1. Objet et domaine d'application 2

2. Responsabilités 2

3. Déroulement de l'activité 2

3.1. Le matériel utilisé 2

3.2. Déroulement du prélèvement 2

3.2.1. Prélèvement vaginal ou cervico-vaginal 2

3.2.2. Prélèvement urétral 3

3.2.3. Frottis cervico-vaginal 4

3.2.4. Test de Hühner 4

3.2.5. Autres prélèvements 5

a) Bactériologie (coproculture) - Parasitologie des selles – Recherche de sang dans les selles 5

b) Selles : chimie des selles, digestion, coprologie fonctionnelle de type Goiffon 5

c) Scotch test anal 5

1. Adultes et grands enfants : 5
2. Petits enfants : 6

d) Sperme (spermoculture) 6

e) Recherche de dermatophytes : Ongles, cheveux, squames 6

1. Lésions de la peau glabre : 6
2. Lésions des plis : 6
3. Lésions unguéales : 7
4. Lésions du cuir chevelu et des zones pileuses : 7
5. Autres : 7

f) Plaie, escarre, pus profond etc. 7

g) ORL 8

1. Gorge : 8
2. Oreille : conduit auditif externe : 8
3. Nez : 8
4. Œil : 8
5. Prélèvement pour recherche de coqueluche (Bordetella pertussis): 9
6. Prélèvement pour recherche de grippe : 9
7. Prélèvement pour recherche de COVID 19 (SARS-COV-2) : 9

h) Crachat 10

4. Classement et archivage 10

1. Objet et domaine d'application

Cette instruction décrit comment sont effectués les prélèvements bactériologiques et les prélèvements particuliers au sein du laboratoire. Il s'applique à l'ensemble des prélèvements (autres que les prélèvements urinaires et les prélèvements sanguins) réalisés par le laboratoire.

2. Responsabilités

Les prélèvements sont réalisés sous la responsabilité du biologiste et sont pratiqués par le personnel autorisé (Cf. PG *« Prélèvements » PG-MU3-001*).

Lorsque le prélèvement est effectué par le patient, la personne présente à l'accueil a la responsabilité de donner les préconisations aux patients et d'identifier les échantillons.

3. Déroulement de l'activité

3.1. Le matériel utilisé

- Pot stérile.
- Spéculum stérile en plastique à usage unique.
- Ecouvillons ; Abaisse-langue
- Boîte de Pétri ; Lame porte-objet ; Scotch
- Cervex-brush ; Aspiglaire.
- Pinces
- Coupe-ongles ; Pince à épiler
- Ciseaux ; Curettes
- Fixateur

3.2. Déroulement du prélèvement

Pour tous les prélèvements, mettre des gants à usage unique.

3.2.1. Prélèvement vaginal ou cervico-vaginal

- La patiente devra éviter toute toilette intime, tout traitement local (crème, gels, savons…).
- Il est conseillé d'éviter le prélèvement pendant la période menstruelle car la flore est modifiée (sauf avis contraire du prescripteur).
- Le prélèvement doit être réalisé avant ou à distance de tout traitement antibiotique (> 15 jours pour les chlamydiae, > 5 jours pour les germes banals).

Avant tout prélèvement, le biologiste préleveur doit s'assurer des conditions physiologiques du sujet.

Original – Photocopie interdite

- Après mise en place d'un spéculum à usage unique, prélever en fonction du tableau suivant :

  Avant le prélèvement pour la recherche de Chlamydia trachomatis/Gonocoques, il faudra s'assurer que la patiente n'ait pas appliqué les gels vaginaux suivants : Replens®, RepHresh®, RepHresh Clean Balance®, Metronidazole®. Dans ce cas, le prélèvement devra être reporté.

  Le prélèvement est réalisé en endocervical en tournant doucement l'écouvillon dans le sens des aiguilles d'une montre pendant 30 secondes.

