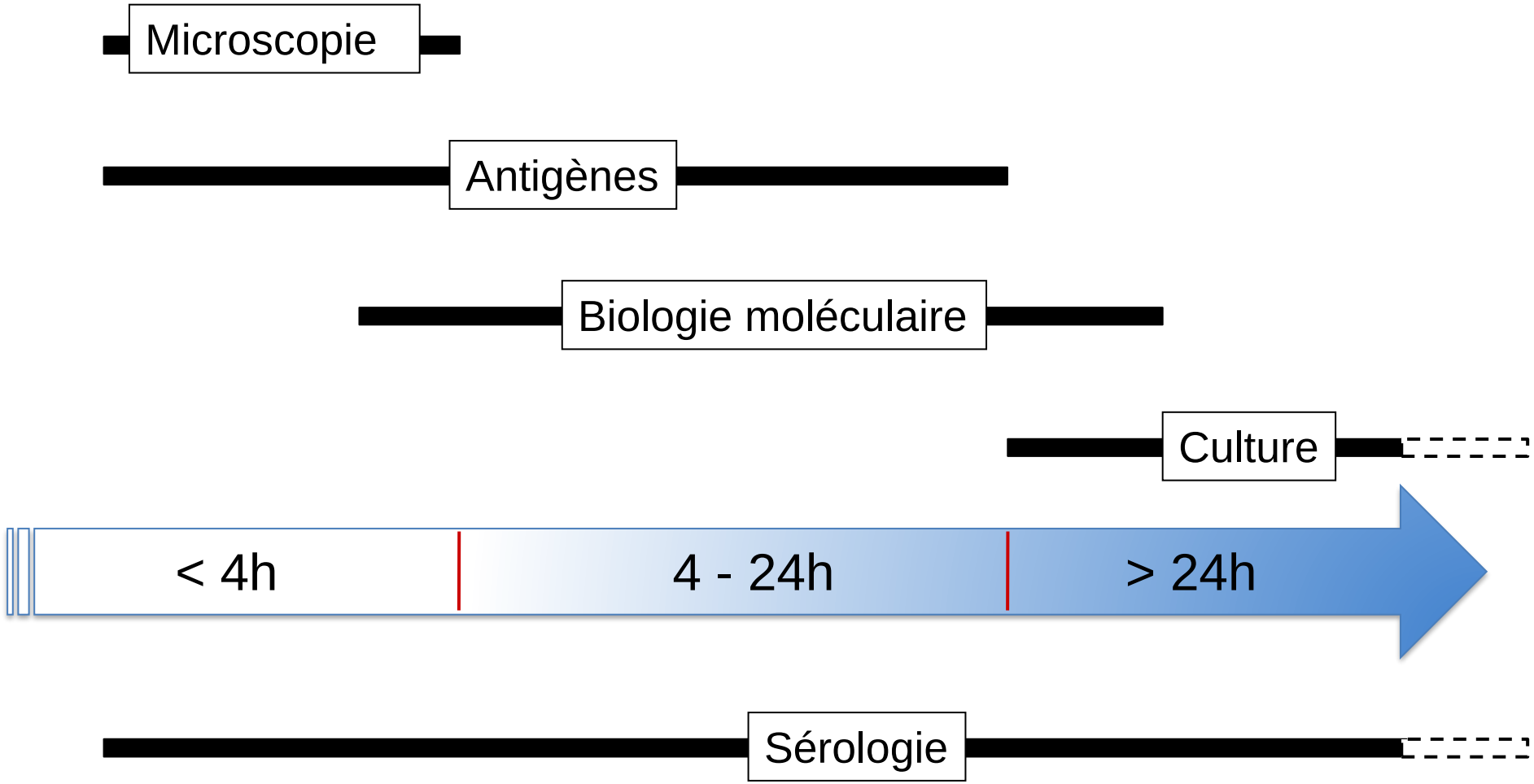




Laboratoire de Microbiologie de l'IHU



Délais de détection d'un pathogène



Phase pré-analytique: importance +++

Catalogue des analyses de biologie médicale

1. **Type de prélèvement**

Support du prélèvement adapté à la technique utilisée au labo

2. **Conditions de prélèvement**

Asepsie (hémoculture, PL), décontamination (urines)…

3. **Conditions de conservation** (T° ambiante, + 4° C…)

4. **Transport et délais de transport**

Fragilité de certains pathogènes+++

CIBLER LE PATHOGENE



Exemple de catalogue d'analyses

Retour

FICHE EXAMEN

Examen CytoBactériologique des Urines (ECBU) - Culture

Révisé le 07/04/2025 16:01:44

EXAMEN | ANALYTIQUE | POST ANALYTIQUE | PRÉ ANALYTIQUE | FACTURATION | INTERLOCUTEURS

EXAMEN — 1. Description de l'examen

Examen	Examen CytoBactériologique des Urines (ECBU) - Culture
Synonymes	Urines
Contexte	Urinaires
Urgence	Non
Laboratoire exécutant	CULTURE MICROBIENNE
Spécialité	BACTÉRIOLOGIE
Réalisation des Analyses	24h/24, 7J/7
Examen complémentaire	antigène urinaire Legionella

ANALYTIQUE — 3. Techniques réalisées par le laboratoire

Méthode	Culture Cytologie Identification par spectrométrie de masse Antibiogramme

POST ANALYTIQUE — 4. Délais de rendu

Délais rendu du résultat	Bactériologie : 24h à 5J Mycobacteries : 24h à 45j

PRÉ ANALYTIQUE — 2. Conditions de réalisation du prélèvement

Nature du prélèvement	Urines
Support de prélèvement	x1 Tube boraté pour urines
Récipient dérogatoire	x1 Flacon stérile pour recueil d'urines
Volume minimal	Si boraté adulte : 6ml MINIMUM si boraté pédiatrique : 3ml MINIMUM Si pot stérile : 1ml min
Précision nécessaire	préciser : - mictionnelles - sur sondes urinaire - néphrostomie - greffe Préciser si demande de mycologie Préciser si demande de mycobactéries
Conditions de rajout d'examens	Si quantité suffisante et 10 jours après validation du dossier. Au-delà, merci de contcater un biologiste.
Transport	Si boraté : dans les plus brefs délais à température ambiante (ne pas excéder 24h) Si pot stérile : - <4h => température ambiante - >4h => 4°C (ne pas excéder 24h)
Réception	24h/24, 7J/7
Bon de demande	Bon de Culture
Manuel de Prélèvement	Manuel de prélèvement Fiche Technique Recherche de Mycobactéries

BONNES PRATIQUES ECBU ET URINES

Voir protocoles du CLIN (réf : PRC-000002, PRC-000429) à consulter sur le logiciel institutionnel NORMEA ou sur le site intranet (http://polqua/CLIN/ puis protocoles de soins)

ECBU



Les urines destinées au laboratoire de Culture doivent être impérativement transférées dans un dispositif contenant de l'acide borique qui stabilise les micro-organismes type Vacutainer® ou Monovette®

Cas général habituel	Après désinfection hygiénique des mains par friction et toilette soigneuse de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme au savon liquide, puis rinçage, puis désinfection avec du Dakin ou de la Bétadine dermique : * Eliminer le 1er jet (20 ml) d'urines pour ne recueillir dans un flacon stérile que les 20-30 ml suivants au minimum en prenant soin de ne pas toucher l'intérieur du récipient. * Fermer hermétiquement le flacon, (si recherche bactériologique transférer dans le **tube boraté**), l'identifier très précisément et le porter immédiatement au laboratoire accompagné de sa prescription et de l'heure de prélèvement.
Patient sondé à demeure	Après clampage ¼ d'heure avant le prélèvement, désinfecter avec des compresses stériles imbibées d'antiseptique dermique alcoolique le site de prélèvement, percuter avec un trocart vissé sur un corps de pompe à usage unique directement la chambre de prélèvement puis introduire le tube à fond dans le corps de pompe et attendre le remplissage complet du tube avant de le retirer (si recherche bactériologique transférer dans **le tube boraté**). Dès le retrait du tube, homogénéiser par 8-10 retournements. Jeter l'ensemble du corps de pompe et aiguille non désadaptée dans le conteneur à piquants tranchants. Déclamper la sonde. Retirer les gants et faire une friction hygiénique des mains avec une solution hydro-alcoolique.
Le nourrisson	Utiliser un collecteur stérile spécifique. Ce dispositif à usage unique adapté à l'anatomie se pose après désinfection soigneuse et ne peut être laissé en place plus d'une heure. Passé ce délai, si l'enfant n'a pas uriné, le dispositif est éliminé et remplacé par un collecteur neuf. Dès la miction terminée le collecteur est enlevé et les urines sont transvasées soigneusement dans un flacon stérile (si recherche bactériologique transférer dans **le tube boraté**) puis acheminées rapidement vers le laboratoire. L'urine peut également être saisie «à la volée» au moment du change.
Urétérostomie (sans sonde)	Après nettoyage soigneux de la stomie on met en place un collecteur stérile et l'on procède comme pour le nourrisson.

