



**- SOMMAIRE -**

<b>1</b>	<b>OBJET .....</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>DOMAINE D'APPLICATION .....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>RESPONSABILITES.....</b>	<b>2</b>
<b>4</b>	<b>TERMINOLOGIE .....</b>	<b>2</b>
	4.1 Abréviations et définitions.....	2
	4.2 Références.....	2
<b>5</b>	<b>DEROULEMENT DE L'ACTIVITE .....</b>	<b>3</b>
	5.1 Indications.....	3
	5.2 Ordre et volume de prélèvement.....	3
	5.3 Nombre de prélèvements et moment de réalisation.....	4
	5.4 Matériel nécessaire.....	4
	5.5 Déroulement du prélèvement.....	5
	5.6 Synoptique .....	8
	5.7 Cas particuliers.....	9
	5.8 Limites de la méthode.....	10
<b>6</b>	<b>DOCUMENTS ASSOCIES .....</b>	<b>11</b>



## **1 OBJET**

Ce document décrit les différentes étapes pour réaliser les prélèvements pour hémocultures. Le but du prélèvement est de rechercher, à partir de prélèvements sanguins réalisés selon les bonnes pratiques d'asepsie, la présence d'éventuels micro-organismes responsables de bactériémies ou de septicémies.

La technique de prélèvement doit permettre d'uniformiser les pratiques, de réduire la transmission de micro-organismes et de prévenir les accidents d'exposition au sang.

## **2 DOMAINE D'APPLICATION**

Ce mode-opératoire s'applique à tout professionnel autorisé à prélever des hémocultures et à l'ensemble des prélèvements d'hémocultures réalisés sous la responsabilité du laboratoire.

## **3 RESPONSABILITES**

Personnel médical (prescription)  
Personnel non médical infirmier réalisant le prélèvement  
Biologistes

## **4 TERMINOLOGIE**

### **4.1 Abréviations et définitions**

- Hémocultures : examen microbiologique à visée diagnostique, qui consiste àensemencer du sang veineux dans un milieu de culture liquide approprié, dans le but de mettre en évidence la présence de germes.
- Bactériémie :
  - Définition biologique : présence de bactéries viables dans le sang.
  - Définition épidémiologique : « au moins une hémoculture positive à un micro organisme pathogène associée à des signes cliniques évocateurs ».
- Antisepsie en 4 temps : vise à détruire la flore cutanée au moment du prélèvement
- Détersion : savon compatible avec l'antiseptique alcoolique
  - Rinçage à l'eau stérile /NaCl 0,9% stérile
  - Séchage avec des compresses stériles
  - Application de l'antiseptique alcoolique, respect du temps de séchage
- HDM : Hygiène Des Mains par friction à la solution hydro alcoolique (SHA)

### **4.2 Références**



Rémic 2015 : Diagnostic des bactériémies et des fongémies – Hémocultures

- Désinfection des mains par friction hydro-alcoolique, mode opératoire PHMH17-03 (Site de St Malo)
- Précautions « Standard », mode opératoire PHMH24-01 (Site de St Malo)
- Conduite à tenir en cas d'accident avec d'exposition au sang, Protocole PHMH136-03 (Site de St Malo)
- Antiseptiques guide d'utilisation à l'hôpital PHMH41-01 (Site de St Malo)
- Les Précautions Standard , SPI/PO/HYG/23 (Site de Dinan)
- Choisir la bonne procédure pour l'hygiène des mains SPI/PO/HYG/22 (Site de Dinan)
- Les antiseptiques : définition et modalités d'utilisation SPI/PO/HYG/65 (Site de Dinan)

## 5 DERULEMENT DE L'ACTIVITE

### 5.1 Indications

Toute fièvre d'origine indéterminée, surtout si elle est accompagnée de signes cliniques évocateurs d'infection, doit faire pratiquer des hémocultures **avant toute antibiothérapie**. Selon le contexte, les objectifs sont :

- Affirmer la présence de bactéries dans le sang
- Rechercher et préciser l'étiologie d'une endocardite infectieuse
- Orienter la recherche du foyer infectieux indéterminé
- Apporter une aide au traitement antibiotique.

