

	Fiche technique	LABO210-FITEC-0083
	<b>Prélèvement Sanguin avec Hémoculture</b>	Version 1
		Applicable le : 26/06/2015
Approbateur		
Nejla AISSA, Sylvain SALIGNAC		

## 1. OBJET

Cette fiche a pour objet de décrire les différentes étapes de bonnes pratiques pour la réalisation des prélèvements d'hémocultures.

Le prélèvement de sang pour hémoculture doit être de qualité et doit satisfaire à plusieurs exigences :

- **éviter les contaminations du prélèvement** (conditions d'asepsie rigoureuse) et travailler en sécurité pour le préleveur (respect des précautions standards)
- prélever une **quantité suffisante de sang** : la sensibilité de la détection des microorganismes dépend du volume de sang inoculé dans les flacons d'hémocultures.

## 2. DOMAINE D'APPLICATION

- Les prélèvements sanguins pour hémocultures peuvent être effectués par tout professionnel de santé habilité à prélever des hémocultures. Ce sont des actes infirmiers effectués sur prescription médicale.
- Toutes les étapes pré-analytiques, effectuées dans les secteurs de soins, sont sous la responsabilité du biologiste.

## 3. DEFINITIONS

- L'hémoculture permet de faire le diagnostic d'une bactériémie ou d'une fongémie. Elle consiste à mettre en culture du sang circulant, qui est normalement stérile, afin de pouvoir rapidement détecter le micro-organisme, l'isoler, l'identifier, déterminer sa sensibilité aux anti-infectieux et éventuellement adapter le traitement.
- Elle doit être pratiquée sur **prescription médicale** et si possible, **avant tout traitement** anti-infectieux (sinon, une fenêtre thérapeutique de 48 à 72 heures est recommandée).
- Un prélèvement d'hémoculture correspond à l'ensemencement, à partir de la même ponction veineuse chez un malade, d'un ou de plusieurs flacons selon que l'on recherche des bactéries aérobies et/ou anaérobies ou des champignons.

## 4. ABREVIATIONS

- AES : accident d'exposition au sang
- DIV : dispositif intra-vasculaire
- SHA : solution hydro-alcoolique
- UFC : unité formant colonies

## 5. MATERIEL NECESSAIRE

- **Pour le préleveur**
  - o masque de type chirurgical
  - o gants à usage unique (des gants stériles sont à prévoir si risque de retouche du point de ponction après antiseptie, par exemple en présence d'un mauvais capital veineux du patient ou si le préleveur est peu expérimenté)
  - o solution hydro-alcoolique (SHA)
- **Pour la peau du patient**
  - o compresses stériles
  - o savon antiseptique
  - o eau stérile
  - o antiseptiques alcooliques (chez l'enfant  $\leq$  30 mois, n'utiliser que la Biseptine®), cf. tableau ci-dessous

- pansement adhésif (type Micropore)


- **Pour la réalisation de l'hémoculture**

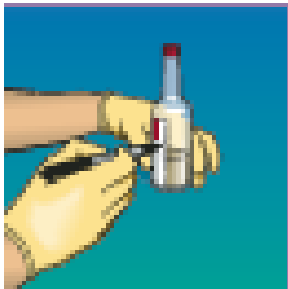
- plateau propre ou chariot de soin propre
- garrot nettoyé et désinfecté
- dispositif de prélèvement sécurisé pour hémoculture
- Bétadine® alcoolique 5% pour désinfecter l'opercule des flacons d'hémoculture
- champ de protection de lit
- collecteur d'aiguilles
- marqueur indélébile (pour tracer des repères sur les flacons)
- flacons d'hémoculture, conservés à l'abri de la lumière, de préférence dans leur emballage d'origine :
  - flacon BD BACTEC™ Plus Aerobic/F (**bouchon bleu, étiquette grise**) pour la recherche des micro-organismes aérobies
  - flacon BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F (**bouchon violet, étiquette violette**) pour la recherche des germes anaérobies
  - flacon BD BACTEC™ PEDS PLUS/F (**bouchon argenté, étiquette rose**) adapté à la pédiatrie (1 à 3 mL de sang)
  - flacon BD BACTEC™ MYCO/F LYTIC (**bouchon rouge, étiquette rouge**) pour la recherche des mycobactéries
  - flacon BD BACTEC™ Mycosis IC /F (**étiquette verte**) pour la recherche des levures. Ce flacon est plus spécialement recommandé pour les patients ayant eu une reprise chirurgicale digestive ou des patients en état grave présentant des colonisations multi-sites à levures ou des patients immunodéprimés à risque d'infection fongique.