LBM du Pôle Infectiologie APHM

Détaille les bonnes pratiques de réalisation des prélèvements



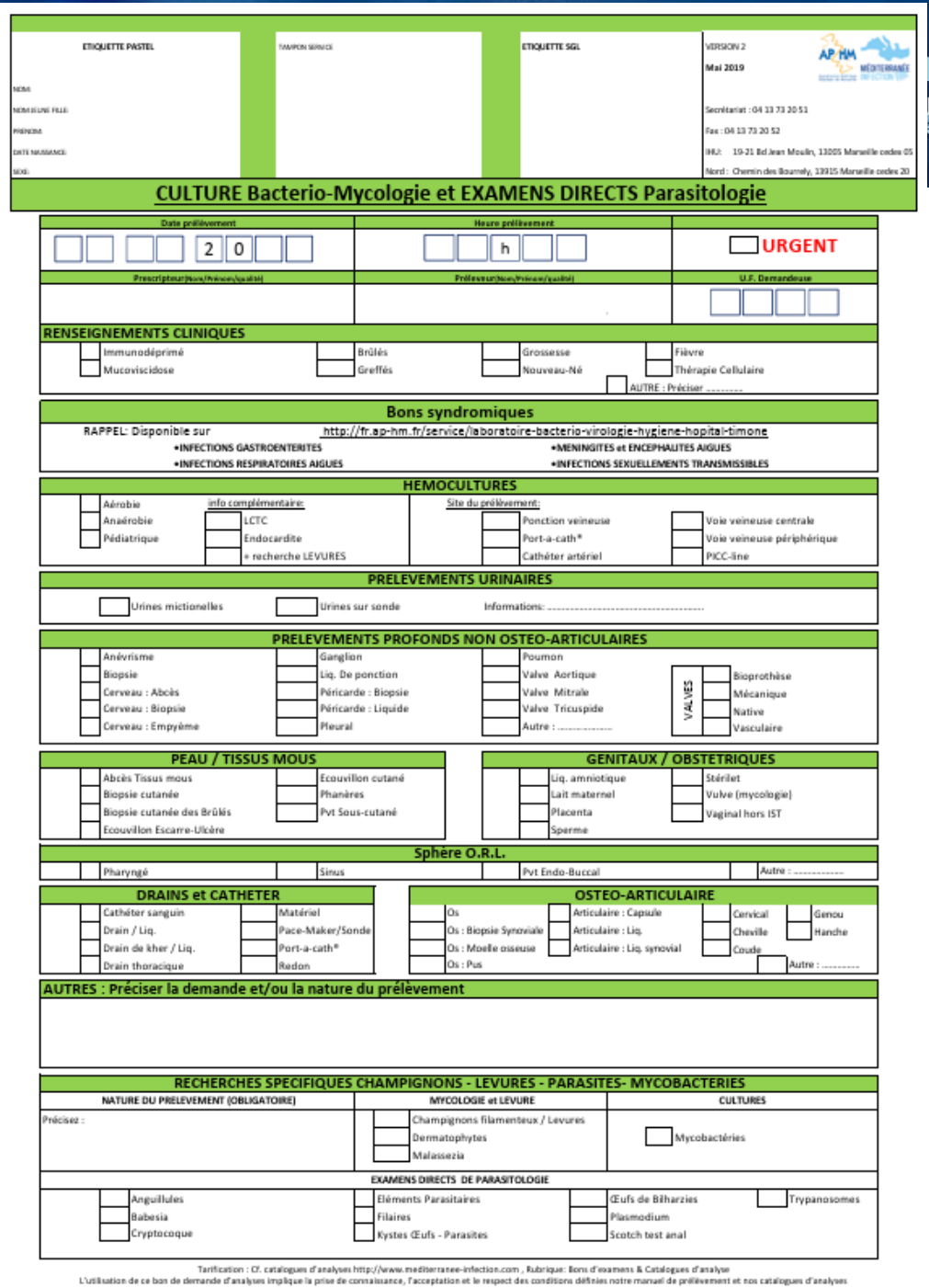
Le bon d'examen

- La demande d'examen doit être **formulée explicitement** selon la nomenclature des actes de biologie médicale sur une feuille de prescription dit « **bon de demande** » du laboratoire

- Associé à un **consentement éclairé** du patient : **VIH** +++

<u>Sur la prescription doivent être précisés :</u>

- Le but de l'examen :
  - diagnostic étiologique d'une infection
  - suivi sous traitement
  - contrôle après traitement
  - **recherche de micro-organismes particuliers**



ETIQUETTE PASTEL | TAMPON SERVICE | ETIQUETTE SGL | VERSION 2 Mai 2019

Secrétariat : 04 13 73 20 51
Fax : 04 13 73 20 52
IHU : 19-21 Bd Jean Moulin, 13005 Marseille cedex 05
Nord : Chemin des Bourrely, 13915 Marseille cedex 20

CULTURE Bacterio-Mycologie et EXAMENS DIRECTS Parasitologie

Date prélèvement: 2 0 | Heure prélèvement: h | URGENT

Prescripteur(Nom/Prénom/qualité) | Préleveur(Nom/Prénom/qualité) | U.F. Demandeuse

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

Immunodéprimé; Mucoviscidose; Brûlés; Greffés; Grossesse; Nouveau-Né; Fièvre; Thérapie Cellulaire; AUTRE : Préciser

Bons syndromiques

RAPPEL: Disponible sur http://fr.ap-hm.fr/service/laboratoire-bacterio-virologie-hygiene-hopital-timone

•INFECTIONS GASTROENTERITES •MENINGITES et ENCEPHALITES AIGUES
•INFECTIONS RESPIRATOIRES AIGUES •INFECTIONS SEXUELLEMENTS TRANSMISSIBLES

HEMOCULTURES

Aérobie; Anaérobie; Pédiatrique
info complémentaire: LCTC; Endocardite; + recherche LEVURES
Site du prélèvement: Ponction veineuse; Port-a-cath®; Cathéter artériel; Voie veineuse centrale; Voie veineuse périphérique; PICC-line

PRELEVEMENTS URINAIRES

Urines mictionelles; Urines sur sonde; Informations:

PRELEVEMENTS PROFONDS NON OSTEO-ARTICULAIRES

Anévrisme; Biopsie; Cerveau : Abcès; Cerveau : Biopsie; Cerveau : Empyème
Ganglion; Liq. De ponction; Péricarde : Biopsie; Péricarde : Liquide; Pleural
Poumon; Valve Aortique; Valve Mitrale; Valve Tricuspide; Autre :
VALVES: Bioprothèse; Mécanique; Native; Vasculaire

PEAU / TISSUS MOUS

Abcès Tissus mous; Biopsie cutanée; Biopsie cutanée des Brûlés; Ecouvillon Escarre-Ulcère
Ecouvillon cutané; Phanères; Pvt Sous-cutané

GENITAUX / OBSTETRIQUES

Liq. amniotique; Lait maternel; Placenta; Sperme
Stérilet; Vulve (mycologie); Vaginal hors IST

Sphère O.R.L.

Pharyngé; Sinus; Pvt Endo-Buccal; Autre :

DRAINS et CATHETER

Cathéter sanguin; Drain / Liq.; Drain de kher / Liq.; Drain thoracique
Matériel; Pace-Maker/Sonde; Port-a-cath®; Redon

OSTEO-ARTICULAIRE

Os; Os : Biopsie Synoviale; Os : Moelle osseuse; Os : Pus
Articulaire : Capsule; Articulaire : Liq.; Articulaire : Liq. synovial
Cervical; Cheville; Coude; Genou; Hanche; Autre :

AUTRES : Préciser la demande et/ou la nature du prélèvement

RECHERCHES SPECIFIQUES CHAMPIGNONS - LEVURES - PARASITES- MYCOBACTERIES

NATURE DU PRELEVEMENT (OBLIGATOIRE) | MYCOLOGIE et LEVURE | CULTURES

Précisez :
Champignons filamenteux / Levures; Dermatophytes; Malassezia
Mycobactéries

EXAMENS DIRECTS DE PARASITOLOGIE

Anguillules; Babesia; Cryptocoque
Eléments Parasitaires; Filaires; Kystes Œufs - Parasites
Œufs de Bilharzies; Plasmodium; Scotch test anal
Trypanosomes

Tarification : Cf. catalogues d'analyses http://www.mediterranee-infection.com , Rubrique: Bons d'examens & Catalogues d'analyse
L'utilisation de ce bon de demande d'analyses implique la prise de connaissance, l'acceptation et le respect des conditions définies notre manuel de prélèvement et nos catalogues d'analyses

