Les prélèvements microbiologiques

une question de culture... !

par Louise Trudel

Vous demandez-vous parfois pourquoi les résultats obtenus du laboratoire de microbiologie sont moins utiles que vous ne l'auriez souhaité ?

Vous heurtez-vous au problème du rejet de spécimens ou recevez-vous des commentaires sur la qualité du spécimen reçu ?

QUARANTE-HUIT HEURES après avoir assisté à une fête de quartier à l'occasion de la Saint-Jean-Baptiste, Marie-Soleil, cinq ans, a de la fièvre, des douleurs abdominales et une diarrhée (trois à quatre selles par jour). Sa mère a même observé qu'une des selles était sanglante, ce qui l'a amenée à consulter le médecin. Ce dernier prescrit une culture de selles. La maman recueille un échantillon de selles (non sanglantes) le soir même. Elle met le pot au réfrigérateur dans un sac à rabat fermoir et l'apporte au centre de prélèvements de l'hôpital le lendemain après-midi.

Cinq jours plus tard, le médecin reçoit le résultat de la culture bactérienne de selles, qui indique qu'il n'y a pas de *Salmonella*, de *Shigella*, de *Yersinia* ni de *Campylobacter*. Il est à la fois déçu et étonné du résultat.

D'après vous, quelles sont les causes possibles de ce résultat négatif ?

Prescription des tests et formulaire de demande d'analyses de laboratoire

Il faut toujours faire une demande d'analyses microbiologiques en tenant compte de l'utilité des résultats attendus et du rapport coût-bénéfice des analyses effectuées dans un contexte donné. À quoi bon prescrire un test si le résultat qu'on obtient (positif ou négatif) ne permet pas de préciser la démarche thérapeutique ? Cette demande doit donc être bien ciblée pour éviter les analyses inutiles et faciliter l'interprétation des résultats obtenus en fonction du diagnostic clinique et d'éventuels résultats d'autres disciplines de la biologie médicale.

Une bonne communication entre le médecin traitant et le laboratoire est fortement recommandée, particulièrement dans les cas nécessitant des milieux de transport particuliers ou des analyses peu courantes, pas toujours offertes dans les laboratoires de première ligne. Le médecin doit également fournir les informations cliniques nécessaires pour aider le personnel du laboratoire à choisir les analyses les plus pertinentes (présence de sang dans les selles, par exemple).

En ce sens, le lien privilégié entre le médecin et le laboratoire est le formulaire de demande d'analyses de laboratoire (*tableau I*)[1]. En plus de fournir les informations pertinentes, il doit clairement préciser les analyses demandées pour le spécimen envoyé (par exemple, recherche *d'Escherichia coli* O157:H7, de la toxine de *Clostridium difficile* ou de parasites dans les selles, recherche de *Neisseria gonorrhœæ* dans la gorge).

Le foyer anatomique où le spécimen a été prélevé doit être précisé[1] (« plaie ouverte à l'avant-bras droit » plutôt que « pus », par exemple). La présence de *Streptococcus pyogenes* dans une pustule évoque un diagnostic d'impétigo. La présence du même agent

M^me^ Louise Trudel, M.Sc. microbiologie, est responsable du programme de parasitologie au Laboratoire de santé publique du Québec.

Il faut toujours faire une demande d'analyses microbiologiques en tenant compte de l'utilité des résultats attendus et du rapport coût-bénéfice des analyses effectuées dans un contexte donné.

Le médecin doit fournir les informations cliniques nécessaires pour aider le personnel du laboratoire à choisir les analyses les plus pertinentes (présence de sang dans les selles, par exemple).

Repères

Tableau I

Formulaire de demande d'analyses de laboratoire[1]

Le formulaire de demande d'analyses de laboratoire doit comprendre :

- l'identité du patient (nom, adresse, numéro d'assurance-maladie ou date de naissance et sexe, et numéro de chambre, s'il y a lieu) ;
- les nom, adresse et numéro de téléphone du médecin traitant ;
- le foyer anatomique précis du prélèvement, indiqué de façon complète ;
- la date et l'heure du prélèvement ;
- le diagnostic clinique et les données d'anamnèse pertinentes ;
- la demande d'analyses précises ;
- les antibiotiques reçus, le cas échéant.

dans une plaie opératoire pourrait être révélatrice d'un problème clinique plus grave.

