



## 1. Objectif

Cette instruction de travail définit les modalités de prélèvement d'une hémoculture à l'aide des flacons BD BACTEC.

## 2. Domaine d'application

Cette instruction de travail s'applique aux prélèvements d'hémocultures.

## 3. Référence et documents liés

PR BACT 1020 « Hémoculture »

FE CBP 1015 « Demande de renseignements : hémoculture »

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

## 4. Responsabilités

Le préleveur habilité est responsable du prélèvement de l'hémoculture, du recueil des renseignements cliniques et de la vérification de la qualité et du remplissage du flacon utilisé.

## 5. Réalisation du prélèvement

### a. généralités

✓ *Méthode de prélèvement :*

-**Prélèvement par ponction veineuse** : seule méthode valable pour prélever le sang en vue d'une culture bactériologique.

NB : La réalisation des hémocultures à partir des cathéters ou des chambres implantables (DIV) doit être évitée car elle augmente significativement la fréquence des contaminants et ne permettent pas de distinguer une **authentique infection d'une colonisation du DIV**— cette technique est utilisée pour faire le diagnostic des infections sur cathéter ou matériel implanté.

-Le prélèvement sera réalisé de préférence lors de la phase de **frisson** ou **ascension thermique**, sans que cela soit indispensable. Le volume de sang total prélevé est le facteur le plus critique.

- **Volume prélevé suffisant** : Le vide à l'intérieur des flacons n'est pas calibré (impossibilité technique liée au milieu liquide dans le flacon) mais il permet l'introduction d'au moins 10 ml de sang. Il faut éviter de trop remplir les flacons avec des volumes > 12 ml.

-Le **flacon aérobic doit être prélevé en premier** pour purger la tubulure et éviter d'inoculer de l'oxygène dans le flacon anaérobic (inhibition des germes anaérobies strict).

- Les flacons doivent être correctement **identifiés** et **l'heure** bien noté.

Remarque : Le risque d'AES est important lors du prélèvement d'une hémoculture. Toutes les recommandations de bonnes pratiques d'un prélèvement sanguin doivent être respectées.



✓ *Stratégies de prélèvement :*

L'intervalle de temps entre les prélèvements n'est pas essentiel. La qualité du diagnostic est équivalente quel que soit l'intervalle entre les prélèvements, y compris lorsque les prélèvements sont réalisés simultanément (intervalle nul). Il existe 2 stratégies de prélèvement :

**1) Prélèvement unique : Stratégie à privilégier sauf endocardite**

Recueil de plusieurs flacons sur un seul prélèvement (une seule ponction veineuse). Cette stratégie permet de diminuer le risque de contaminations (divisée par 2 à 3) et d'hémoculture solitaire (un seul flacon prélevé), le prélèvement est plus confortable pour le patient (une seule ponction) et l'antibiothérapie peut être instaurée plus rapidement.

**Le prélèvement unique est donc préconisée (sauf dans un contexte d'endocardite : non validée). La quantité de sang totale prélevée est l'élément le plus critique** car elle est directement liée à la sensibilité de l'examen et donc à la détection d'une bactériémie (plus important que le moment du prélèvement). Il faut noter que la moitié des patients ont moins 1 UFC de germes/ ml de sang.

**2) Prélèvements multiples : Stratégie à réaliser si contexte d'endocardites+++**

Sur 24h, 3 prélèvements de 2 flacons (6 au total), espacés d'une heure minimum, avant initiation du traitement antibiotique.

A renouveler si hémocultures négatives au bout de 2-3 jours en évoquant la possibilité d'une endocardite à hémoculture négatives (prélever alors en plus des tubes pour culture cellulaire, biologie moléculaire et sérologie pour recherche de *Coxiella burnetti*, *Bartonella spp*, *Tropheryma whipplei*, champignons,...)

✓ *Volume total de sang:*

Chez l'adulte (ou patient de plus de 26kg), le volume total optimal à prélever est de **40 à 60 ml** (soit 4 à 6 flacons correctement remplis à 10ml).

Chez l'enfant, en fonction du poids, le volume total optimal à prélever est de :

- entre 2 et 4kg : 3 à 6 ml en 1 seul flacon
- entre 4 et 8kg : 6 ml en 1 seul flacon
- entre 8 et 14kg : 8 à 10 ml en 1 flacon
- entre 14 et 19kg : 20 à 24 ml en 2 à 4 flacons
- entre 19 et 26kg : 30 ml en 4 à 6 flacons

Tous les flacons et volume totaux prélevés sont systématiquement vérifiés par le secteur microbiologie de LxBIO et peuvent faire l'objet d'une non-conformité.

Si un seul flacon est nécessaire, c'est le seul **flacon aérobic** qui est prélevé.

