

	MODE OPERATOIRE PRELEVEMENT	ANA-MO-BAC-5505
POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE	PRELEVEMENT POUR HEMOCULTURES	V : 4
<i>INSTITUT DE MICROBIOLOGIE Bactériologie conventionnelle UF 9623</i>		Applicable au : 12/10/2020
		Page 1 sur 5

REDACTION	VERIFICATION	APPROBATION
TITECAT MARIE	DESSEIN RODRIGUE, GAILLOT OLIVIER, LOIEZ CAROLINE, WALLET FREDERIC, LE GUERN REMI, DUPLOYEZ CLAIRE	SENDID BOUALEM

1. OBJET

- Ce document explicite la réalisation du prélèvement pour hémocultures.
- L'hémoculture se définit par la culture bactériologique ou mycologique de sang dans un bouillon de culture ensemencé au lit du patient dans un flacon dédié.

2. RÉFÉRENCES

- Antisepsie de la peau saine avant un geste invasif chez l'adulte – Recommandations pour la pratique clinique. SFHH Mai 2007
- Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, *et al.* American Heart Association Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and Stroke Council. Infective Endocarditis in Adults: Diagnosis, Antimicrobial Therapy, and Management of Complications: A Scientific Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation*. 2015;132(15):1435-86.
- Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen E, Quentin R. *Bactériologie Médicale. Techniques usuelles*. 2011- Elsevier Masson.
- Guide des bonnes pratiques de l'antisepsie chez l'enfant SFHH Mai 2007
- Lamy B, Roy P, Carret G, Flandrois J-P, Delignette-Muller ML. What Is the Relevance of Obtaining multiple Blood Samples for Culture? A Comprehensive Model to Optimize the Strategy for Diagnosing Bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2002;35(7):842-50.
- Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti J-J, Tattevin P. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. *Front Microbiol [Internet]*. 2016. 12;7:697.
- Prélèvement d'hémoculture : Fiche technique PR/ULI/017_version novembre 2015
- Rémic, dernière édition

3. MATÉRIEL

- Flacons aérobie, anaérobie, pédiatrique, flacons « spécifiques » mycologique
- Dispositif de prélèvement
- Antiseptique alcoolique
- Compresses

	MODE OPERATOIRE PRELEVEMENT	ANA-MO-BAC-5505
POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE	PRELEVEMENT POUR HEMOCULTURES	V : 4
INSTITUT DE MICROBIOLOGIE <i>Bactériologie conventionnelle</i> <i>UF 9623</i>		Applicable au : 12/10/2020
		Page 2 sur 5

4. MÉTHODOLOGIE

4.1. Indication

Toute fièvre d'origine indéterminée et accompagnée de signes cliniques évocateurs d'infection doit donner lieu à la réalisation d'hémocultures, en particulier dans les circonstances suivantes :

- température du patient supérieure à 38,5°C ou inférieure à 36,5°C
- présence de frissons, sueurs, marbrures
- devant un état de choc
- suspicion d'infection sur cathéter
- suspicion d'endocardite

La réalisation d'hémoculture à titre systématique doit être proscrite sauf dans certaines populations à risque infectieux élevé (ex : patient neutropénique, réanimation néo-natale) en accord avec les protocoles des services concernés.

La réalisation des hémocultures s'inscrit dans la démarche diagnostique en cas de suspicion de bactériémie et/ou fongémie, d'endocardite ou d'infection liée à un dispositif intra-vasculaire.

4.2. Stratégie de prélèvement

Terminologie : 1 paire d'hémoculture = 1 flacon aérobie + 1 flacon anaérobie

Chez le patient bactériémique, la concentration bactérienne est très faible et varie dans le temps.

