



1. Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit la méthode de prélèvement de sang pour hémoculture.

2. Références

- Norme NF EN ISO 15189 : chap. 5.4
- Remic

3. Documents associés

Se reporter dans le LQ à la fiche correspondant à ce mode opératoire, rubrique "documents associés".

4. Définitions et abréviations

AES : Accident d'Exposition au Sang
KT : Cathéter

5. Responsabilités

Le prescripteur est responsable de la demande adressée au laboratoire et de l'indication de l'analyse microbiologique.

Le préleveur est responsable du bon remplissage de la Fiche de Suivi médical - Hémoculture (réf. PPT-E-006) comprenant les renseignements cliniques indispensables à l'examen et à son interprétation.

Les prescriptions et les fiches de suivi médical sont numérisées dans le dossier informatique du patient.

Le laboratoire fournit les informations nécessaires au bon prélèvement, au transport, et est responsable de la mise en œuvre technique, de la validation et de la transmission des résultats.

Au laboratoire, les prélèvements d'hémoculture sont sous la responsabilité du personnel habilité : infirmiers, techniciens préleveurs et biologistes.

6. Modalités

6.1. Modalités de prélèvement

Si le patient est déjà sous antibiotiques, il est conseillé de prélever les hémocultures à distance de l'administration d'antibiotique, c'est-à-dire juste avant une nouvelle administration.

Nombre d'hémocultures à réaliser selon l'indication :

Indications classiques : Fièvre > 38,5°C, hypothermie, frissons, syndrome méningé, arthrite, ostéomyélite, pneumonie, hyperleucocytose inexplicée, ...

En cas de prescription sans précision du nombre d'hémoculture à faire, dans le cadre d'une revue de prescription, on prélève par défaut 2 paires de flacons (soit 4 flacons : 2 flacons aérobies et 2 flacons anaérobies) en un « prélèvement unique ». Ceci pour une meilleure prise en charge du patient (améliore l'interprétation des résultats). Au laboratoire il est enregistré autant de dossier que de couple de flacons aéro/anaérobie.

➤ Patient non porteur de matériel prothétique et avec une porte d'entrée identifiée et prélevée : 2 hémocultures sont suffisantes,



- Patient porteur de matériel prothétique : 3 hémocultures par 24 heures,
- En cas de suspicion d'endocardite (protocole classique) : 3 hémocultures à 1 heure d'intervalle par 24 heures + 3 autres si la première est stérile à J1,
- Fièvre inexplicée sans porte d'entrée identifiable : 2 à 3 hémocultures par 24 heures.

L'intervalle entre deux prélèvements n'a pas d'importance : la qualité du diagnostic est équivalente quel que soit cet intervalle, y compris lorsque les deux prélèvements sont réalisés simultanément (= intervalle nul).

La réalisation des hémocultures à partir de cathéter ou de chambre implantable ne permet pas le diagnostic de bactériémie sauf dans le cas particulier suivant :

Cas particulier des hémocultures appariées pour le diagnostic d'infections liées à un cathéter central sans nécessité d'enlever celui-ci

Objectif : documenter l'implication d'un dispositif vasculaire dans un état septique.

Réaliser en même temps (<10 min) deux à trois séries d'hémocultures (2 ou 3 fois 2 flacons) **l'une par ponction veineuse périphérique et l'autre sur le matériel après avoir purgé le cathéter**. La différence de délai de positivité entre l'hémoculture prélevée sur matériel et celle prélevée en périphérie permet d'incriminer le dispositif intravasculaire de l'état septique. C'est pourquoi le volume de sang prélevé doit être identique dans chaque flacon et les deux prélèvements, acheminés et introduits dans l'automate au même moment.

Si l'hémoculture prélevée sur cathéter est positive plus de deux heures avant celle prélevée en périphérie avec la même bactérie, la colonisation du cathéter est responsable de l'état septique du patient.

Il est fondamental de préciser cette indication sur la demande et d'identifier l'origine et l'heure de prélèvement sur les flacons.

6.2. Technique de prélèvement

La ponction veineuse est la seule méthode valable, les autres types de prélèvement (à travers un dispositif vasculaire) augmentent le risque de contaminants et ne permettent pas le diagnostic des bactériémies (cf supra).

Réduire au maximum le risque de contamination du prélèvement et d'AES (porte de chambre fermée, port d'un masque de type chirurgical recommandé, antiseptie rigoureuse lors du prélèvement, ...).