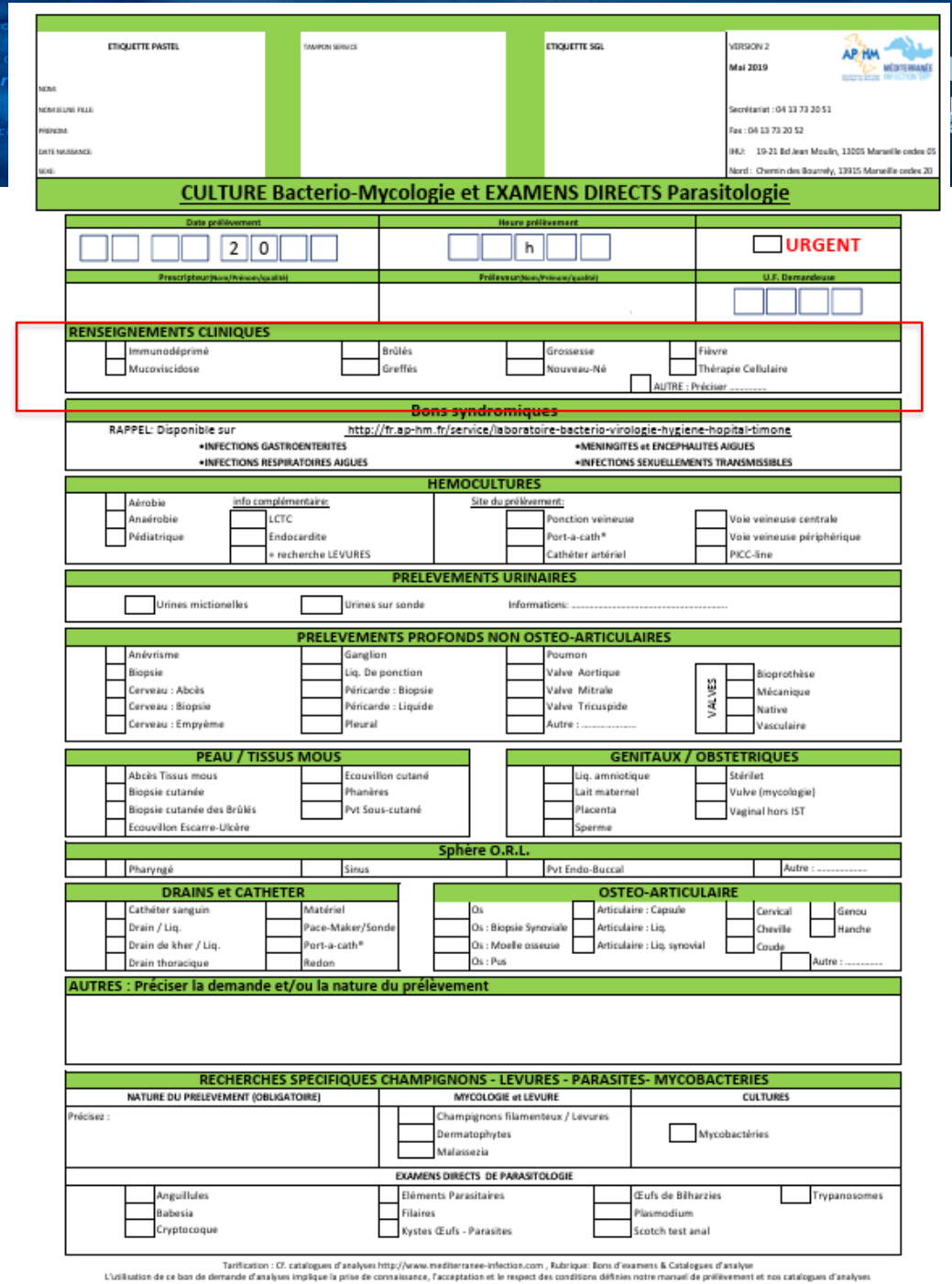
Le bon d'examen

Sur la prescription doivent être précisés :

- **Le contexte clinique :**
  - Nature des manifestations pathologiques
  - **Site des lésions infectieuses**
  - Date d'apparition
  - Existence d'affections associées
  - Immunodépression
  - Retour de **séjour en zone d'endémie**

    Ex: tuberculose, brucellose, paludisme…
  - **Traitements** qui peuvent interférer : anticoagulant, antibiotique, antiviral…

Sérologie toxoplasmose chez la femme enceinte : statut sérologique récent et **date des dernières règles**



ETIQUETTE PASTEL — TAMPON SERVICE — ETIQUETTE SGL — VERSION 2 Mai 2019

Secrétariat : 04 13 73 20 51
Fax : 04 13 73 20 52
IHU : 19-21 Bd Jean Moulin, 13005 Marseille cedex 05
Nord : Chemin des Bourrely, 13915 Marseille cedex 20

CULTURE Bacterio-Mycologie et EXAMENS DIRECTS Parasitologie

Date prélèvement: 2 0 — Heure prélèvement: h — ☐ URGENT

Prescripteur(Nom/Prénom/qualité) — Préleveur(Nom/Prénom/qualité) — U.F. Demandeuse

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

☐ Immunodéprimé ☐ Mucoviscidose ☐ Brûlés ☐ Greffés ☐ Grossesse ☐ Nouveau-Né ☐ Fièvre ☐ Thérapie Cellulaire ☐ AUTRE : Préciser ……

Bons syndromiques

RAPPEL: Disponible sur http://fr.ap-hm.fr/service/laboratoire-bacterio-virologie-hygiene-hopital-timone

•INFECTIONS GASTROENTERITES •MENINGITES et ENCEPHALITES AIGUES
•INFECTIONS RESPIRATOIRES AIGUES •INFECTIONS SEXUELLEMENTS TRANSMISSIBLES

HEMOCULTURES

☐ Aérobie ☐ Anaérobie ☐ Pédiatrique

info complémentaire: ☐ LCTC ☐ Endocardite ☐ + recherche LEVURES

Site du prélèvement: ☐ Ponction veineuse ☐ Port-a-cath® ☐ Cathéter artériel ☐ Voie veineuse centrale ☐ Voie veineuse périphérique ☐ PICC-line

PRELEVEMENTS URINAIRES

☐ Urines mictionelles ☐ Urines sur sonde Informations: ……

PRELEVEMENTS PROFONDS NON OSTEO-ARTICULAIRES

☐ Anévrisme ☐ Biopsie ☐ Cerveau : Abcès ☐ Cerveau : Biopsie ☐ Cerveau : Empyème
☐ Ganglion ☐ Liq. De ponction ☐ Péricarde : Biopsie ☐ Péricarde : Liquide ☐ Pleural
☐ Poumon ☐ Valve Aortique ☐ Valve Mitrale ☐ Valve Tricuspide ☐ Autre : ……
VALVES: ☐ Bioprothèse ☐ Mécanique ☐ Native ☐ Vasculaire

PEAU / TISSUS MOUS

☐ Abcès Tissus mous ☐ Biopsie cutanée ☐ Biopsie cutanée des Brûlés ☐ Ecouvillon Escarre-Ulcère
☐ Ecouvillon cutané ☐ Phanères ☐ Pvt Sous-cutané

GENITAUX / OBSTETRIQUES

☐ Liq. amniotique ☐ Lait maternel ☐ Placenta ☐ Sperme
☐ Stérilet ☐ Vulve (mycologie) ☐ Vaginal hors IST

Sphère O.R.L.

☐ Pharyngé ☐ Sinus ☐ Pvt Endo-Buccal ☐ Autre : ……

DRAINS et CATHETER

☐ Cathéter sanguin ☐ Drain / Liq. ☐ Drain de kher / Liq. ☐ Drain thoracique
☐ Matériel ☐ Pace-Maker/Sonde ☐ Port-a-cath® ☐ Redon

OSTEO-ARTICULAIRE

☐ Os ☐ Os : Biopsie Synoviale ☐ Os : Moelle osseuse ☐ Os : Pus
☐ Articulaire : Capsule ☐ Articulaire : Liq. ☐ Articulaire : Liq. synovial
☐ Cervical ☐ Cheville ☐ Coude ☐ Genou ☐ Hanche ☐ Autre : ……

AUTRES : Préciser la demande et/ou la nature du prélèvement

RECHERCHES SPECIFIQUES CHAMPIGNONS - LEVURES - PARASITES- MYCOBACTERIES

NATURE DU PRELEVEMENT (OBLIGATOIRE) — Précisez :

MYCOLOGIE et LEVURE: ☐ Champignons filamenteux / Levures ☐ Dermatophytes ☐ Malassezia

CULTURES: ☐ Mycobactéries

EXAMENS DIRECTS DE PARASITOLOGIE

☐ Anguillules ☐ Babesia ☐ Cryptocoque
☐ Eléments Parasitaires ☐ Filaires ☐ Kystes Œufs - Parasites
☐ Œufs de Bilharzies ☐ Plasmodium ☐ Scotch test anal
☐ Trypanosomes