Chez l'adulte la médiane est de 1 UFC / mL de sang => un grand volume de sang est nécessaire pour augmenter la sensibilité du prélèvement

Chez l'enfant :

- la concentration est plus élevée et inversement proportionnelle à l'âge
- la masse sanguine est un paramètre à considérer (seuil de 1% par prélèvement à ne pas dépasser)

=> se référer aux abaques de volumes recommandés en fonction du poids de l'enfant (cf. paragraphe 4.2.2)

La stratégie de prélèvement dépend de l'indication :

- diagnostic de bactériémie chez l'adulte : 4 à 6 flacons de 8-10 mL prélevés en 1 seule fois en commençant par un flacon aérobie / 24h (**prélèvement unique**)
- suspicion d'endocardite : 3 paires d'hémocultures prélevées à 1h d'intervalle (Critères de Duke – Baddour *et al.* 2015)
- suspicion d'infection sur cathéter : réalisation d'hémocultures différentielles (cf. paragraphe 4.3.1)

A noter :

- La sensibilité de l'hémoculture n'est pas meilleure au pic fébrile

	MODE OPERATOIRE PRELEVEMENT	ANA-MO-BAC-5505
POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE	PRELEVEMENT POUR HEMOCULTURES	V : 4
<i>INSTITUT DE MICROBIOLOGIE</i>		Applicable au : 12/10/2020
<i>Bactériologie conventionnelle UF 9623</i>		Page 3 sur 5

- Le « **prélèvement unique** » optimise la **spécificité** de l'hémoculture en réduisant le risque de contamination, contrairement à la stratégie des « prélèvements multiples ». Il offre également une **sensibilité maximale** en optimisant le volume de sang recueilli lors du prélèvement.

4.3. Réalisation du prélèvement

Au préalable : vérification de l'intégrité des flacons et de leur date de péremption

Au lit du patient :

- Le prélèvement doit être réalisé dans le calme, porte fermée
 - Port d'un masque chirurgical
 - Réalisation d'un geste d'hygiène des mains
 - Désinfection des bouchons des flacons après retrait de l'opercule
 - Réalisation d'une antiseptie de la peau au point de ponction par :
 - une antiseptique alcoolique chez l'adulte
 - de la chlorhexidine faiblement alcoolisée ou un antiseptique chloré chez l'enfant (autorisés chez le prématuré et jusqu'à 30 mois).
 - NB : Quel que soit le produit utilisé chez le prématuré, il est conseillé de rincer à l'eau stérile après un temps d'action de 30 secondes afin d'éviter toute irritation de la peau fragile.
 - Réalisation d'un nouveau geste d'hygiène des mains
 - Port de gants à usage unique non stériles
 - Ne plus toucher la zone de ponction
 - Le prélèvement doit être réalisé par ponction veineuse directe franche, en respectant les règles de préservation du capital veineux pour les sujets à risque
- => La réalisation du prélèvement sur un cathéter veineux périphérique doit être évitée

Les hémocultures doivent être prélevées en premier, avant les tubes destinés aux autres analyses biologiques

- Remplir les flacons de sang en commençant par le flacon aérobie :
 - 8-10 mL de sang pour les flacons aéro/anaérobie
 - jusqu'à 4 mL de sang pour les flacons pédiatriques (cf. paragraphe 4.2.2)
- Protocole standard chez l'adulte : prélever 4 à 6 flacons soit 2 à 3 paires d'hémocultures en une seule ponction
- Homogénéiser le prélèvement par retournements successifs de chaque flacon d'hémoculture prélevé
- Numéroter et identifier les flacons en apposant correctement l'étiquette CIRUS au nom du patient

Après le prélèvement :

- Acquitter informatiquement la demande
- Préciser le contexte clinique justifiant la réalisation des hémocultures (endocardite, sepsis...), la température du patient ainsi qu'un éventuel traitement antibiotique en cours

 CHU LILLE	MODE OPERATOIRE PRELEVEMENT	ANA-MO-BAC-5505
POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE	PRELEVEMENT POUR HEMOCULTURES	V : 4
<i>INSTITUT DE MICROBIOLOGIE</i>		Applicable au : 12/10/2020
<i>Bactériologie conventionnelle UF 9623</i>		Page 4 sur 5