Les hémocultures peuvent également être réalisées pour toute fièvre chez un patient porteur d'un dispositif médical intra vasculaire.

Les hémocultures peuvent être réalisées chez un patient recevant une antibiothérapie, dans le cadre de l'adaptation d'un traitement.

### 5.2 Ordre et volume de prélèvement

#### Prélèvement unique

- **Prélever, en une seule fois, 4 flacons bien remplis soit 40ml de sang (10 mL par flacon)**
  - On peut alors débiter l'antibiothérapie immédiatement après
  - Prélever les hémocultures avant tout autre type de tubes de prélèvement sanguin afin de limiter les contaminations
  - Le volume de sang prélevé a une importance majeure dans la fiabilité et la sensibilité de l'examen. Le volume optimal à prélever chez l'adulte est de **40 mL** soit **2 couples** (2 aérobies et 2 anaérobies) avec **10 mL** par flacon en un **prélèvement unique** (sensibilité équivalente à des prélèvements multiples et limitation du nombre de contamination).
  - En pédiatrie, le volume de sang doit être adapté au poids de l'enfant (cf. 5.6 Cas particuliers)

**5.3 Nombre de prélèvements et moment de réalisation**

	<b>Mode de prélèvement</b>	<b>Nombre de flacons</b>	<b>Quand?</b>	<b>Remarques</b>
<b>Diagnostic des bactériémies et fongémies</b>	Unique  Ponction veineuse	2 couples (4 flacons au même moment)	Après épisode fébrile  Avant toute antibiothérapie	Préciser la suspicion de fongémie sur le bon de demande du laboratoire.
<b>Diagnostic bactériologique d'une endocardite</b>	Multiple	3 couples	Echelonnés sur 24 h, espacés d'1h minimum  Avant toute prise d'antibiotique	En l'absence de positivité, il est conseillé de répéter les prélèvements au bout de trois jours.  <b>Préciser la suspicion d'endocardite sur le bon de demande du laboratoire.</b>
<b>Diagnostic des infections microbiennes liées à un dispositif intra-vasculaire (cathéter, chambre implantable, picline)</b>	2 couples d'hémocultures : un sur ponction veineuse périphérique et l'autre sur le matériel  Simultanément (< 10 min)	1 couple sur matériel et 1 couple en périphérie	Simultanément  Avant toute antibiothérapie	Prélever le <b>même volume</b> sur les flacons.  Prélèvements réalisés <b>simultanément</b> , correctement identifiés ( <b>site de prélèvement précisé</b> ) et acheminés en même temps au laboratoire.

1 couple = 1 flacon aérobie + 1 flacon anaérobie



## 5.4 Matériel nécessaire

- a. Pour la peau du patient
- compresses stériles
  - savon et antiseptique alcoolique compatibles
  - eau stérile / NaCl 0,9% stérile
  - antiseptique
  - pansement adhésif
- b. Pour l'hémoculture
- plateau propre
  - garrot propre (nettoyé et décontaminé)
  - dispositif de prélèvement sécurisé
  - compresses stériles
  - antiseptique alcoolique pour désinfection des bouchons
  - 4 flacons d'hémocultures (2 flacons aérobie, 2 flacons anaérobie)



**Flacon vert  
AEROBIE**

**Flacon orange  
ANAEROBIE**

- corps de pompe
  - collecteur d'aiguilles et sacs DASRI et DAOM
  - 1 bon de bactériologie
  - 1 sachet
- c. Pour l'opérateur
- masque
  - gants stériles
  - solution hydro-alcoolique

## 5.5 Déroulement du prélèvement

### Etape 1 – Préparation du matériel et modalités du prélèvement :

- Vérifier la prescription sur le dossier de soins.
- Préparer le bon d'examen de microbiologie (prévoir un bon de prescription pour les 4 flacons), coller l'étiquette patient.



Préciser sur le bon de demande la notion d'endocardite ou la suspicion de fongémie s'il y a lieu afin que la durée d'incubation puisse être allongée sur l'automate au laboratoire.