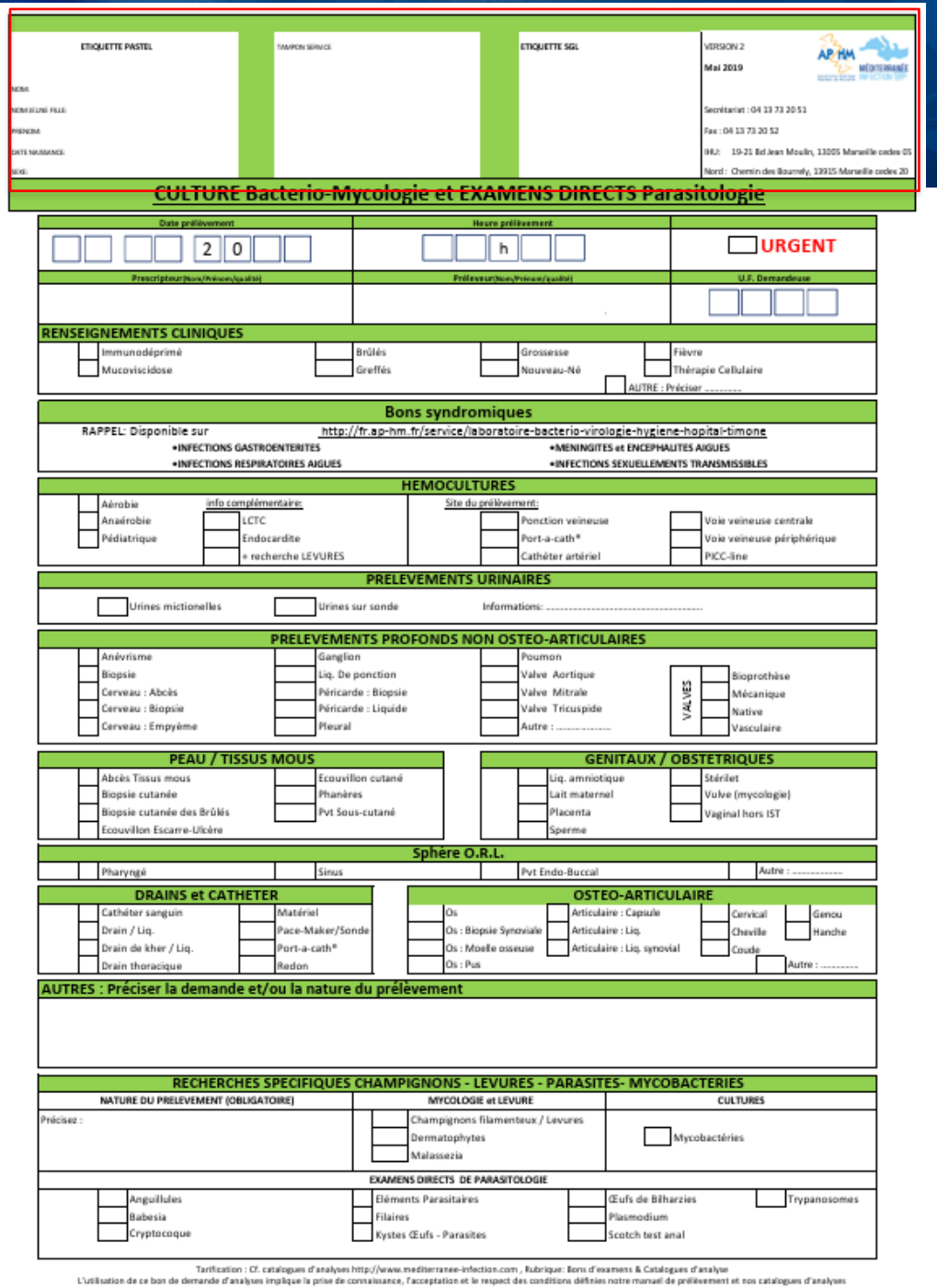
Tarification : Cf. catalogues d'analyses http://www.mediterranee-infection.com , Rubrique: Bons d'examens & Catalogues d'analyse
L'utilisation de ce bon de demande d'analyses implique la prise de connaissance, l'acceptation et le respect des conditions définies notre manuel de prélèvement et nos catalogues d'analyses

Le bon d'examen

- Sur la prescription doivent être précisé :

- **L'identité complète du patient (étiquette patient) :**
  - Nom de naissance, prénom, nom marital (femme mariée)
  - **Date de naissance**
  - Sexe
  - Numéro d'entrée d'hospitalisation (si hospitalisé)

Sérologie toxoplasmose chez la femme enceinte : statut sérologique récent et **date des dernières règles**



ETIQUETTE PASTEL

TAMPON SERVICE

ETIQUETTE SGL

VERSION 2
Mai 2019

AP-HM MEDITERRANEE INFECTION

Secrétariat : 04 13 73 20 51
Fax : 04 13 73 20 52
INU : 19-21 Bd Jean Moulin, 13005 Marseille cedex 05
Nord : Chemin des Bourrely, 13915 Marseille cedex 20

CULTURE Bacterio-Mycologie et EXAMENS DIRECTS Parasitologie

Date prélèvement: 2 0 | Heure prélèvement: h | ☐ URGENT

Prescripteur(Nom/Prénom/qualité) | Préleveur(Nom/Prénom/qualité) | U.F. Demandeuse

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

☐ Immunodéprimé ☐ Mucoviscidose ☐ Brûlés ☐ Greffés ☐ Grossesse ☐ Nouveau-Né ☐ Fièvre ☐ Thérapie Cellulaire ☐ AUTRE : Préciser .....

Bons syndromiques

RAPPEL: Disponible sur http://fr.ap-hm.fr/service/laboratoire-bacterio-virologie-hygiene-hopital-timone

•INFECTIONS GASTROENTERITES •MENINGITES et ENCEPHALITES AIGUES
•INFECTIONS RESPIRATOIRES AIGUES •INFECTIONS SEXUELLEMENTS TRANSMISSIBLES

HEMOCULTURES

☐ Aérobie ☐ Anaérobie ☐ Pédiatrique

info complémentaire: ☐ LCTC ☐ Endocardite ☐ + recherche LEVURES

Site du prélèvement: ☐ Ponction veineuse ☐ Port-a-cath® ☐ Cathéter artériel ☐ Voie veineuse centrale ☐ Voie veineuse périphérique ☐ PICC-line

PRELEVEMENTS URINAIRES

☐ Urines mictionelles ☐ Urines sur sonde Informations: .....

PRELEVEMENTS PROFONDS NON OSTEO-ARTICULAIRES

☐ Anévrisme ☐ Biopsie ☐ Cerveau : Abcès ☐ Cerveau : Biopsie ☐ Cerveau : Empyème
☐ Ganglion ☐ Liq. De ponction ☐ Péricarde : Biopsie ☐ Péricarde : Liquide ☐ Pleural
☐ Poumon ☐ Valve Aortique ☐ Valve Mitrale ☐ Valve Tricuspide ☐ Autre : .....
VALVES: ☐ Bioprothèse ☐ Mécanique ☐ Native ☐ Vasculaire

PEAU / TISSUS MOUS

☐ Abcès Tissus mous ☐ Biopsie cutanée ☐ Biopsie cutanée des Brûlés ☐ Ecouvillon Escarre-Ulcère
☐ Ecouvillon cutané ☐ Phanères ☐ Pvt Sous-cutané

GENITAUX / OBSTETRIQUES

☐ Liq. amniotique ☐ Lait maternel ☐ Placenta ☐ Sperme
☐ Stérilet ☐ Vulve (mycologie) ☐ Vaginal hors IST

Sphère O.R.L.

☐ Pharyngé ☐ Sinus ☐ Pvt Endo-Buccal ☐ Autre : .....

DRAINS et CATHETER

☐ Cathéter sanguin ☐ Drain / Liq. ☐ Drain de Kher / Liq. ☐ Drain thoracique
☐ Matériel ☐ Pace-Maker/Sonde ☐ Port-a-cath® ☐ Redon

OSTEO-ARTICULAIRE

☐ Os ☐ Os : Biopsie Synoviale ☐ Os : Moelle osseuse ☐ Os : Pus
☐ Articulaire : Capsule ☐ Articulaire : Liq. ☐ Articulaire : Liq. synovial
☐ Cervical ☐ Cheville ☐ Coude ☐ Genou ☐ Hanche ☐ Autre : .....