4.3.1. Particularités des hémocultures différentielles

- Prélever au même moment (dans les 10 minutes) une paire d'hémoculture en commençant par le flacon aérobie :
 - sur une veine périphérique par ponction veineuse directe
 - sur le dispositif intra-vasculaire suspect sans l'avoir purgé
- Le volume de sang recueilli doit être comparable dans tous les flacons (8-10 mL)
- Identifier les flacons au lit du patient :
 - site de prélèvement (cathéter + localisation ou périphérique)
 - étiquette CIRUS nominative correspondante

Le délai de positivité des flacons prélevés sur le cathéter comparativement aux flacons prélevés en périphérie orienteront (si supérieur à 2h) ou non (si inférieur à 2h) sur l'implication du dispositif dans la bactériémie, sous réserve d'un volume de sang équivalent prélevé.

4.3.2. Volumes à respecter pour les flacons pédiatriques

Le volume de sang à recueillir dans les flacons pédiatriques est fonction du poids de l'enfant et répond à l'abaque ci-dessous (Tableau II - extrait du Rémic 2018 6^{ème} édition).

Tableau II. Volume de sang à mettre en culture en fonction du poids de l'enfant. Les volumes indiqués sont des ordres de grandeur en lien avec le poids de l'enfant vers lesquels on cherchera à tendre (d'après Kellogg et al, Kaditis et al). Au sein d'une catégorie de poids, on tiendra compte du poids de l'enfant pour adapter le volume (plus le poids de l'enfant est élevé, plus le volume prélevé doit se rapprocher du volume supérieur proposé). Par exemple, un enfant de 7 kg devrait bénéficier d'une culture d'environ 6 ml plutôt que de 3 ml contrairement à un enfant de 3 kg ; de même, un enfant de 18 kg d'une culture de 25 ml plutôt que de 20 ml. Lorsqu'un seul flacon estensemencé (patient ≤ 8 kg), le flacon peut être soit aérobie soit anaérobie.

Poids de l'enfant (kg)	Volumes de sang (ml)						Volume total cultivé (ml)	Volume total soustrait (%)
	Culture 1		Culture 2		Culture 3			
	Aérobie	Anaérobie	Aérobie	Anaérobie	Aérobie	Anaérobie		
≤ 1	0,5 à 2						0,5 à 2	1,5 à 3
1,1-2	1,5 à 4,5						1,5 à 4,5 ¹	1,7-3
2,1-3,9	3 à 6						3 à 6 ¹	1,8
4- 7,9	6						6 ¹	1 à 2
8-13,9	4 à 5		4 à 5				8 à 10	1 à 1,5
14-18,9	5	5 à 7	5 à 8	5 à 7			20 à 24	1,8 à 2,4
19-25,9	5	5	5	5	5	5	30	1,8 à 2,2
26-39,9	10	10	10	10			40	1,7 à 2,2
≥40	10	10	10	10	10	10	60	≤ 2,3

NB: le volume de sang est d'environ, 80 à 90 ml/kg chez le nouveau-né, 70ml/ kg chez l'enfant de 10 kg, 60 ml/kg chez l'adulte.

¹ volume présenté sur une culture. Il peut également être obtenu en plusieurs prélèvements afin de ne pas dépasser le seuil de 1% de la masse sanguine par prélèvement parfois recommandé en pédiatrie.

Rémic 2018 6^{ème} édition

	MODE OPERATOIRE PRELEVEMENT	ANA-MO-BAC-5505
POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE	PRELEVEMENT POUR HEMOCULTURES	V : 4
<i>INSTITUT DE MICROBIOLOGIE Bactériologie conventionnelle UF 9623</i>		Applicable au : 12/10/2020
		Page 5 sur 5

4.4. Conditions de transfert

- Les flacons doivent être acheminés le plus rapidement possible au laboratoire où ils seront incubés dans l'automate.
- En cas d'acheminement différé, les flacons ne doivent pas être incubés à 37°C (risque de faux négatif) mais conservés à température ambiante et
- Les flacons Mycosis étant en verre, un envoi isolé est recommandé pour un acheminement au laboratoire via le TAL.

5. REMARQUE

- Ce recueil en flacon à hémoculture ne convient pas pour la recherche des Mycobactéries, (Cf. modes opératoires spécifiques).