Un prélèvement d'hémoculture comprend habituellement 1 à 3 flacons aérobies et 1 à 3 flacons anaérobies ; néanmoins, il existe des cas particuliers : par exemple, chez l'enfant dont le poids est inférieur ou égal à 12,7 kg, on se limitera à un seul flacon (cf. § prélèvement d'hémocultures en néonatalogie et en pédiatrie).

**6. BONNES PRATIQUES DU PRELEVEMENT D'HEMOCULTURES**

<p><b>Préparation du matériel</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vérifier la <b>prescription</b> sur le dossier de soins et préparer le bon d'examen</li> <li>- Respecter les règles d'identitovigilance</li> <li>- Fermer la porte de la chambre</li> <li>- Porter un masque de type chirurgical</li> <li>- Pratiquer une <b>désinfection des mains</b> (du préleveur) <b>par friction avec une SHA</b> (ou à défaut un lavage antiseptique des mains)</li> <li>- Vérifier la limpidité et la date de <b>péremption</b> des flacons</li> </ul>
---	---



- Retirer la capsule des flacons et **désinfecter l'opercule** avec une compresse stérile imbibée de l'antiseptique alcoolique ; **laisser la compresse de désinfection sur le flacon jusqu'au prélèvement**
  
- Faire un **repère** sur le flacon correspondant au volume de prélèvement recommandé :
  - o chez l'enfant :
    - poids  $\leq 1$  kg  $\Rightarrow$  **0,5 à 2 mL** (flacon BD BACTEC™ PEDS PLUS/F)
    - de 1,1 à 2 kg  $\Rightarrow$  **1,5 à 4,5 mL** (flacon BD BACTEC™ PEDS PLUS/F)
    - de 2,1 à 12,7 kg  $\Rightarrow$  **3 à 6 mL** (flacon BD BACTEC™ Plus Aerobic/F ou Lytic/10 Anaerobic/F)
    - de 12,8 à 36,3 kg  $\Rightarrow$  **5 à 7 mL** (flacons BD BACTEC™ Plus Aerobic/F ou Lytic/10 Anaerobic/F)
    - $> 36$  kg  $\Rightarrow$  idem adulte
  - o chez l'adulte  $\Rightarrow$  **8 à 10 mL** (flacon BD BACTEC™ Plus Aerobic/F ou Lytic/10 Anaerobic/F)
  - o pour le flacon BD BACTEC™ MYCO/F LYTIC  $\Rightarrow$  **5 mL**
  - o pour le flacon BD BACTEC™ Mycosis IC /F  $\Rightarrow$  **8 à 10 mL**
  
- Disposer une protection sous le bras du patient

### Désinfection et antiseptie du site de ponction



- Se frictionner les mains avec une **SHA**

#### **Cas général = ponction veineuse :**

Sauf indication contraire lors de la prescription médicale, les hémocultures doivent être prélevées par **ponction veineuse** (seule méthode validée pour prélever le sang en vue d'une culture microbienne) ; en effet, le recueil de sang à travers un dispositif intravasculaire, augmente de façon significative la fréquence des contaminants.

- Choisir le **site de ponction**
  - o préférer l'avant-bras (ou à défaut, le dos de la main)
  - o contre-indication : côté d'un curage ganglionnaire, fistule artériovoineuse, bras hémiparétique, présence sur le bras d'une lésion cutanée ...
  - o poser le garrot légèrement serré, au moins à 10 cm du pli du coude (pour éviter que le garrot touche le lieu de ponction lors de son retrait)
  - o palper délicatement les veines en profondeur à la recherche de la meilleure veine (meilleur gonflement)
  
- Réaliser une antiseptie cutanée large du site de ponction choisi :
  - o de haut en bas ou en escargot et sans repasser sur la zone déjà traitée
  
  - o en 4 temps : déterSION, rinçAGE, séchAGE puis utilisation de l'**antiseptique recommandé** en respectant le temps de contact préconisé pour le produit

- le choix de l'antiseptique et certaines étapes dépendent de l'âge :

	Age > 30 mois	Age ≤ 30 mois
Détersion	Bétadine®scrub ou Hibiscrub®* ou Biseptine®	Biseptine®
Rinçage	eau stérile	/
Séchage	compresses stériles	compresses stériles
Désinfection avec un antiseptique dermique	Bétadine® alcoolique ou Chlorhexidine® alcoolique* ou Biseptine®	Biseptine®
séchage complet		
*pour la détersion et la désinfection, utiliser les produits mentionnés de la même couleur		