AUTRES : Préciser la demande et/ou la nature du prélèvement

RECHERCHES SPECIFIQUES CHAMPIGNONS - LEVURES - PARASITES- MYCOBACTERIES

NATURE DU PRELEVEMENT (OBLIGATOIRE) | MYCOLOGIE et LEVURE | CULTURES

Précisez :

☐ Champignons filamenteux / Levures ☐ Dermatophytes ☐ Malassezia

☐ Mycobactéries

EXAMENS DIRECTS DE PARASITOLOGIE

☐ Anguillules ☐ Babesia ☐ Cryptocoque
☐ Eléments Parasitaires ☐ Filaires ☐ Kystes Œufs - Parasites
☐ Œufs de Bilharzies ☐ Plasmodium ☐ Scotch test anal
☐ Trypanosomes

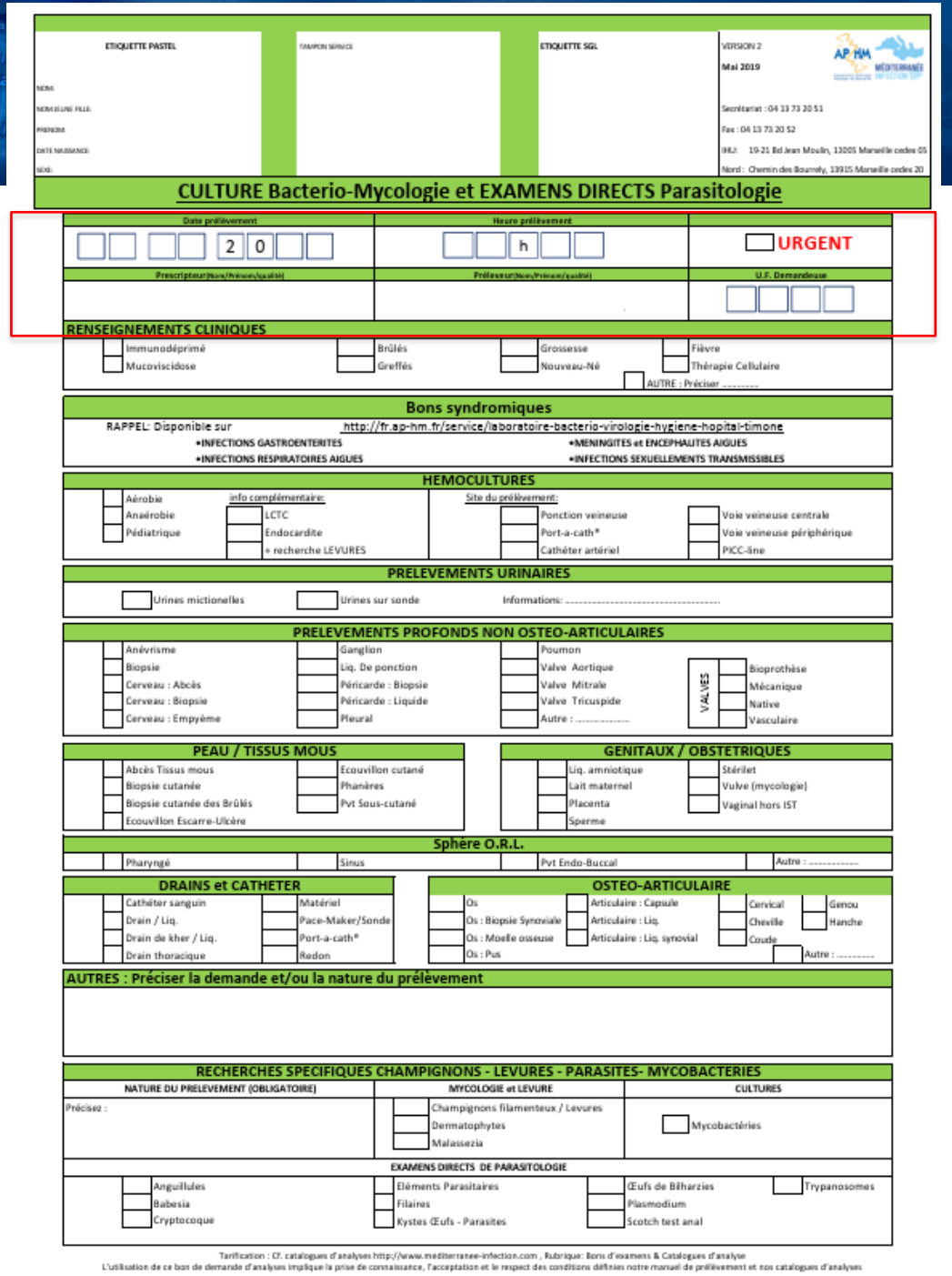
Tarification : Cf. catalogues d'analyses http://www.mediterranee-infection.com , Rubrique: Bons d'examens & Catalogues d'analyse
L'utilisation de ce bon de demande d'analyses implique la prise de connaissance, l'acceptation et le respect des conditions définies notre manuel de prélèvement et nos catalogues d'analyses

Le bon d'examen

- Sur la prescription doivent être précisé :

- L'identité du service demandeur
- L'identité du médecin prescripteur et du prélèveur
- La date et l'heure du prélèvement
- La nature des prélèvements envoyés
- La nature des examens demandés
- Le degré d'urgence

En cas d'urgence, il est préférable de contacter également directement le biologiste



ETIQUETTE PASTEL | TAMPON SERVICE | ETIQUETTE SGL | VERSION 2 Mai 2019 | AP-HM

Secrétariat : 04 13 73 20 51
Fax : 04 13 73 20 52
IHU : 19-21 Bd Jean Moulin, 13005 Marseille cedex 05
Nord : Chemin des Bourrely, 13915 Marseille cedex 20

CULTURE Bacterio-Mycologie et EXAMENS DIRECTS Parasitologie

Date prélèvement : 20 | Heure prélèvement : h | ☐ URGENT

Prescripteur (Nom/Prénom/qualité) | Préleveur (Nom/Prénom/qualité) | U.F. Demandeuse

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

☐ Immunodéprimé ☐ Mucoviscidose ☐ Brûlés ☐ Greffés ☐ Grossesse ☐ Nouveau-Né ☐ Fièvre ☐ Thérapie Cellulaire ☐ AUTRE : Préciser .....

Bons syndromiques

RAPPEL: Disponible sur http://fr.ap-hm.fr/service/laboratoire-bacterio-virologie-hygiene-hopital-timone

•INFECTIONS GASTROENTERITES •MENINGITES et ENCEPHALITES AIGUES
•INFECTIONS RESPIRATOIRES AIGUES •INFECTIONS SEXUELLEMENTS TRANSMISSIBLES

HEMOCULTURES

☐ Aérobie ☐ Anaérobie ☐ Pédiatrique

info complémentaire: ☐ LCTC ☐ Endocardite ☐ + recherche LEVURES

Site du prélèvement: ☐ Ponction veineuse ☐ Port-a-cath® ☐ Cathéter artériel ☐ Voie veineuse centrale ☐ Voie veineuse périphérique ☐ PICC-line

PRELEVEMENTS URINAIRES

☐ Urines mictionelles ☐ Urines sur sonde Informations: .....

PRELEVEMENTS PROFONDS NON OSTEO-ARTICULAIRES

☐ Anévrisme ☐ Biopsie ☐ Cerveau : Abcès ☐ Cerveau : Biopsie ☐ Cerveau : Empyème
☐ Ganglion ☐ Liq. De ponction ☐ Péricarde : Biopsie ☐ Péricarde : Liquide ☐ Pleural
☐ Poumon ☐ Valve Aortique ☐ Valve Mitrale ☐ Valve Tricuspide ☐ Autre : .....
VALVES: ☐ Bioprothèse ☐ Mécanique ☐ Native ☐ Vasculaire

PEAU / TISSUS MOUS

☐ Abcès Tissus mous ☐ Biopsie cutanée ☐ Biopsie cutanée des Brûlés ☐ Ecouvillon Escarre-Ulcère
☐ Ecouvillon cutané ☐ Phanères ☐ Pvt Sous-cutané

GENITAUX / OBSTETRIQUES

☐ Liq. amniotique ☐ Lait maternel ☐ Placenta ☐ Sperme
☐ Stérilet ☐ Vulve (mycologie) ☐ Vaginal hors IST

Sphère O.R.L.

☐ Pharyngé ☐ Sinus ☐ Pvt Endo-Buccal ☐ Autre : .....

DRAINS et CATHETER

☐ Cathéter sanguin ☐ Drain / Liq. ☐ Drain de kher / Liq. ☐ Drain thoracique
☐ Matériel ☐ Pace-Maker/Sonde ☐ Port-a-cath® ☐ Redon

OSTEO-ARTICULAIRE

☐ Os ☐ Os : Biopsie Synoviale ☐ Os : Moelle osseuse ☐ Os : Pus
☐ Articulaire : Capsule ☐ Articulaire : Liq. ☐ Articulaire : Liq. synovial
☐ Cervical ☐ Cheville ☐ Coude ☐ Genou ☐ Hanche ☐ Autre : .....