Si au moins 2 flacons sont nécessaires (>14kg), **les flacons seront prélevés par paire** (flacon aérobic ET un flacon anaérobic), en respectant l'ordre flacon aérobic puis flacon anaérobic.

b. recueil de renseignements cliniques et contexte de la prescription

Le préleveur utilise la **FE CBP 1015 « Demande de renseignements : hémoculture »**, disponible sur le manuel de prélèvement en ligne ou sous forme de fiche distribué aux établissements de soins et à disposition au laboratoire (distribué au moment de la remise du ou des flacons d'hémocultures aux infirmières)



c. matériel et différents protocoles de prélèvements

**Hémocultures standards/Endocardites**

- Compresses stériles et non stériles. Eau stérile (pour une antiseptie en 4 temps)
- Gants
- Antiseptiques : il est recommandé de privilégier l'utilisation d'antiseptiques alcooliques qui présentent une efficacité équivalente ou supérieure pour une durée de contact plus courte
- Flacons à hémoculture : vérifier la date de péremption

**Hémocultures pour suspicion d'infection sur cathéter**

- Même matériel, même procédure

Pour les suspicions d'infections sur cathéter (ou BLC : Bactériémies en Lien avec un Cathéter), il est recommandé de réaliser des hémocultures différentielles, pour cela :

- Réaliser au même moment (<10 minutes), 2 prélèvements dans l'ordre suivant: un par ponction veineuse périphérique et un à partir du dispositif incriminé, sans purger le cathéter.
  - Etiqueter clairement le site de ponction sur chaque flacon (périphérique/kt) !!
- Si il s'agit d'un cathéter multi lumières, privilégier les lignes pour la nutrition ou les transfusions.  
NB: les deux hémocultures doivent contenir le **même volume de sang**, le volume de sang optimal total doit toujours être respecté (40ml si adulte ou > 26kg)

**Hémocultures pour recherches particulières**

- Leptospires, BK, mycoplasmes, *Actinomyces*, champignons filamenteux : recherches non réalisées chez LxBIO : **sous traitance**
- pour la recherche de **champignons de type levure** : les flacons classiques BD BACTEC aérobie et anaérobie fournis par LxBIO présentent des performances analytiques satisfaisantes.

d. Prélèvement

Pour les établissements de soins, le protocole de prélèvement doit être validé par le CLIN.

◆ **Préparation du site de prélèvement**

- Lavage simple des mains
- Sur une veine périphérique, mettre le garrot pour repérer le site de prélèvement
- Glisser une protection sous l'avant bras

◆ **Antiseptie large**

Le but est d'éliminer la flore transitoire, pour cela on peut réaliser :

- > **Une antiseptie en 4 temps** (recommandée par les CCLIN)
  1. Détertion avec la solution détergente de la gamme choisie
  2. Rinçage à l'eau stérile ou sérum physiologique stérile
  3. Séchage par tamponnement
  4. Antiseptie : 1 badigeon de la même gamme que la solution détergente

Ou

- > **Une antiseptie en 2 temps** (Préalable : La peau doit être visuellement propre)
  1. Premier badigeon d'antiseptique en insistant sur l'action mécanique
  2. Respect du temps de séchage spontané
  3. Deuxième badigeon d'antiseptique

Avec **respect des délais d'action des antiseptiques** (issus des RCP des produits)+++:



Produits antiseptiques	Concentration	Délais d'action
<b>Chlorhexidine</b>	2% alcoolique	30 secondes
	0,5% alcoolique	1 minute
	0,2% aqueuse	5 minutes
<b>Chlorhexidine + Ammonium quaternaire + alcool benzylique</b>	0,25%	1 minute
	0,025%	
	4%	
<b>Dérivés chlorés</b>	0,5% de chlore actif	1 minute
	0,06% de chlore actif	
<b>PVP-I</b>	5% alcoolique	1 minute (antiseptie chirurgicale)
	10% aqueuse	1 minute
	5% aqueuse (solution pour irrigation oculaire)	2 minutes

Remarque : Il n'est pas fait mention dans les RCP, d'un délai d'action pour l'éthanol à 60% ou 70%. Pour cet antiseptique, il peut toutefois être proposé un délai d'action d'une minute qui correspond au temps de séchage théorique du produit.

**NB : l'antiseptie en 1 temps est réservée au prélèvement sanguin hors hémoculture**

- ne plus toucher la peau et prélever le patient.

Les études cliniques ont montré une légère supériorité des produits à base de chlorhexidine alcoolique à ceux à base de polyvidone iodée pour l'antiseptie. Néanmoins, le **séchage complet** de l'antiseptique constitue l'étape critique pour une antiseptie de qualité. L'ASM IDSA rappelle que la teinture d'iode, le peroxyde de chlore, et le gluconate de chlorhexidine sont supérieurs à la préparation de polyvidone iodée en raison de leurs temps d'action plus courts.

◆ **Prélèvement des flacons**

- Indiquer par un repère sur le flacon le niveau de remplissage à atteindre (ex: 2 graduations de 5 ml chez l'adulte).
- Désinfection de l'opercule des flacons **avec de l'alcool** (produit à base de polyvidone iodée non recommandé)
- Mettre des gants (pas forcément stériles)
- Eviter tout contact avec le site de prélèvement. Si besoin de palper la veine, à nouveau, désinfecter de nouveau le site de ponction.
- Effectuer la ponction veineuse à l'aide d'une aiguille type épicroténienne.
- Inoculer le ou les flacon(s) fourni(s) par le laboratoire, **surveiller le niveau pour s'assurer de la quantité de sang prélevé** (voir repère sur le coté du flacon), pour cela, poser autant que possible les flacons sur une surface plane pour pouvoir observer le niveau de remplissage au cours du prélèvement.
- Identifier les flacons sur l'emplacement prévu à cet effet sur les flacons (ne pas coller l'étiquette sur les codes à barres des flacons)

**6/ Acheminement du prélèvement au laboratoire**

Le délai de prise en charge des flacons par le LBM (et notamment par le secteur de microbiologie) doit être le plus court possible. Pour les délais et température, voir manuel de prelevement en ligne ou IT BACT 1077.