**Après cette étape, ne plus palper la zone de ponction !**

**Cas particulier : prélèvement à travers un cathéter ou tout autre matériel intravasculaire ou implantable**

- en cas de diagnostic d'infection liée à un dispositif intravasculaire, selon les procédures en vigueur (cf. manuel prélèvement LABO210-FITEC-0003)

**Réalisation de la ponction d'hémoculture**



- Réaliser une désinfection des mains avec une SHA



- Enfiler **des gants à usage unique** (ou gants stériles si risque de retouche du point de ponction)

**Cas général chez l'adulte** (hors endocardite et infection liée à un DIV) = **prélèvement UNIQUE** : 4 à 6 flacons en 1 seul geste (2 à 3 flacons aérobies et 2 à 3 flacons anaérobies) un jour donné (dans certaines situations cliniques, après un geste invasif, suites chirurgicales, après lavage broncho-alvéolaire... et sur prescription médicale, le prélèvement peut être renouvelé).

- Réaliser la **ponction veineuse** avec une unité de prélèvement
- Dès l'apparition de sang dans la tubulure, adapter le flacon d'hémoculture en piquant au centre et en enfonçant profondément le dispositif
- Remplir le flacon avec **8 à 10 mL de sang par flacon** (afin d'obtenir un **volume optimal total de 40-60 mL**)




**Une quantité trop faible ou trop importante de sang fausse le résultat**

- Vérifier le volume de recueil et arrêter le prélèvement lorsque la marque de remplissage maximum (que vous avez tracée sur le

flacon) est atteinte. Pour surveiller correctement le volume de remplissage le flacon doit être maintenu en position verticale lors du prélèvement



-  Prélever **4 à 6 flacons** par patient, en **un seul prélèvement**
  - prélever le flacon **aérobie** en **1<sup>er</sup>** (afin de purger la tubulure), puis le flacon **anaérobie** en **2<sup>ème</sup>**. Pour les flacons suivants, l'ordre importe peu, l'essentiel est que les flacons anaérobies n'aient pas d'air !
  - numéroter les flacons dans l'ordre de prélèvement
- Si pour une raison ou une autre, un ou plusieurs flacons ne sont pas bien remplis, il est possible de rajouter un ou 2 flacons **supplémentaires** (aérobie et éventuellement anaérobie) afin d'obtenir un volume total de **40 à 60 mL**.
- **Agiter** les flacons par retournement

#### Cas particuliers :

1. **Diagnostic des infections microbiennes liées à un DIV** (cathéter, chambre implantable) : **méthode des « hémocultures appariées » (matériel en place) :**
  - réaliser une antiseptie avec un antiseptique alcoolique des sites de ponction
  - réaliser "au même moment" ( $\leq 10$  mn) deux prélèvements de sang : un par ponction veineuse périphérique et un à partir du DIV (**sans purge préalable**) ; pour ce faire :
    - **prélever d'abord** par ponction veineuse périphérique : **4 à 6 flacons** en **un seul prélèvement** ; le flacon **aérobie** en **1<sup>er</sup>** (afin de purger la tubulure), puis le flacon **anaérobie** en **2<sup>ème</sup>**. Pour les flacons suivants, l'ordre importe peu, l'essentiel est que les flacons anaérobies n'aient pas d'air ! ; numéroter les flacons dans l'ordre de prélèvement et vérifier le volume prélevé par flacon
    - **puis** prélever via le dispositif : **2 flacons (1 aérobie et 1 anaérobie)** ; le volume de sang prélevé par flacon sur le dispositif doit être identique à celui prélevé par flacon en périphérie (par exemple : si en périphérie, un volume de 8 à 10 mL a été prélevé par flacon, le volume de sang à prélever à travers le dispositif devra être de 8 à 10 mL par flacon)
  - les flacons doivent être correctement identifiés (heure et mode de prélèvement) et envoyés en même temps au laboratoire de Bactériologie afin de déterminer les délais de positivité des flacons.

## 2. Diagnostic bactériologique d'une endocardite

Prélever **3 hémocultures** (flacon aérobie et anaérobie) obtenues par **3 ponctions veineuses**, échelonnées **sur 24 heures** espacées **d'une heure minimum** avant toute prise antibiotique. En cas de suspicion d'endocardite fongique, prélever en plus 1 flacon Mycosis. En l'absence de positivité, il convient de répéter les hémocultures 2 à 3 jours plus tard.

