



## **1/ Objet et domaine d'application**

Cette instruction de travail décrit les modalités de réalisation d'un prélèvement sur une lésion et/ou suppuration cutané ou sous cutané.

## **2/ Références et documents sources**

FE CBP 1012 « Demande de renseignement : prélèvement bactériologique »

FE CBP 1037 « Demande de renseignements : prélèvement cutané ou sous cutané »

IT BACT 1077 « qualification - critères d'acceptation des prélèvements en microbiologie médicale »

PR BACT 1013 « examen bactériologique : plaies, écoulements purulents, infections cutanées et des phanères »

## **3/ Responsabilités**

Le préleveur habilité (au LBM) est responsable de la bonne application de cette instruction de travail.

## **4/ Cas particulier d'une plaie chronique (escarre, ulcère, ...) et du pied diabétique**

2 cas de figures se présentent:

→ Recherche d'une colonisation critique : La colonisation d'une plaie chronique est obligatoire. Selon les stades existent des flores « normales » favorables au processus de cicatrisation. Un prélèvement est à réaliser lors d'un retard de cicatrisation pour définir s'il s'agit d'une colonisation anormale, d'une colonisation critique en quantité avec ou non des germes agressifs et/ou multi résistants (BMR)

→ Recherche d'une infection

- Le prélèvement n'est indiqué que s'il y a des signes d'accompagnement locaux (douleur, inflammation péri-ulcéreuse) ou généraux (adénite, fièvre...)

- 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 sont prélevés qu'en cas d'infection et après débridement.

- Les écouvillonnages des escarres sont à proscrire car ils reflètent la colonisation bactérienne souvent massive.

- **Concernant le 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).

Le débridement est une étape obligatoire car la colonisation superficielle est systématique et souvent sans signification pathologique. Il est chirurgical ou mécanique et il est suivi d'un nettoyage (sérum phy) et d'une désinfection (éliminée par du sérum phy) avant le prélèvement.

Tous les écouvillons sont mis en milieu de transport.

L'écouvillonnage superficiel est la méthode la plus utilisée mais la moins fiable. Un écouvillon est passé sur une surface de 1 cm<sup>2</sup> de plaie dans un mouvement de zigzag combiné à une rotation.

Il est difficile de distinguer les germes colonisants et les germes infectants. Les anaérobies ne sont généralement pas recherchés.

Le curetage - écouvillonnage profond permet de prélever du tissu par grattage de la base de l'ulcère avec une curette ; les produits de curetage sont récupérés par écouvillonnage. La recherche d'anaérobies est possible.

L'aspiration est intéressante pour les infections profondes ou collectées. A travers une zone désinfectée, l'aspiration du pus est directe ou après avoir injecté 1 à 2 ml de sérum phy (aspiration avec une 2<sup>ème</sup> seringue). La seringue est adressée au LBM sans aiguille, purgée d'air, et bouchée stérilement et hermétiquement.

La biopsie tissulaire est à privilégier. 2 à 4 fragments de tissu prélevés à l'aide de « punch biopsy » sont immédiatement placés dans un flacon stérile additionné de quelques gouttes de sérum phy (éviter la dessiccation++).

La biopsie osseuse, en cas d'ostéite, est la méthode référence. Réalisée après une fenêtre thérapeutique de 15 jours minimum, elle est transportée avec un peu de sérum phy pour la culture aérobie et un aliquot est mis dans un milieu de transport pour la culture anaérobie. Un examen histopathologique doit compléter la biologie.

## **5/ Matériel et conditions de prélèvement**

### **♦ Selon la localisation**

- Curettes
- Boîte de Pétri
- Ecouvillon avec et sans milieu de transport
- Sérum physiologique stérile
- Seringue/aiguille fine
- Antiseptique (Bétadine, hibitane,...) à utiliser selon le protocole d'établissement en vigueur
- Vaccinostyle ou scalpel
- Flacon stérile de type ECBU sans additif
- Punch à biopsie



## 6/ Réalisation

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

### 6.1. Prélèvement

#### ♦ Lésions sèches, non suintantes (mycose++, erythrasma,...)

- Si demande bactériologique seule, prélever avec deux écouvillons (dont un avec milieu de transport)
- Si mycologie demandée ou suspectée : cf IT CBP 1029 « Réalisation d'un prélèvement mycologique »

#### ♦ Suppurations ouvertes ou sérosités

- Ecouvillonner en ciblant précisément la zone inflammatoire profonde
- Prélever avec deux écouvillons (dont un avec milieu de transport)
- Obtenir un écouvillon chargé pour le milieu de transport

Cas d'une suppuration autour d'un matériel (cathéter, clous, agrafes, fixateur,...) :

Jamais en systématique, seulement si réaction inflammatoire périphérique associée en procédant comme pour une suppuration ouverte ou sérosité

#### ♦ Suppurations superficielles fermées

- Antisepsie de la zone externe (30 secondes avec BETADINE DERMIQUE ou HIBITANE CHAMP si allergie à l'iode).
- Rompre la barrière cutanée. Recueillir le pus sur l'écouvillon.
- Prélever avec deux écouvillons (dont un avec milieu de transport)
- Obtenir un écouvillon chargé pour le milieu de transport

#### ♦ Suppurations au niveau des drains, fistules, lames

- Ne pas prélever d'écoulement externe qui ait stagné
- Prélèvements d'intérêt limité sauf épidémiologique
- Si nécessaire, transmettre le drain ou les lames dans un flacon stérile de type ECBU sans additifs

#### ♦ Plaie chronique (voir aussi paragraphe 4)

Recherche d'une colonisation critique :