	Bactério standard	Mycoplasmes	Chlamydia/ Gonocoques	Herpes	Papillomavirus HPV
Site de prélèvement	Col + vagin	Culs de sac	Endocol	Vulvo vaginal ou lésion	Endocol et exocol
Kits spécifiques	1 kit Σ Transwab® violet	1 kit Σ Transwab® violet	1 kit de prélèvement Cobas PCR**	1 kit de prélèvement avec milieu de transport M4RT 10 mL	Cyto-brosse + milieu Preservcyt Hologic

** prélever avec le petit écouvillon après avoir nettoyé la glaire et/ou les leucorrhées avec le plus gros.
Pour les auto-prélèvements, Cf. DE-MU3-039 et DE-MU3-040.

3.2.2. Prélèvement urétral

- Le patient ne doit pas uriner dans les deux heures précédant le prélèvement.

	Bactério standard	Mycoplasmes	Chlamydia/ Gonocoques	Herpes
Site de prélèvement	Méat			Lésion

Kits spécifiques	1 kit Σ Transwab® orange 	1 kit Σ Transwab® orange 	1 kit de prélèvement Cobas PCR 	1 kit de prélèvement avec milieu de transport M4RT 10 mL

- Pour la recherche de chlamydia/gonocoques et de mycoplasme : introduire l'écouvillon dans l'urètre en effectuant 3 ou 4 rotations pour recueillir le maximum de cellules.
- S'il n'y a pas d'écoulement, possibilité de recueillir le 1er jet d'urines pour bactériologie standard, chlamydia/gono et mycoplasmes.

3.2.3. Frottis cervico-vaginal

Prélever à l'aide d'une cervex brush au niveau de l'endocol et de l'exocol. Insérer les fibres centrales de la brosse dans le canal endocervical. Tourner 5 fois la cervex brush en maintenant une légère pression. Décharger la cervex-brush dans le flacon Preservcyt Hologic.

Identifier le prélèvement au moyen d'étiquette (nom, prénom, date de naissance, numéro de dossier, …). Noter sur la fiche du frottis fournie par le laboratoire d'anatomopathologie les renseignements suivants : DDR, nombre de grossesses, traitement éventuel (pilule ou THS), antécédent gynécologique, aspect du col, …

Si les secrétions ou le mucus sont abondants, utiliser un écouvillon en coton pour éliminer l'excédent de secrétions avant de réaliser le prélèvement.

3.2.4. Test de Hühner

Le prélèvement doit avoir lieu en période pré-ovulatoire (ou du 12 au 14ème jour du cycle). Il est effectué au laboratoire 6 à 8 h après un rapport, le conjoint doit respecter 3 à 5 jours d'abstinence.

Original – Photocopie interdite

Matériels : Aspiglaire

Prélèvements :

- Prélèvement avec spéculum à usage unique sous un éclairage adapté.
- Recueillir la glaire cervicale à l'aide d'un aspiglaire.
- Décharger la glaire dans un petit tube ou directement sur une lame.
- Noter l'aspect de la glaire et son abondance.
- Examiner aussitôt la glaire au microscope.

3.2.5. Autres prélèvements

a) Bactériologie (coproculture) - Parasitologie des selles – Recherche de sang dans les selles

Matériels : Pot à coproculture

Prélèvements : Échantillon de selles recueilli dans le flacon fourni par le laboratoire (environ 2 noix)

Cf. DE *« Fiche recueil des selles pour coproculture et parasitologie » DE-MU3-009* et DE *« Fiche recueil de selles recherche de sang » DE-MU3-013.*

b) Selles : chimie des selles, digestion, coprologie fonctionnelle de type Goiffon

Matériels : Pot blanc fourni par Cerba ou à défaut flacon HLM (à tarer préalablement).

Prélèvements : La totalité des selles de 24 heures.

Cf. DE *« Fiche recueil des selles : chimie, étude digestion, copro fonctionnelle type Goiffon, steatorrhée » DE-MU3-005.*

c) Scotch test anal

Le préleveur vérifie auprès du patient qu'il n'a pas réalisé de toilette matinale ni émis de selles depuis le levé.

Matériels : Lames porte-objet - Scotch

Prélèvements : Il y a 2 façons de procéder :

1. **Adultes et grands enfants :**

Le patient doit se mettre les fesses nues. Dérouler le papier gynécologique et allonger le patient sur le côté en position fœtale. Ecarter les fesses pour dégager la marge anale et appliquer le morceau de scotch (3-4 cm de long) sur l'anus, imprimer une légère pression, retirer le scotch et le coller sur une lame porte-objet.