AUTRES : Préciser la demande et/ou la nature du prélèvement

RECHERCHES SPECIFIQUES CHAMPIGNONS - LEVURES - PARASITES- MYCOBACTERIES

NATURE DU PRELEVEMENT (OBLIGATOIRE)	MYCOLOGIE et LEVURE	CULTURES
Précisez :	☐ Champignons filamenteux / Levures ☐ Dermatophytes ☐ Malassezia	☐ Mycobactéries

EXAMENS DIRECTS DE PARASITOLOGIE

☐ Anguillules ☐ Babesia ☐ Cryptocoque
☐ Eléments Parasitaires ☐ Filaires ☐ Kystes Œufs - Parasites
☐ Œufs de Bilharzies ☐ Plasmodium ☐ Scotch test anal
☐ Trypanosomes

Tarification : Cf. catalogues d'analyses http://www.mediterranee-infection.com , Rubrique: Bons d'examens & Catalogues d'analyse
L'utilisation de ce bon de demande d'analyses implique la prise de connaissance, l'acceptation et le respect des conditions définies notre manuel de prélèvement et nos catalogues d'analyses

Bonne pratique de réalisation des prélèvements

Etiquetage de l'échantillon biologique



- **AU MOMENT** du prélèvement, de façon à éviter toute erreur sur l'identité de la personne

- L'étiquette doit comporter le **nom, prénom, la date de naissance** du patient, ainsi que la date, l'heure, la nature et le site du prélèvement.

Bonne identification du patient :

- **AVANT le prélèvement** : demander à la personne de s'identifier ou en cas d'impossibilité, vérifier son identité

- **APRES le prélèvement** : s'assurer que les données du patient sur les échantillons sont **STRICTEMENT identiques** à celles de la demande d'examen

Modalités de prélèvement

Tout produit pathologique doit être considéré comme potentiellement infectieux

Respect des précautions standards valables pour tous les prélèvements :

- Règles de soins et d'hygiène (port de gants, blouses +/- masque ou lunettes de protection)
- Avant et après tout prélèvement : **ANTISEPSIE DES MAINS** :
  - Après lavage des mains à l'eau savonneuse et séchage
  - À l'aide d'une solution hydroalcoolique
- Réalisé avec du **matériel stérile et à usage unique**.



Modalités de prélèvement

- A l'aide d'un **recipien**t adapté
- Rempli à un **volume suffisant**
- La fermeture des récipients doit être **hermétique**
- Le récipient doit être transporté dans un **sac en plastique étanche** et **fermé hermétiquement**, comportant un compartiment pour les papiers et la prescription



Tube boraté



Tube citraté

Dans le respect de la réglementation en vigueur

⚠ Substances adjuvantes



Transport des prélèvements

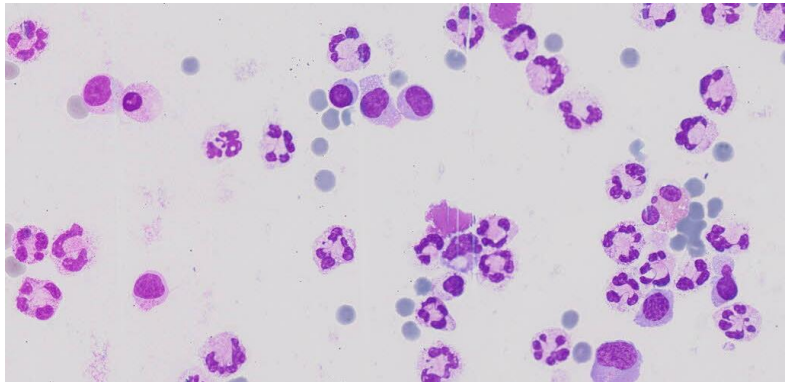
A température ambiante

Délai de 12h pour les coprocultures

Délai de 24h pour les autres prélèvements destinés à la culture, la sérologie ou à la biologie moléculaire

Exceptions :

- Frigo (+ 4° C) : Examen virologique Cytomegalovirus (antigénémie et culture)
- Demande de cytologie (durée de vie des cellules courte)



Non conformité des prélèvements

Bloquante, imposant un nouveau prélèvement :

- Absence d'identité sur le prélèvement
- Identité illisible ou incomplète
- Discordance entre l'identité de l'échantillon et la feuille de prescription
- Tube vide
- Echantillon inapproprié aux analyses prescrites
- Échantillon reçu dans un recipient endommagé et non étanche



Non Bloquante, imposant une régularisation de la demande :

- Absence de nature d'examen
- Echantillon sans bon de demande
- Absence de nom de service …

Toute non-conformité constatée à la réception du prélèvement est tracée et impose une information au service

La démarche du patient au laboratoire

- Diagnostic d'une bactériémie/fongémie

- Diagnostic d'une méningite +/- encéphalite

- Diagnostic d'une infection urinaire

- Diagnostic d'une infection gastro-intestinale

- Diagnostic d'une infection respiratoire

Diagnostic d'une bactériémie/fongémie

- **Bactériémie/Fongémie**

  ➔ dissémination sanguine de bactéries/champignons dans le sang
  (le sang est normalement stérile)



⇨ Bactériémie = état grave et redouté

- Dans le bilan infectieux hospitalier en cas de **fièvre (pics+++)**/hypothermie, frissons… associé aux prélèvements périphériques

- **Diagnostic ⇨ hémoculture**
  - prélèvements fréquemment prescrits en milieu hospitalier

Règles de bonne pratique d'hémocultures

Objectif: Réaliser un prélèvement de qualité



Quand prélever?

Le **plus tôt** possible après l'apparition des signes cliniques

Avant toute antibiothérapie

Dans le cas contraire, une fenêtre thérapeutique de 48 à 72 heures est recommandée

Au **pic fébrile**

Rq: Dans certaines circonstances (sujet agé, ID, tmt par corticoides,…) la fièvre peut ne pas être présente en cas de septicémies

Diagnostic d'une bactériémie/fongémie

Prescription médicale écrite et datée et signée

↓

Bon de demande d'examen complété
Noter en plus la température du patient au moment du prélèvement
Faire 2 ou 3 fois le prélèvement de 1 flacon aérobie et 1 flacon anaérobie à intervalle minimal de ½ h par 24h.
1 seul prélèvement sur un flacon spécial pour les hémocultures fongiques

↓

Faire une désinfection hygiénique des mains par friction

↓

Préparer le matériel de façon antiseptique ,
Désinfecter les septums des flacons avec des compresses stériles imbibées d'antiseptique dermique alcoolique

↓

Faire une désinfection hygiénique des mains par friction

↓

Faire la préparation cutanée du patient :
détersion, rinçage, séchage, antisepsie avec des antiseptiques iodé ou à base de chlorhexidine
Poser le garrot

Eviter les contaminants

- Flore bactérienne de la peau: SCN, corynébactéries,…)
- Bactéries environnementales

Faire une désinfection hygiénique des mains par friction

Ponctionner la veine

Prélever le flacon aérobie puis le flacon anaérobie.

Respecter la limite de remplissage.

Prélever 10ml de sang dans chaque flacon pour un adulte

Jusqu'à 4 ml pour un enfant (en fonction de l'âge)

Etiqueter et numéroter les flacons et renseigner le bon

Envoyer les hémocultures au laboratoire le plus rapidement possible

A température ambiante



Flacon aérobie, adulte / Flacon mycologie (vert)

Flacon anaérobie, adulte (orange)

Flacon pédiatrique (jaune)

Ponction veineuse = seule méthode fiable pour prélever du sang en vue de la culture.



Remplissage des flacons aérobie verts et oranges (adulte)



Remplir **chaque flacon jusqu'au repère noté sur l'étiquette**

Le repère visuel n'est pas présent sur les flacons pédiatriques

Faire une désinfection hygiénique des mains par friction

Ponctionner la veine

Prélever le flacon aérobie puis le flacon anaérobie.

Respecter la limite de remplissage.

Prélever 10ml de sang dans chaque flacon pour un adulte

Jusqu'à 4 ml pour un enfant (en fonction de l'âge)

Etiqueter et numéroter les flacons et renseigner le bon

Envoyer les hémocultures au laboratoire le plus rapidement possible

A température ambiante

3 ou même 2 paires d'hémocultures par 24 heures sont suffisantes

1 flacon aérobie + 1 anaérobie

30 à 60 minutes entre deux prélèvements de sang



Ponction veineuse = seule méthode fiable pour prélever du sang en vue de la culture.

Remplissage des flacons aérobie verts et oranges (adulte)





Remplir **chaque flacon jusqu'au repère noté sur l'étiquette**

Le repère visuel n'est pas présent sur les flacons pédiatriques

Faire une désinfection hygiénique des mains par friction

Ponctionner la veine

Prélever le flacon aérobie puis le flacon anaérobie.

Respecter la limite de remplissage.