- Vérifier la date de péremption des flacons et que le fond du flacon n'est pas jaune. Repérer le **volume de prélèvement recommandé** à l'aide du repère visuel sur les flacons : 10 mL chez les adultes, volume à adapter en fonction du poids en pédiatrie.
- Réaliser une hygiène des mains avec une friction hydroalcoolique
- Décapuchonner les flacons et désinfecter le septum avec l'antiseptique alcoolique à l'aide de compresses stériles
- Retirer les compresses et attendre le séchage spontané

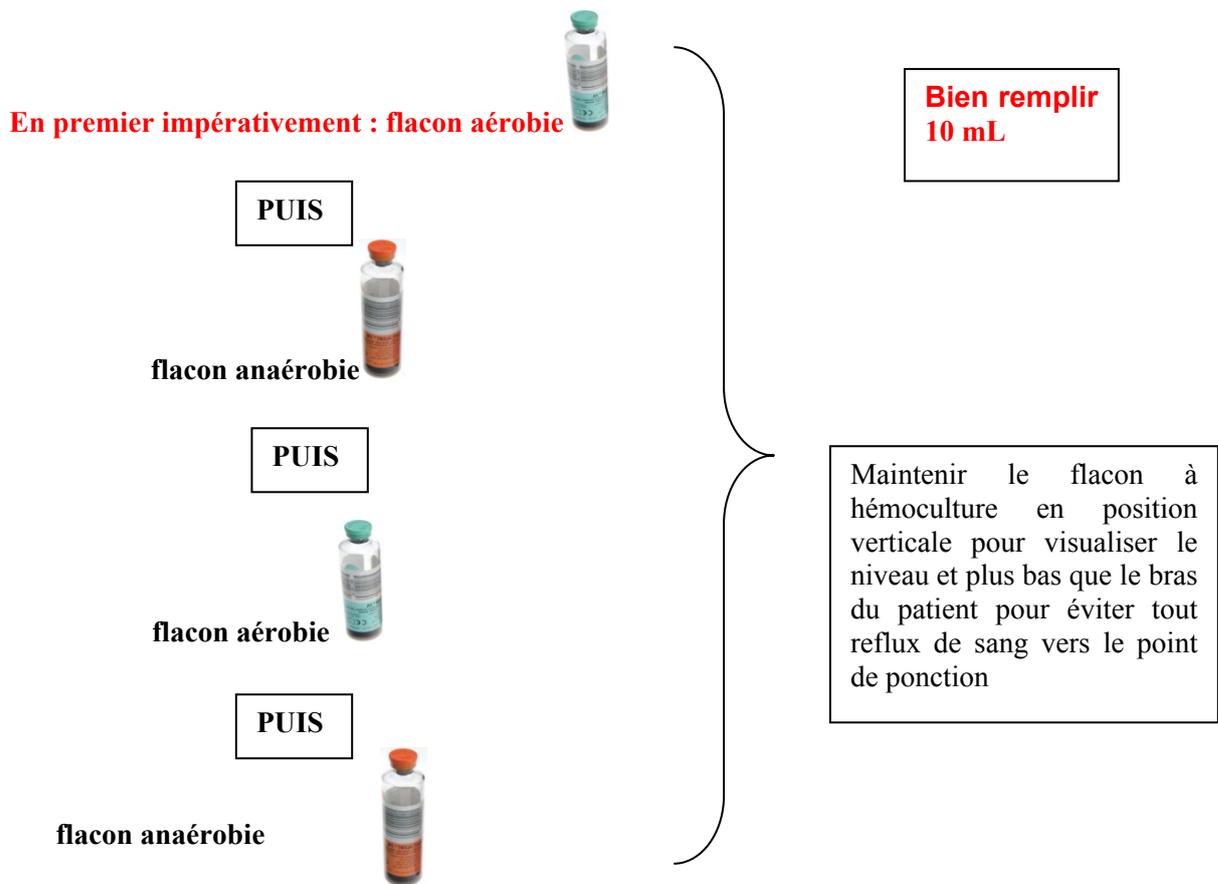
### Etape 2 – Désinfection et antiseptie