L'état du patient au moment du prélèvement (symptomatique ou asymptomatique) doit également être indiqué, particulièrement pour les analyses d'urine, car il permet d'interpréter correctement les résultats quantitatifs obtenus[1]. La date et, dans certains cas, l'heure du prélèvement (pour une numération bactérienne dans l'urine, par exemple) doivent être inscrites pour permettre de vérifier la validité de l'échantillon reçu.

Prélèvement et identification des spécimens

Pour obtenir un résultat d'analyse utile et fiable, il faut prélever correctement le bon type de spécimen, au foyer anatomique approprié, en fonction des micro-organismes recherchés[2]. Les prélèvements sur écouvillons, entre autres, peuvent être très utiles dans plusieurs circonstances (par exemple, prélèvements urogénitaux, prélèvement de gorge, de lésions superficielles) ; ils sont beaucoup moins adéquats quand un autre type de spécimen peut facilement être prélevé (selles comparativement à l'écouvillonnage rectal), puisqu'ils contiennent généralement moins de matériel[2]. Ils peuvent aussi être plus facilement contaminés par la flore normale environnante (comme le prélèvement par écouvillon dans le conduit auditif pour le diagnostic d'une otite moyenne)[1-3].

La culture des expectorations ne permet pas toujours d'identifier l'agent pathogène à l'origine d'une pneumonie présumée bactérienne[1]. Deux hémocultures et la culture de liquide pleural (en présence d'un épanchement) devraient également être faites. Dans les cas de maladies graves, des échantillons obtenus par bronchoscopie avant le début d'une antibiothérapie peuvent aider à déterminer l'agent causal.

Il n'est généralement pas utile de prélever plus d'un spécimen du même endroit par période de 24 heures[1], sauf exception (hémocultures, par exemple) ; en cas de doute, il vaut mieux consulter un microbiologiste.

Les conditions de prélèvement des spécimens varient selon le type de prélèvement et les micro-organismes recherchés. De façon générale, les spécimens doivent être recueillis ou déposés dans un contenant étanche et stérile[1,2]. Le spécimen prélevé doit par la suite être bien identifié (nom du patient et date du prélèvement). Si l'on ignore l'identité de la personne sur qui un échantillon a été prélevé, les résultats de l'analyse ne permettront aucune intervention. Il est donc convenu de ne pas traiter les échantillons non ou mal identifiés.

Urine et selles

L'urine et les selles sont deux types de prélèvements fréquents, habituellement effectués par le patient lui-même. Celui-ci doit donc avoir reçu et compris des instructions précises sur la façon de procéder à ces prélèvements. Une explication verbale, en plus des instructions écrites, augmente les chances d'obtenir un prélèvement de qualité dont les résultats seront interprétables. Il ne faut jamais tenir pour acquis que le patient saura quoi faire s'il ne reçoit aucune explication[1].

Urine

Le prélèvement et la culture d'urine

Pour obtenir un résultat d'analyse utile et fiable, il faut prélever correctement le bon type de spécimen, au foyer anatomique approprié, en fonction des micro-organismes recherchés.

Repère

sont traités dans l'article intitulé « La culture d'urine : la fin justifie les moyens » de la Dre Claire Béliveau, dans ce numéro. Certains éléments peuvent cependant être précisés dès maintenant :

- La première urine du matin est habituellement la plus concentrée ; les échantillons prélevés durant la journée sont cependant acceptables[1].
- La région génitale doit être bien nettoyée avant le prélèvement pour éviter la contamination par la flore normale environnante.
- La région génitale doit également être bien rincée pour enlever l'excès de savon, qui pourrait entraîner un résultat de culture faussement négatif.
- La première portion de l'urine doit être rejetée, car elle peut contenir des contaminants du canal urétral ; l'urine de milieu de jet est plus représentative de la flore vésicale[1].

Selles

La façon de prélever les selles en fonction du type d'analyse demandé est exposée en détail au tableau II. On peut cependant souligner certaines recommandations générales.