Prélever 10ml de sang dans chaque flacon pour un adulte

Jusqu'à 4 ml pour un enfant (en fonction de l'âge)

Etiqueter et numéroter les flacons et renseigner le bon

Envoyer les hémocultures au laboratoire le plus rapidement possible

A température ambiante

3 ou même 2 paires d'hémocultures par 24 heures sont suffisantes

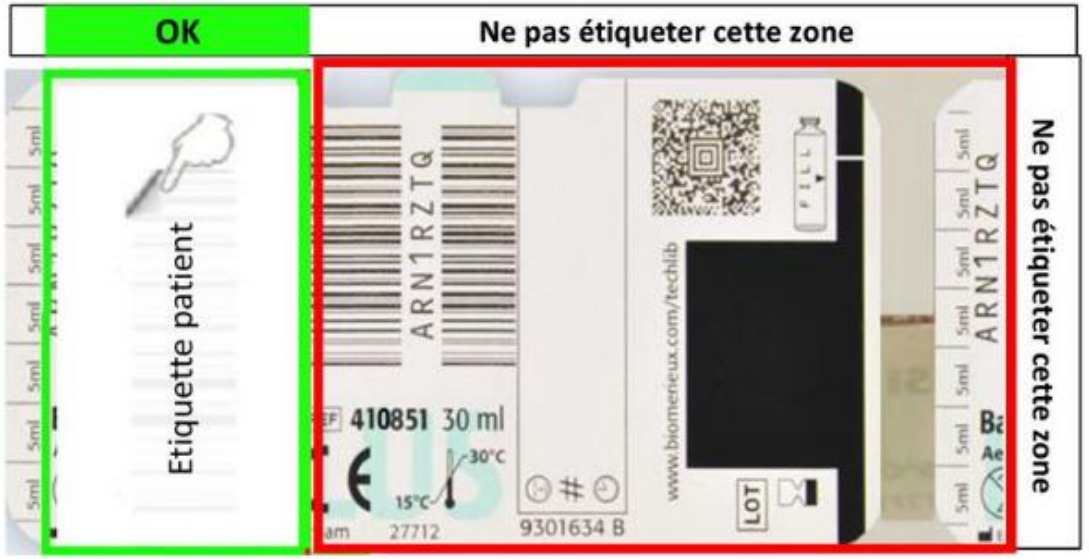
1 flacon aérobie + 1 anaérobie

30 à 60 minutes entre deux prélèvements de sang



Ponction veineuse = seule méthode fiable pour prélever du sang en vue de la culture.

- **Etiquetage des flacons : 1 seule zone autorisée**



Si le positionnement de l'étiquette n'est pas correct, la mesure du volume ne peut pas être réalisée par l'automate

Faire une désinfection hygiénique des mains par friction

Ponctionner la veine

Prélever le flacon aérobie puis le flacon anaérobie.

Respecter la limite de remplissage.

Prélever 10ml de sang dans chaque flacon pour un adulte

Jusqu'à 4 ml pour un enfant (en fonction de l'âge)

Etiqueter et numéroter les flacons et renseigner le bon

Envoyer les hémocultures au laboratoire le plus rapidement possible

A température ambiante

Respecter le volume de remplissage :

- Flacon trop rempli:
  - ➢ risque de faux positif, traitement à tort des patients
- Flacon pas assez rempli:
  - ➢ Risque de faux négatif, perte de chance de survie pour le patient



Ponction veineuse = seule méthode fiable pour prélever du sang en vue de la culture.



Ne pas écrire sur le fond du flacon

Ne pas masquer le fond du flacon

Composition des flacons d'hémoculture







Milieu de culture (bouillon):

Tous les milieux sont supplémentés en nutriments et facteurs de croissances

Polyanéthol sulfonate de sodium (SPS):

Anticoagulant très généralement utilisé dans les bouillons pour hémoculture à une concentration de 0,025 à 0,05 %.

Neutralisation des antibiotiques:

Des résines adsorbeuses de cations ou le charbon activé ont un certain effet neutralisant des antibiotiques

.

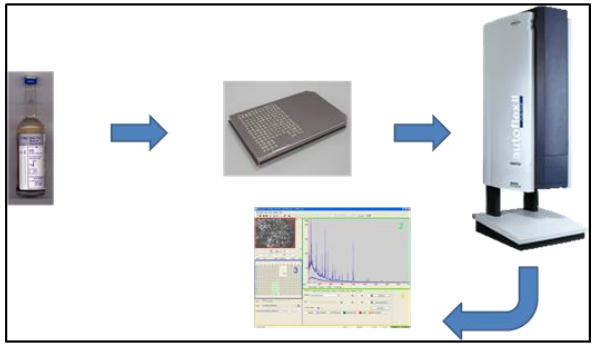
Systèmes automatisés

Détection croissance bactérienne par mise en évidence de produits métaboliques générés par la (CO2, PH)

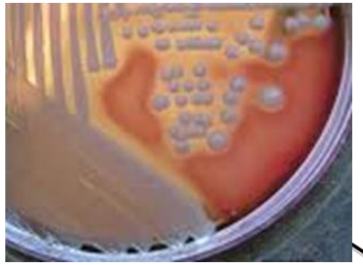


Alarme automate

Examen microscopique
Coloration de Gram
Ou
MALDI-TOF



Culture
Tri toutes les 4h



Identification

Antibiogramme
24h de plus



La démarche du patient au laboratoire

- Diagnostic d’une bactériémie/fongémie

- **Diagnostic d’une méningite +/- encéphalite**

- Diagnostic d’une infection urinaire

- Diagnostic d’une infection gastro-intestinale

- Diagnostic d’une infection respiratoire

Diagnostic d'une méningite +/- encéphalite

Etiologies très diverses, infectieuses et non infectieuses



Variété importante d'examens sur LCR



Préparer tubes et bons d'examens à l'avance
… car geste compliqué à refaire!!!

Ponction lombaire

- **Avant la ponction :**
  - Préparer le matériel nécessaire à l'asepsie, à la ponction et au prélèvement
  - Préparer du patient : information, installation en position assise au bord du lit, dos nu, jambes pendantes, en arrondissant le dos, ou en décubitus dorsal, anesthésier la zone (crème)…
  - Vérifier la concordance des étiquettes et l'identité du patient
- **Pendant la ponction :**
  - Prélever une quantité suffisante (**min 10 gouttes/ tubes, 20 gouttes ++)**
  - **3 tubes (biochimie, bactériologie, cytologie)**
  - **Demande spécifique : mycologie (cryptocoque), mycobactérie -> tube supplémentaire**

Asepsie rigoureuse ++
Hygiène des mains
Port de gants à usage unique stériles

- **Après la ponction :**
  - Etiqueter les flacons
  - Acheminer rapidement les flacons au laboratoire
  - Noter la date, heure, quantité de LCR prélevé et aspect, réactions anormales du patient
  - Surveiller le patient

Examen du LCR

Examen cyto-bactériologique

- Leucocytes, formule leucocytaire
- Hématies
- Microscopie
- **PCR multiplex +++** (ATB préalables, culture longue, typage)
- Culture (antibiogramme, souche pour comparaison)

Virologie

PCR+++

Cytologie « fine »

Cellules d'aspect cancéreux?

Mycologie

Cryptococcose+++

Immunologie

Dosage d'immunoglobulines…

Biochimie

- Glycorachie
- Protéinorachie

Sérologie

(syphilis, Lyme…)

Pour la cytologie, les délais sont critiques+++

La démarche du patient au laboratoire

- Diagnostic d’une bactériémie/fongémie

- Diagnostic d’une méningite +/- encéphalite

- **Diagnostic d’une infection urinaire**

- Diagnostic d’une infection gastro-intestinale

- Diagnostic d’une infection respiratoire

Examen cytobactériologique des urines (ECBU)

Prélèvement et acheminement:

- Désinfection hygiénique des mains par friction
- Toilette soigneuse de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme au savon liquide, puis rinçage, puis désinfection avec du Dakin ou de la Bétadine dermique :

- Adulte:

- Élimination de la 1ère partie de la miction (20 ml) pour recueillir le **milieu du jet**
- dans 1 flacon stérile
- Idéalement 3 heures après la dernière miction
- Fermer hermétiquement le flacon
- si recherche bactériologique transférer dans le tube vacutainer),



Tube boraté, quantité minimale requise

Examen cytobactériologique des urines (ECBU)

- **Enfant:**
  - Nettoyage de la zone périnéale puis prélèvement grâce à **1 sac plastique collecteur** au moyen d ’un adhésif
  - Le sac ne doit pas être laissé plus de 30 min- 1h
  - Urines ensuite transvasées dans un flacon stérile (tubes vacutainer si recherche bactériologique)



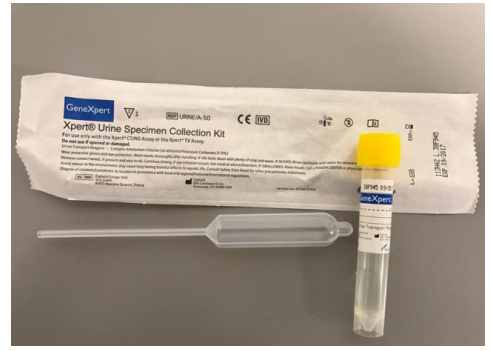
- **Ponction sur sonde**
  - Après clampage ¼ d’heure avant le prélèvement, ponctionner avec une seringue directement la chambre de prélèvement préalablement désinfectée
  - Transvaser dans un flacon stérile



Demandes particulières :

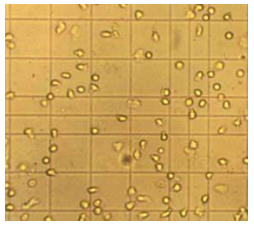
Recherches de mycobactéries: sur la **totalité de la première miction du matin après restriction hydrique**, 3 jours de suite.