- Prélever de façon standard en roulant un écouvillon, à plat, appuyé fermement 1 fois sur 2 à 3 cm : la surface prélevée est alors de  $\simeq 3 \text{ cm}^2$

Recherche d'une infection :

- Nettoyage de la partie cutanée ou de la partie superficielle
- Rincer à l'eau stérile (ampoule)
- Eliminer les exsudats
- Débrider les tissus nécrosés si nécessaire
- Désinfecter (30 secondes avec BETADINE DERMIQUE ou HIBITANE CHAMP si allergie à l'iode).
- Laisser sécher
- Rincer à l'eau stérile (ampoule)
- Réaliser une biopsie ou cureter le bord actif de la lésion.
- Placer l'échantillon au fond d'un flacon stérile
- Eventuellement, à l'aide de la seringue à aiguille fine, aspirer le liquide inflammatoire
- Eviter l'écouvillonnage
- Préciser la couleur de la plaie
- Si possible fournir des photos

#### ♦ Plaie aigue / morsure

- Désinfecter (30 secondes avec BETADINE DERMIQUE ou HIBITANE CHAMP si allergie à l'iode).
- Laisser sécher
- Rincer à l'eau stérile (ampoule)
- Aspirer à l'aiguille le pus de la lésion
- Eventuellement compléter à 1 ml de sérum phy pour éviter la dessiccation
- Laisser le liquide dans la seringue ou injecter à travers le bouchon (désinfecté par BETADINE DERMIQUE 15 secondes) dans la gélose d'un flacon PORTAGERM
- A défaut, le prélèvement peut être effectué avec deux écouvillons (dont un avec milieu de transport)

Cas de l'infection superficielle du site opératoire : prélever l'écoulement de la cicatrice de préférence par aspiration, l'écouvillonnage doit être évité.



**Cas de la morsure** : inutile de faire un prélèvement dans les 6 premières heures suivant une morsure non infectée cliniquement. Les bactéries susceptibles d'infecter les morsures sont nombreuses et proviennent de l'environnement, de la peau de la victime, mais surtout de la flore salivaire de l'animal mordeur. Les cultures sont toujours polymicrobiennes et des bactéries anaérobies sont présentes dans 30 à 40 % des cas. En conséquence, les germes anaérobies doivent être recherchés.

#### ◆ **Erysipèle, hypodermite**

- Après nettoyage puis désinfection (30 secondes avec BETADINE DERMIQUE ou HIBITANE CHAMP si allergie à l'iode) et séchage.
- A l'aide de la seringue à aiguille fine : injecter dans la lésion un peu de sérum physiologique stérile et ré-aspirer tout ce qui est possible ; éventuellement compléter la seringue à 1 ml de sérum phy pour éviter la dessiccation.
- Laisser le liquide dans la seringue ou injecter à travers le bouchon (désinfecté par BETADINE DERMIQUE 15 secondes) dans la gélose d'un flacon PORTAGERM

NB : Examen peu sensible qui ne permet de documenter que 30 % des lésions

#### ◆ **Gale**

- A la curette, rechercher les vésicules aux sites habituels (poignet, espaces interdigitaux, omphalique, aisselles, mamelon, organes génitaux externes chez l'homme), percer les vésicules puis gratter en profondeur.
- Gratter les lésions évocatrices de sillons et récupérer les squames et croûtes des lésions de grattage.
- Chez le nourrisson, les lésions spécifiques sont volontiers vesiculopustuleuses et siègent avant tout sur les paumes et les plantes.
- Dans les gales communes, les patients sont pauci-parasités, il est nécessaire de réaliser 3 prélèvements sur différents sites (3 lames si possible) pour affirmer la négativité de prélèvement, selon les recommandations du HCSP
- Déposer les produits de grattage sur une lame, les scotcher sur les lames et faire parvenir les lames à l'UT de microbiologie.
- Si la lecture est réalisée sur site périphérique, monter le prélèvement entre lame et lamelle dans une goutte d'eau physiologique selon IT PARA 1017.

#### ◆ **Demodex spp**

- En cas de démodécidose (lésion cutanée) : les squames ou produits de grattage récupérés à la curette ou au vaccinostyle sont déposés sur la lame, scotchés et transmis à l'UT de microbiologie ou déposés dans 1 goutte de sérum physiologique et recouverts d'une lamelle en cas de lecture sur les sites périphériques.
- En cas de blépharite : 5 cils sont prélevés par paupière, à la pince à épiler et déposés sur la lame, scotchés et transmis à l'UT de microbiologie ou déposés dans 1 goutte de sérum physiologique et recouverts d'une lamelle en cas de lecture sur les sites périphériques.
- Si les deux symptomatologies sont associées, les cils +++ et les squames cutanées doivent être prélevés.

#### ◆ **Leishmaniose**

- Dans la leishmaniose cutanée, le prélèvement se fait préférentiellement au niveau de la bordure inflammatoire de la lésion. Il est pratiqué par grattage au vaccinostyle ou à la curette, par aspiration à l'aiguille ou encore par biopsie à l'emporte-pièce (punch).
- Un écouvillonnage appuyé sur écouvillon sec sans milieu de transport est aussi acceptable pour la recherche du parasite par PCR ou coloration.
- Dans le cas d'une biopsie ou aspiration, l'échantillon est placé dans un tube contenant 2 ml de sérum phy.
- Dans le cas de l'écouvillonnage, l'échantillon est apposé sur une lame. Ne pas colorer. L'écouvillon sans milieu de transport est aussi transmis.
- NB : examen transmis et non remboursé (env. 27 euros pour un examen direct par coloration au MGG ou env. 170 euros pour une recherche par PCR)

## 6.2 Transport

Cf manuel de prélèvement en ligne ou IT BACT 1077