2. Petits enfants :

Patient les fesses nues, dérouler le papier gynécologique, allonger le patient, lui faire écarter les jambes et procéder avec le scotch comme précédemment.

Le prélèvement peut être réalisé à domicile après explications et confection de 2 à 3 lames avec scotch dans un porte lame.

d) Sperme (spermoculture)

Matériels : Pot à spermogramme stérile

Prélèvement effectué au laboratoire ou à domicile.

Prélèvements :

- Uriner. Se laver les mains (des gants sont à la disposition du patient).
- Par masturbation, après une désinfection locale.
- Recueil de la totalité de l'éjaculât.

Cf. DE *« Fiche recueil de sperme - spermoculture » DE-MU3-007.*

e) Recherche de dermatophytes : Ongles, cheveux, squames

Matériels : Curette – Scalpel - Ecouvillons – Boite de Pétri – Scotch – Lame porte objet – Ciseaux – Pince à épiler.

Le site de prélèvement et le matériel utilisé sont fonction de la prescription médicale.

En cas de lésions sèches, très peu ou non squameuses, de la peau glabre ou du cuir chevelu, faire le prélèvement avec un écouvillon humidifié dans du NaCL. Pour l'examen direct, faire un scotch test.

1. Lésions de la peau glabre :

- **Lésions squameuses** : prélever en raclant fortement les squames à la périphérie des lésions à l'aide d'une curette. Les échantillons sont recueillis dans une boite de Pétri.
- Réaliser un prélèvement à cellophane adhésive **(scotch test)** pour le diagnostic du Pityriasis versicolor. Cette technique n'est pas réalisable sur les lésions inflammatoires ou suintantes. Appliquer le scotch sur la lésion, imprimer une légère pression, ôter le scotch et le coller sur une lame porte-objet.
- Dans le cas de plaies, écouvillonner les lésions.

2. Lésions des plis :

Selon l'aspect des lésions :

- Gratter à la curette ou au scalpel, les squames en bordure de la lésion (lésion sèche et squameuse).
- Frotter les sérosités à l'aide de 2 écouvillons (lésions suintantes).
- Percer les vésicules, puis prélever le dôme de la vésicule ainsi que la sérosité à l'écouvillon (lésion vésiculeuse).

3. Lésions unguéales :

- Couper toute la partie de l'ongle atteint avec des ciseaux jusqu'à la limite des tissus sains. On peut aussi prélever des poussières d'ongles en raclant la tablette interne de l'ongle, ou des ilots blanchâtres de la surface de l'ongle au vaccinostyle, à la curette stérile ou avec une lame de bistouri.
- Prélever le pus de perionyxis éventuel (écouvillon = E-Swabs).

4. Lésions du cuir chevelu et des zones pileuses :

- Prélever les cheveux cassés autour de la lésion.
- Prélever les squames et les croutes éventuelles en raclant à la curette.
- En cas de lésion inflammatoire suppurée, prélever les suppurations avec un écouvillon.

5. Autres :

Lésions papuleuses ou verruqueuses : réaliser un écouvillonnage en s'aidant d'un vaccinostyle ou d'une aiguille, si besoin.

Compléter la fiche d'origine du prélèvement de mycologie

f) Plaie, escarre, pus profond etc.

Matériel :

- Si abcès fermé : prélèvement à la seringue (réalisé par le médecin).
- Si abcès ouvert : 1 écouvillons (si prélèvement à domicile, prendre des écouvillons avec milieu de transport).

Prélèvements :

- **Noter le site de ponction**
- Prendre les précautions d'asepsie pour éviter de contaminer le prélèvement par les bactéries se trouvant normalement sur la peau.
- Passer l'écouvillon sur toute la surface au niveau de la zone prélevée.
- Si lésion croûteuse, prélever par écouvillonnage après ablation des croûtes au vaccinostyle.
- Si lésion purulente superficielle, prélever par écouvillonnage après incision au vaccinostyle.