- Vérifier l'identité du patient et la concordance avec la prescription sur le dossier de soins. Expliquer le but du prélèvement au patient.
- Réaliser une hygiène des mains avec une friction hydro-alcoolique.
- Choisir le site de ponction : éviter le recueil à travers un dispositif intra vasculaire (augmente de façon significative la fréquence des contaminations) : **un abord veineux direct est à privilégier.**
- Réaliser une **antiseptie cutanée large** du site de ponction en **4 temps** (cf. protocole établissement) :
  1. détertion au savon compatible avec l'antiseptique alcoolique,
  2. rinçage au sérum physiologique/eau stérile
  3. séchage avec des compresses stériles
  4. désinfection avec un antiseptique alcoolique en respectant le séchage spontané.
- Réaliser une hygiène des mains avec une friction hydro-alcoolique.

### Etape 3 – Prélèvement

- Enfiler des gants stériles.
- Réaliser la ponction veineuse avec l'unité de prélèvement sécurisée (cf 5.2 Ordre et volume de prélèvement) :

**Prélever 4 flacons par patient, en un seul prélèvement, (1 aérobie puis 1 anaérobie, suivi de 1 aérobie et 1 anaérobie)** sauf en cas d'endocardites (cf. 5.3 Nombre de prélèvements et temps de réalisation).



- Ne pas suremplir les flacons, ce qui peut entraîner des faux positifs.
- Si d'autres tubes doivent être prélevés, les prélever à la suite en respectant l'ordre de prélèvement des tubes
- Eliminer le matériel utilisé dans les contenants respectifs
- Réaliser une hygiène des mains avec une friction hydro-alcoolique.
- Retourner délicatement les flacons (3 fois).
- Etiqueter le flacon (étiquette patient). **Ne pas coller l'étiquette sur le code à barre du flacon.**



- Retirer le code-barre du flacon et le coller sur le bon de demande correctement rempli



- Compléter le bon de demande en indiquant : **date et heure de prélèvement** , **nom du préleveur** et **nom du prescripteur**

**1 sachet = 1 bon + 4 flacons (2 aérobie / 2 anaérobie)**

#### Etape 4 – Acheminement au laboratoire

- Acheminer **le plus rapidement possible** les flacons avec le bon de demande dans le sachet approprié. Si l'acheminement immédiat ne peut être réalisé, conserver le prélèvement à température ambiante, 24 heures au maximum.

### 5.6 Synoptique

- Prescription médicale écrite, datée et signée
- Préparer le bon d'examen, étiquette patient
- Vérifier la date de péremption des flacons
- Prévenir et expliquer le soin au patient.
- Mettre le masque
- HDM au SHA
- Désinfecter les bouchons des flacons avec des compresses stériles imbibées d'antiseptique alcoolique



- Poser le garrot, repérer la veine à ponctionner
- Desserrer le garrot
- HDM au SHA
- Faire la préparation cutanée du patient : Antiseptie en 4 temps  
Savon de même gamme que l'antiseptique
- HDM au SHA
- Préparer le matériel de façon aseptique
- Poser le garrot



Ou



+



+



+



Ou



- HDM au SHA
- Mettre des gants stériles
- Ponctionner la veine
- Commencer par le flacon aérobie, puis flacon anaérobie
- Au total 2 flacons aérobies et 2 flacons anaérobies  
**10ml** dans chaque flacon pour un adulte
- Terminer si besoin par les autres prélèvements
- Enlever le garrot
- Mettre un pansement adhésif et stérile sur le point de ponction
- Eliminer le matériel utilisé dans les contenants respectifs, jeter le
- HDM au SHA





Cas particuliers

### 5.6.1 Hémocultures en pédiatrie

La quantité de sang à prélever est à adapter en fonction du poids de l'enfant.

Poids de l'enfant	Flacon	Volume de sang	Nombre de flacons
<1 kg	 Flacon pédiatrique	0.5 à 2 mL	1
1.1-2 kg	 Flacon pédiatrique	1.5 à 4.5 mL	1
2.1 -12.7 kg	 Flacon pédiatrique	3 à 6 mL	1
12.8 -36.3 kg		5 mL par flacon	4
>36.3 kg		5 mL par flacon	4 à 6

### 5.6.2 Endocardites

En cas d'endocardite, la bactériémie est constante. Avant toute prise d'antibiotiques, réaliser **trois hémocultures** (flacons aérobie et anaérobie) à échelonner sur 24 h, espacées d'une heure minimum.