Quand faut-il les prélever ?

- Le prélèvement doit idéalement être effectué en phase aiguë (selles diarrhéiques)[1], la période d'excrétion des virus et des bactéries étant habituellement très courte.
- Il faut éviter d'effectuer des prélèvements pour recherche de parasites trop rapidement après l'administration de produits comme le baryum, l'huile minérale, le magnésium ou d'autres produits cristallins, de même qu'après la prise de certains produits antidiarrhéiques non absorbables ou d'antibiotiques. Un délai de 5 à 10 jours est recommandé après l'administration de ces produits, et d'au moins deux semaines après la prise d'antibiotiques[4].

Comment doit-on les prélever ?

- Les selles ne doivent PAS entrer en contact avec l'urine ou l'eau des toilettes pour éviter la détérioration des micro-organismes et une contamination éventuelle par des organismes présents dans l'eau des toilettes[4].

Combien de spécimens doit-on prélever et en quelle quantité ?

- Des études récentes recommandent maintenant de fournir systématiquement deux spécimens de selles pour la bactériologie (un spécimen par jour) et deux à trois spécimens pour

Tableau II

Prélèvement de selles

Recueillir les selles dans un contenant propre et sec, à large ouverture (contenant en plastique ou assiette en aluminium), sur un papier journal déposé par terre ou sur une pellicule de plastique non tendue (comme du *Saran Wrap*) appliquée sur la cuvette des toilettes.

Les selles ne doivent pas être en contact avec l'urine ou l'eau des toilettes.

Prélever immédiatement une petite portion de selles à l'aide d'un bâtonnet de bois ou d'un ustensile de plastique jetable, et déposer ce prélèvement dans le contenant fourni.

- **Culture de bactéries ou de virus :** déposer dans le contenant vide.
  Selles solides : **portion de la taille d'une grosse noix.**
  Selles liquides ou molles : **environ 5 à 10 mL (1 à 2 cuillères à thé).**
- **Recherche de parasites : déposer dans le pot contenant le fixateur SAF.**
  Attention : ne pas boire ce liquide (poison).

  À l'aide de la petite cuillère ou de la fourchette incluse dans le bouchon du contenant SAF, déposer les selles dans le liquide jusqu'à ce que le niveau indiqué sur la bouteille soit atteint **(remplir jusqu'à la ligne). Ne pas dépasser la quantité indiquée.**

  Bien mélanger les selles dans le SAF à l'aide de la petite cuillère (ou de la fourchette) jusqu'à ce que le mélange soit aussi homogène que possible.

Bien fermer chacun des contenants.

Inscrire le nom du patient et la date du prélèvement sur chacun des contenants.

Apporter le ou les spécimens au laboratoire :

- **Culture de bactéries ou de virus** (contenant sans liquide fixateur) :
  - Apporter le spécimen au laboratoire **en moins d'une heure,** si possible[1,3].

  Si le spécimen est apporté au laboratoire **plus d'une heure** après le prélèvement, **conserver au réfrigérateur** jusqu'au moment du transport **(maximum 24 heures)** (sauf pour *Shigella*)[1,3].
- **Recherche de parasites** (contenant avec du **SAF**) :
  - Conserver les spécimens à la **température de la pièce.**
  - Apporter tous les spécimens **en même temps** au laboratoire.

Tableau III

Prélèvement de gorge[1,3]

- Le prélèvement est effectué avec un écouvillon stérile pressé fermement sur toute la surface de la région infectée.
- Les zones d'inflammation sont habituellement situées au fond de la gorge et dans la région des amygdales.
- Un abaisse-langue est utilisé pour faciliter le passage de l'écouvillon.
- Il faut éviter la contamination de l'écouvillon par la flore normale de la bouche en le retirant soigneusement sans toucher les joues, les gencives ni les dents.
- L'écouvillon est inséré dans le tube contenant le milieu de transport approprié.
- Le spécimen est bien identifié : nom du patient et date du prélèvement.
- Le spécimen est apporté au laboratoire rapidement (**si possible, en moins de deux heures**).