## 3. Prélèvements d'hémocultures en néonatalogie et en pédiatrie

- chez l'enfant, la densité des bactéries dans le sang est plus importante (1000 UFC/mL) que chez l'adulte (1 UFC/mL) ; cela permet de limiter la quantité de sang à quelques millilitres chez le nouveau-né
- la concentration bactérienne diminuant avec l'âge, le volume de sang à prélever est à adapter en fonction du poids de l'enfant :
  - poids  $\leq$  1 kg  $\Rightarrow$  **0,5 à 2 mL** dans 1 flacon BD BACTEC™ PEDS PLUS/F
  - de 1,1 à 2 kg  $\Rightarrow$  **1,5 à 4,5 mL** dans 1 flacon BD BACTEC™ PEDS PLUS/F
  - de 2,1 à 12,7 kg  $\Rightarrow$  **3 à 6 mL** dans 1 flacon BD BACTEC™ Plus Aerobic/F ou Lytic/10 Anaerobic/F
  - de 12,8 à 36,3 kg  $\Rightarrow$  **5 à 7 mL** dans 2 flacons BD BACTEC™ Plus Aerobic/F et 2 flacons BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F
  - > 36,3 kg  $\Rightarrow$  idem adulte

## 4. Diagnostic des infections fongiques disséminées

- prélever **8 à 10 mL** de sang en 1 seul prélèvement dans un flacon BD BACTEC™ Mycosis IC /F

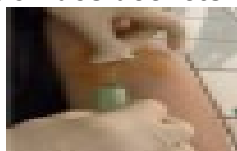
## 5. Diagnostic des infections disséminées à mycobactéries

Prélever 10 mL de sang dans un flacon BD BACTEC™ MYCO/F LYTIC, 3 jours de suite. Les prélèvements peuvent être répétés en cas de négativité de la culture après 2 à 3 semaines d'incubation.

6. En cas de prélèvement de tubes sanguins associés, respecter l'ordre de prélèvement des tubes, en commençant toujours par les flacons d'hémoculture (afin de minimiser le risque de contamination et d'éviter les interférences par transfert des additifs via l'aiguille ou le bouchon)



## Retrait de l'aiguille et gestion des déchets




- Activer, à la fin du prélèvement, la sécurité du dispositif pour prévenir tout risque d'AES
- Retirer le garrot
- Mettre une compresse propre et sèche au niveau du point de ponction et retirer l'aiguille d'un coup sec en appuyant immédiatement
- Maintenir la pression (ou le faire faire par le patient) pendant 2 à 3 minutes avant de poser un pansement non stérile (type Micropore)
- Eliminer l'unité de prélèvement, au lit du patient, dans le collecteur à objets piquants, coupants et tranchants ainsi que l'ensemble du matériel de prélèvement dans les collecteurs adaptés (limite de remplissage à respecter)



- Oter les gants et les jeter
- Réaliser une désinfection par friction avec une SHA (ou à défaut un lavage simple des mains)


### Etiquetage et conditionnement des prélèvements pour envoi

- Chaque flacon doit être étiqueté correctement (au chevet du patient) : indiquer l'**identité** du patient (cf. étiquettes GAM ; nom, prénom, date de naissance) et la **date** et l'**heure** du prélèvement
-  **Ne pas coller l'étiquette du patient sur le code-barres du flacon**
- Coller les étiquettes code-barres des flacons sur les bons d'examen
- Remplir autant de bons de demande (pochettes) que de flacons (nom du patient, date et heure de prélèvement, mode de prélèvement (périphérique ou sur cathéter ou autre dispositif), numérotation du flacon, identité du prescripteur et du préleveur, renseignements cliniques, antibiothérapie éventuelle ...)
- Envoyer tous les flacons en même temps au laboratoire

### Conditions de transport au laboratoire



- Acheminer **le plus rapidement possible** les flacons, à **température ambiante**, au laboratoire afin qu'ils soient introduits dans l'automate le plus tôt possible
- Les flacons doivent être transportés dans des poches en plastique doubles scellées (y joindre la feuille de demande adéquate dans la partie de la poche plastique prévue à cet effet) et/ou dans un emballage semi-rigide (surtout si les flacons sont convoyés par un système de pneumatique dans lesquels ils doivent résister à des conditions difficiles de transport)

 En cas de retard d'acheminement, garder les flacons inoculés à **température ambiante** : **ne pas réfrigérer ni pré-incuber les flacons** car cela est susceptible d'entraîner un risque de faux négatif (algorithmes de détection pris en défaut par l'automate)