En l'absence de positivité, il convient de répéter les hémocultures 2 à 3 jours plus tard.

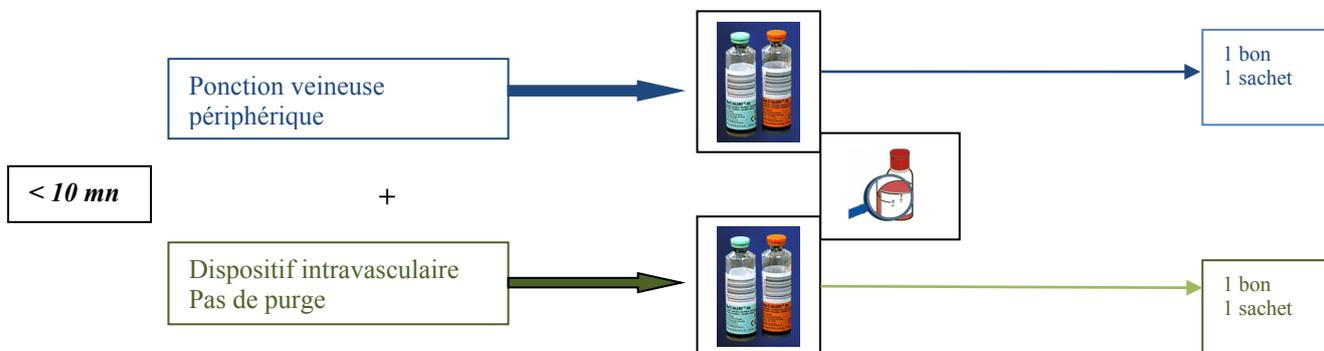
Préciser impérativement la notion d'endocardite sur le bon de demande afin que la durée d'incubation au laboratoire puisse être prolongée (21 jours).



### 5.6.3 Hémocultures différentielles (Méthode « matériel en place »)

L'objectif est de documenter l'implication d'un dispositif intravasculaire dans un état septique. Le prélèvement d'hémocultures différentielles dit méthode « matériel en place » consiste à réaliser au même moment (<10 minutes):

- Deux prélèvements d'hémocultures
- Un prélèvement par ponction veineuse périphérique
- Un prélèvement à partir du dispositif, sans avoir purgé le cathéter
- L'ordre des prélèvements n'a pas d'importance
- Les deux hémocultures doivent contenir **le même volume de sang** afin de pouvoir assurer une comparaison fiable des deux échantillons.



Sur les bons de laboratoire noter **l'heure et le site de prélèvement.**

Il est recommandé de procéder, au préalable ou en parallèle, à un diagnostic de bactériémie sans *a priori* sur l'origine, ce qui suppose la mise en culture de 4 flacons.

### 5.6.4 Recherche de mycobactéries

Contactez le laboratoire (Flacons spécifiques BD Bactec Myco/F Lytic pour envoi au CHU de Rennes)

## 5.7 Limites de la méthode

- **Micro-organismes non cultivables :** Legionella sp., Coxiella sp., Bartonella sp., bactéries intracellulaires
- **Anaérobies :** en cas de suspicion d'infection à un germe anaérobie, prélever **obligatoirement** des flacons anaérobies.
- **Durée d'incubation :** donner les renseignements cliniques nécessaires afin que le laboratoire allonge la durée d'incubation en cas de besoin (suspicion d'endocardite, de fongémie).
- **Traitement antibiotique :** dans l'idéal, prélever avant toute administration d'antibiotiques. Si cela est impossible, prélever de préférence immédiatement avant l'administration de la dose suivante de l'antibiotique (résiduelle la plus basse)