Recherche d’IST par biologie moléculaire/culture : **Urines du 1er jet**



Examen cytobactériologique des urines (ECBU)

- Automate: Sysmex
  - GR, GB,
  - cellules épithéliales, cylindres
  - bactéries

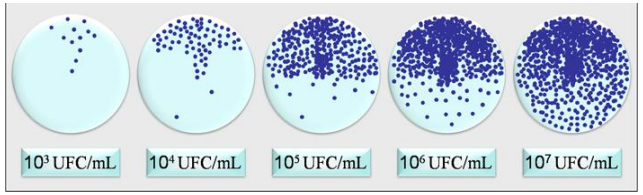




Tube boraté, quantité minimale requise

- Seuil:
  - Leucocytes > 10^4 /ml ou 10/mm3
  - Bactéries > 10^5 UFC/ml

- Culture sur gélose + quantification nombre de bactérie



- Antibiogramme

La démarche du patient au laboratoire

- Diagnostic d’une bactériémie/fongémie

- Diagnostic d’une méningite +/- encéphalite

- Diagnostic d’une infection urinaire

- **Diagnostic d’une infection gastro-intestinale**

- Diagnostic d’une infection respiratoire

Coproculture

Prélèvements: selles **pathologiques**, écouvillon rectale

Examen macroscopique:

Liquide, pâteuse, glaireuse, hémorragique, …

Echelle de Bristol

Examen microscopique: de plus en plus remplacé par la PCR multiplex

Etat frais: mobilité caractéristique, levures, parasites,…

Cytologie:

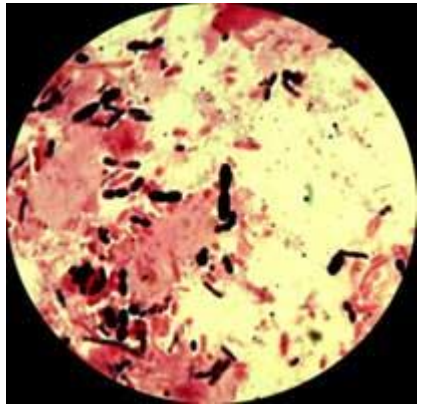
Présence leucocytes→ diarrhée à germes invasifs

Ex: *Salmonelle, shigella, Campylobacter*

Absence de leucocytes→ diarrhée à germes enterotoxinogène

Ex: V*. cholerae, C. difficile*

Gram: flore fécale normale ou déséquilibrée



Coproculture

PCR multiplex : recherche combinée bactéries – virus – parasite



Ensemencement sur géloses sélectives +/- pré-enrichissement :

Salmonella, Shigella

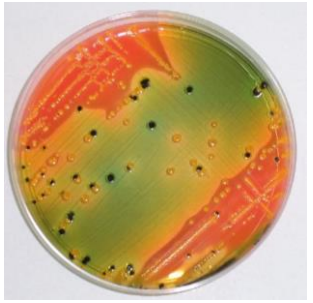
Yersinia enterocolitica

Campylobacter

E. coli enterohémorragique O157:H7

Vibrio cholerae, Vibrio spp.





Identification des colonies puis antibiogramme uniquement sur les bactéries entéro-pathogènes



Recherche de toxine de *Clostridium difficile*

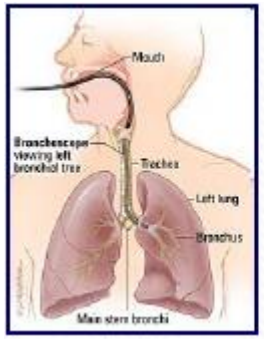
- Antigénique (GDH + toxines)
- PCR (gène toxinogène, typage)

La démarche du patient au laboratoire

- Diagnostic d'une bactériémie/fongémie
- Diagnostic d'une méningite +/- encéphalite
- Diagnostic d'une infection urinaire
- Diagnostic d'une infection gastro-intestinale
- **Diagnostic d'une infection respiratoire**

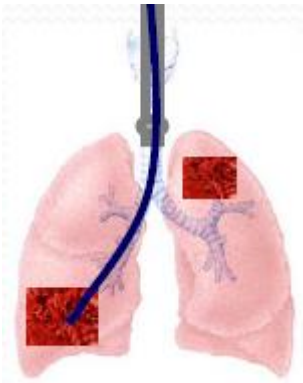
Examen cytobacteriologique des crachats

- Prélèvements pulmonaires
  - **Crachats** (ECBC) : Le matin au réveil, après rinçage bucco-dentaire
    Effort de toux (les crachats salivaires sont à éliminer)
  - **LBA** (Lavage Broncho-Alvéolaire)





  - **PDP** (Prélèvement Distal Protégé)



Examen cytobactériologique des crachats

Examen direct: Gram, cellules épithéliales, GB

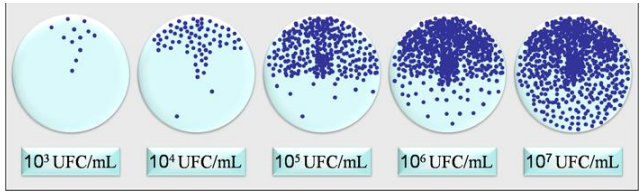
Évalue la qualité du prélèvement (soit l'importance de la contamination du prélèvement par la salive)

Culture sur gélose + Quantification bactérienne des bactéries pathogènes (≠ flore salivaire)

LBA: Bactéries > 10^3 UFC/ml

Aspiration bronchique > 10^5 UFC/ml

Expectoration: Bactéries > 10^7 UFC/ml



Antibiogramme

Antigénurie *Legionella pneumophila* /*S. pneumoniae*



Ecouvillons



Milieu de transport pour la conservation d'un large panel de **virus cliniques**
Contient des antibiotiques



Conservation des **bactéries aérobies, anaérobies et fastidieuses**





Contient un **milieu de transport** pour les bactéries **pathogènes entériques**.

Point of care = Laboratoire pour le diagnostic d'urgence



Définition du College of American Pathologists :

« test au lit du malade » « doctor test » « over the counter»

Examens biologiques prescrits au sein d'une institution médicale mais qui peuvent être réalisés hors de l'enceinte d'un laboratoire

PCR en temps réel et test immunochromatographique, 7/7 jours, 24/24 heures

Méthode **diagnostic rapide et simple** qui révolutionne la pratique du clinicien:

Décisions rapides pour prise en charge du patient

Isolement du patient?

Hospitalisation?

Traitement?

2 laboratoires : laboratoire de bactériologie virologie Timone et Nord Marseille

Post - analytique

- **Communication des résultats :**
  - Urgents : téléphone au prescripteur +/- patient
  - Disponibilité des résultats sur des logiciels de consultation (spécifique ou DPI)
  - Envoi des résultats par messagerie sécurisée
- **Conseils thérapeutiques**
- **Extraction quotidienne, hebdomadaire, mensuelle, annuelle des résultats à visée épidémiologique**
  - CLIN, Base de données locales, nationales
  - Services ciblés (adaptation des protocoles en fonction de l'écologie locale
- **Signalement auprès de l'ARS de cas particuliers**
- **Déclaration obligatoire**
- Ajout d'analyses **complémentaires** en fonction des résultats obtenus
  - Exemple : typage méningocoque si PCR *N. meningitidis* positive sur LCR

Le mot de la fin

Examens biologiques complémentaires

Diversification des tests proposés

Orientation vers des réponses de + en + rapides

Communication service clinique – laboratoire
Meilleure information = meilleures prescriptions

Démarche qualité

- Accréditation par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC) à la norme NF EN ISO 15189
- Objectifs :
  - Assurer la fiabilité des examens de biologie médicale et la qualité de la prestation médicale.
  - Harmoniser les examens de biologie médicale
  - Maitriser les dépenses de biologie
- Obligation légale pour l'ensemble des laboratoires français. Sans accréditation, pas d'autorisation d'exercer.
- Disposent d'un système de management de la qualité et évaluent leur propre compétence.
- Que contient la norme ?
  - Exigences en matière de management : organisation, documentation, habilitation, prestation de conseils, traitement des réclamations…
  - Exigences techniques : locaux, procédures, matériel, pré-analytique, contrôles qualité,gestion des compte-rendus…

MÉDITERRANÉE INFECTION
Infections à Bartonella
Nouvelles maladies infectieuses
Obésité & microbes
Infections & piqûres de tiques
Endocardites
Senegalvirus
Microvirga
Methanomassiliicoccus
Génomique microbienne
Pathogènes émergents
Infections à Rickettsia
Virus géants
Fièvre Q
Maladie de Whipple

Merci pour votre attention