6.2.1. Préparation du matériel

- Suivre la procédure d'identitovigilance,
- Saisir sur la Fiche de suivi médical – Hémoculture (réf. PPT-E-006), les renseignements cliniques indispensables :
 - la date et heure de prélèvement,
 - le site de prélèvement :
 - Ponction veineuse
 - Dispositif intravasculaire (ex : cathéter)
 - la température du patient au moment du prélèvement,
 - la présence de matériel prothétique : orthopédique, cardiovasculaire, KT, ...,
 - la prise d'antibiotiques (dans ce cas le prélèvement doit être fait de préférence au moment du seuil de l'antibiotique),
 - la porte d'entrée supposée, suspicion d'endocardite, brucellose, ...,
 - l'indication : endocardite, hyperthermie, hypothermie, frissons, pneumopathie, arthrite, ...,
- Vérifier la date de péremption du flacon, examiner le flacon, utiliser des flacons intacts, la pastille au fond du flacon doit être kaki (si jaune ne pas utiliser),



- Décapuchonner les flacons et désinfecter le septum avec l'antiseptique alcoolique,
- Laisser le tampon de désinfection sur le flacon jusqu'au prélèvement.

6.2.2. Désinfection et antiseptie

- Se frictionner les mains avec une solution hydro-alcoolique,
- Choisir le site de ponction veineuse, poser le garrot et repérer la veine,
- Réaliser une antiseptie cutanée large du site de ponction en 4 temps : détersion, rinçage, séchage puis utilisation d'un antiseptique alcoolique en respectant le temps de contact préconisé pour le produit. Après cette étape ne plus palper le point de ponction.

6.2.3. Prélèvement

- Enfiler des gants à usage unique et réaliser la ponction veineuse,
- Prélèvement avec dispositif à ailette :
 - Utiliser un adaptateur pour flacon hémoculture,
 - Prélever un flacon aérobie (bouchon vert) en premier, afin de purger la tubulure, puis l'(es) autre(s) flacon(s) en un seul prélèvement. Tenir le flacon de culture en position verticale (bouchon vers le haut) et plus bas que le bras du patient. Surveiller attentivement le prélèvement direct à tout moment pour garantir l'obtention d'un flux suffisant et éviter le reflux du contenu du flacon dans la tubulure de l'adaptateur.
- Prélèvement avec aiguille et seringue :
 - Inoculer d'abord le flacon anaérobie (bouchon rouge), afin d'éviter toute admission d'air.
- Volume de sang : 8 à 10 ml par flacon, jusqu'au repère de remplissage noté sur l'étiquette
 - Adultes : volume de sang recommandé 10 ml par flacon (vol. min. 5 ml car prélèvements multiples très souvent),
 - Enfants (<14kg) : 1 seul flacon (privilégier le flacon anaérobie), volume inférieur à 10 ml accepté en fonction du poids de l'enfant (cf. tableau ci-dessous).

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.

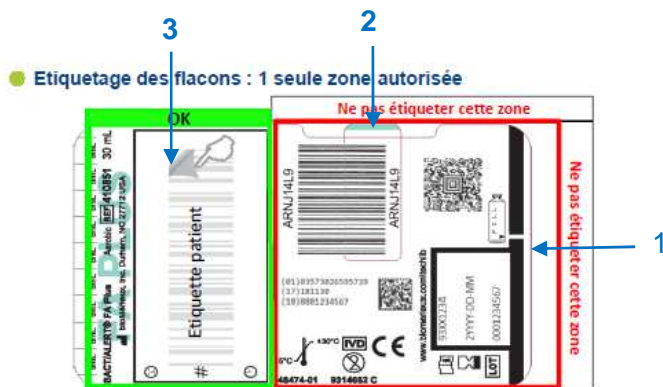
¹ volume présenté sur une culture. Il peut également être obtenu en plusieurs prélèvements afin de ne pas dépasser le seuil de 1% de la masse sanguine par prélèvement parfois recommandé en pédiatrie.



Attention : Le volume de remplissage des flacons est un élément critique pour la fiabilité du résultat final. Pour éviter une sur-inoculation, surveiller le volume sanguin introduit dans le flacon de culture. Le trait indiquant le remplissage maximal sur l'étiquette du flacon peut être utilisé pour faciliter l'estimation d'un volume d'échantillon d'environ 10 ml (l'étiquette du flacon comporte des graduations de 5 ml pour faciliter l'estimation du volume d'échantillon).

- Agiter les flacons par retournement,
- Prélever ensuite, le cas échéant, les autres tubes correspondant aux autres examens (respecter l'ordre de prélèvement des tubes),
- Eliminer le dispositif de prélèvement dans le collecteur à déchets piquants,
- **Identifier les flacons, indiquer Nom / Date / Heure et site de prélèvement.**

! Ne pas coller l'étiquette d'identification sur le code à barres du flacon :



1) Repère visuel de volume optimal de remplissage (10 ml).

2) Partie détachable à coller sur l'ordonnance ou la fiche de suivi médical – Hémoculture

3) Zone dédiée à l'identification des flacons, à respecter IMPERATIVEMENT



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

6.3. Conservation et transport

Conserver les flacons à température ambiante et transmettre sans délai au laboratoire.
Durée maximale de conservation : 24 H à température ambiante.

Attention : Ne surtout pas déposer les flacons prélevés dans une étuve.