VIROLOGIE - BACTERIOLOGIE - MYCOLOGIE - PARASITOLOGIE

Examens réalisés sur les 2 sites

Examens réalisés sur le site de Saint Malo

Examens soulignés : laboratoire sous-traitant

SB11 Janvier 2017



<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9	<input type="checkbox"/> 10	<input type="checkbox"/> 11	<input type="checkbox"/> 12	<input type="checkbox"/> 13	<input type="checkbox"/> 14	<input type="checkbox"/> 15	<input type="checkbox"/> 16	<input type="checkbox"/> 17	<input type="checkbox"/> 18																						
<input type="checkbox"/> 19	<input type="checkbox"/> 20	<input type="checkbox"/> 21	<input type="checkbox"/> 22	<input type="checkbox"/> 23	<input type="checkbox"/> 24	<input type="checkbox"/> 25	<input type="checkbox"/> 26	<input type="checkbox"/> 27	<input type="checkbox"/> 28	<input type="checkbox"/> 29	<input type="checkbox"/> 30	<input type="checkbox"/> 31																											
<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9	<input type="checkbox"/> 10	<input type="checkbox"/> 11	<input type="checkbox"/> 12																												
HEURE(S)										MINUTE(S)																													
<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9	<input type="checkbox"/> 10	<input type="checkbox"/> 11	<input type="checkbox"/> 12	<input type="checkbox"/> 13	<input type="checkbox"/> 14	<input type="checkbox"/> 15	<input type="checkbox"/> 16	<input type="checkbox"/> 17	<input type="checkbox"/> 18	<input type="checkbox"/> 19	<input type="checkbox"/> 20	<input type="checkbox"/> 21	<input type="checkbox"/> 22	<input type="checkbox"/> 23	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 10	<input type="checkbox"/> 15												
<input type="checkbox"/> 12	<input type="checkbox"/> 13	<input type="checkbox"/> 14	<input type="checkbox"/> 15	<input type="checkbox"/> 16	<input type="checkbox"/> 17	<input type="checkbox"/> 18	<input type="checkbox"/> 19	<input type="checkbox"/> 20	<input type="checkbox"/> 21	<input type="checkbox"/> 22	<input type="checkbox"/> 23	<input type="checkbox"/> 24	<input type="checkbox"/> 25	<input type="checkbox"/> 30	<input type="checkbox"/> 35	<input type="checkbox"/> 40	<input type="checkbox"/> 45	<input type="checkbox"/> 50	<input type="checkbox"/> 55																				
<b>RENSEIGNEMENTS CLINIQUES</b>																																							
<input type="checkbox"/> Allergie bêta-Lactamines										<input type="checkbox"/> Fièvre										<input type="checkbox"/> Synd. infectieux										<input type="checkbox"/> Suspicion endocardite									
<input type="checkbox"/> Prélèv. post op.										<input type="checkbox"/> Grossesse										<input type="checkbox"/> MAP										<input type="checkbox"/> Post partum									
										<input type="checkbox"/> Immunodépression										<input type="checkbox"/> ATB en cours																			
Prescripteur :															Préleveur :															<input type="checkbox"/> <b>URGENT</b>									
<b>Un seul prélèvement par bon</b>															<b>BACTERIOLOGIE</b>															Code-Barres Flacon n°1									
HEMOCULTURES															<input type="checkbox"/> Prélèv. Unique <input type="checkbox"/> Couple 1 <input type="checkbox"/> Couple 2 <input type="checkbox"/> Prélèv. Multiple <input type="checkbox"/> N°1 <input type="checkbox"/> N°2 <input type="checkbox"/> N°3 <small>(Endocardite/Pédiatrie)</small> <input type="checkbox"/> CIP <input type="checkbox"/> Périphérique <b>Infection sur KTC. Différentiel de délai de positivité :</b> <input type="checkbox"/> Flacons sur CIP <input type="checkbox"/> Flacons en périphérique															Code-Barres Flacon n°2									
																														Code-Barres Flacon n°3									
																														Code-Barres Flacon n°4									

**1 sachet = 1 bon + 1 hémoculture (2 flacons)**  
 -Endocardite  
 -Pédiatrie  
 -Hémocultures différentielles

**1 sachet = 1 bon + 2 hémocultures (4 flacons)**  
 -Protocole prélèvement unique



**Ne pas masquer le code-barres du flacon avec l'étiquette du patient**



NON



OUI



6 DOCUMENTS ASSOCIES

Cf. les documents cités précédemment