Original – Photocopie interdite

- Noter la prise éventuelle d'antibiotiques.

  Compléter le DE *« Fiche origine du prélèvement de bactériologie » DE-MU3-029.*

g) ORL

Les lieux de prélèvements sont fonction de la prescription médicale. Le prélèvement doit être réalisé avant toute antibiothérapie locale ou générale, sauf avis contraire du médecin. Compléter le DE *« Fiche origine du prélèvement de bactériologie » DE-MU3-029.*

Matériels : 1 écouvillon (si prélèvement à domicile, prendre des écouvillons avec milieu de transport).

1. Gorge :

Prélèvements :

Au niveau des zones inflammatoires ou nécrotiques, s'aider d'un abaisse-langue au besoin.

Sur les amygdales en cas d'amygdalite, sur le voile du palais en cas de portage. Pour le dépistage, éviter la contamination par la salive.

Pour une recherche de Candida, prélèvement au niveau de la langue, palais et face interne des joues.

2. Oreille : conduit auditif externe :

Prélèvements :

Prélèvement par écouvillonnage.

Pus de paracentèse : par l'ORL.

Otite externe : éliminer les croûtes et débris à l'aide d'un 1er écouvillon humidifié, puis réaliser un écouvillonnage (2 écouvillons) en appuyant fermement sur les parois du conduit auditif externe.

3. Nez :

Prélèvements :

Par écouvillonnage, prélever au niveau des 2 narines (recherche de SAMR/SAMS).

4. Œil :

Prélèvements :

Prélever avant antibiothérapie locale ou générale.

Compléter le DE *« Fiche origine du prélèvement de bactériologie » DE-MU3-029.*

Prélèvement le matin avant la toilette.

Bactériologie standard : prélèvement de secrétions dans l'angle interne de l'œil avec 1 écouvillon Σ Transwab® orange et sur la conjonctive inférieure.

Si chlamydiae : prélever la conjonctive le plus fermement possible pour obtenir des cellules. Charger et couper l'écouvillon dans le milieu de transport pour chlamydiae.

Démodex : prélever plusieurs cils avec la pince à épiler, déposer dans une boite de Pétri, la scotcher (ou déposer directement sur une lame).

5. Prélèvement pour recherche de coqueluche (*Bordetella pertussis*):

Procéder à un prélèvement naso-pharyngé grâce à l'écouvillon du milieu M4RT
Est à réaliser dans les 3 premières semaines de toux, pas au-delà.
Maintenir la tête du patient inclinée en arrière. Insérer l'écouvillon dans la narine, le pousser délicatement le plus loin possible (butée au niveau du pharynx), parallèlement au plancher buccal. Le laisser en place quelques secondes puis le retirer lentement en lui imprimant un léger mouvement rotatif. Procéder de même pour l'autre narine avec le même écouvillon.

Préparer le prélèvement avec le tube de milieu de transport :

L'écouvillon est ensuite plongé dans le milieu de transport, la tige est coupée pour permettre la fermeture.

Remplir la partie « Fiche de renseignement cliniques PCR Coqueluche ». Joindre la fiche de renseignement au prélèvement.

6. Prélèvement pour recherche de grippe :

Par prélèvement naso-pharyngé sur milieu M4RT.

7. Prélèvement pour recherche de COVID 19 (SARS-COV-2) :

Par prélèvement naso-pharyngé.

Cf. IT *« COVID19 : Prélèvement et envoi » IT-MU3-041.*

h) Crachat

Matériels : Flacon stérile, acheminé le plus rapidement au laboratoire. Pour la recherche de BK, la conservation est possible de 24 à 48 h à +4°C.

Prélèvements : Faire le prélèvement le matin à jeun après rinçage de la bouche à l'eau. A la suite d'un effort de toux qui ramène les secrétions bronchiques accumulées pendant la nuit. Il ne faut pas de crachat salivaire (volume idéal 5 mL, volume minimum de 2 mL).

Cf. DE *« Fiche recueil des crachats » DE-MU3-006.*

4. Classement et archivage

SO.

Original – Photocopie interdite