Si le spécimen est apporté au laboratoire plus de **deux heures** après le prélèvement, il faut le conserver **au réfrigérateur** jusqu'au moment du transport (**maximum 24 heures**) (sauf pour *Neisseria gonorrhœæ).*

Tableau IV

Prélèvement des expectorations[1,3]

Effectuer le prélèvement, si possible, pendant la première toux profonde du matin.

- Demander au patient de se rincer la bouche avec de l'eau.
- Le faire tousser profondément.
- Recueillir le spécimen directement dans le contenant stérile fourni.
- Fermer hermétiquement le contenant.
- Inscrire le nom du patient et la date du prélèvement sur le contenant.
- Apporter le spécimen au laboratoire rapidement (**si possible, en moins de deux heures**).

Si le spécimen est apporté au laboratoire **plus de deux heures** après le prélèvement, il faut le conserver au réfrigérateur jusqu'au moment du transport (**maximum 24 heures**).

la parasitologie (un spécimen tous les deux à trois jours sur une période maximale de 10 jours)[4,5]. Des spécimens supplémentaires pourront être analysés au besoin, après consultation avec le médecin microbiologiste.

- Le patient ne doit pas trop remplir le contenant ou, au contraire, fournir un volume de spécimen trop faible, qui se desséchera rapidement. Une accumulation de gaz peut se produire dans un contenant fermé, rempli de selles non fixées : à l'ouverture du pot, les selles risquent d'éclabousser le technicien. Si les selles doivent être fixées, les proportions selles-fixateur ne seront plus respectées dans un contenant trop rempli, et la fixation des organismes ne sera pas uniforme, ce qui rendra leur identification plus difficile.

Écouvillonnages rectaux et anaux

- Les écouvillonnages rectaux effectués au-delà du sphincter anal ne sont habituellement pas recommandés pour la recherche de germes entéropathogènes. Ils sont acceptables pour la recherche d'entérocoques résistants à la vancomycine (ERV).
- Les écouvillonnages anaux effectués à la périphérie interne immédiate de l'anus sont adéquats pour la recherche de *Neisseria gonorrhœæ* ou de *Chlamydia trachomatis* par culture (éviter la contamination fécale, si possible)[1].

Prélèvements de gorge et d'expectorations

Les prélèvements de gorge et d'expectorations sont aussi fréquemment effectués ou demandés par les médecins dans les cas d'infection des voies respiratoires supérieures ou inférieures.

Prélèvement de gorge (*tableau III*)

- Utiliser l'écouvillon approprié pour le type de micro-organisme recherché.
- Si une recherche virale est envisagée, il faudra éviter d'utiliser les écouvillons contenant des fibres d'alginate de calcium et ceux qui sont imprégnés de charbon, puisqu'ils peuvent affecter la récupération de certains virus. Les écouvillons dont le bâtonnet est en bois sont toxiques pour les cellules utilisées pour la culture virale[6].

Expectorations (*tableau IV*)

- Les expectorations doivent contenir des sécrétions des voies respira-

toires inférieures en volume suffisant (plus de 1 mL), prélevées idéalement pendant la première toux profonde du matin. Un faible volume de liquide clair représente habituellement de la salive[1].

- Un seul spécimen correctement prélevé suffit pour diagnostiquer les infections bactériennes des voies respiratoires inférieures. Pour la recherche des champignons à l'origine de mycoses profondes (histoplasmose, blastomycose, etc.), d'*Aspergillus* ou de mycobactéries, il est recommandé de prélever trois spécimens le matin (un spécimen par jour)[1].
- Le patient doit se rincer la bouche avec de l'eau ou se gargariser avant le prélèvement pour réduire la contamination par la flore buccale.

Conservation et transport des spécimens au laboratoire

Les modes de conservation et de transport des spécimens dépendent également du type d'analyse demandée. Les spécimens doivent être acheminés au laboratoire dès que possible (idéalement en moins d'une ou deux heures) dans les conditions de température recommandées[1,3]. Si l'on prévoit un retard dans l'acheminement de l'échantillon, il faudra utiliser un milieu de transport approprié ou réfrigérer le spécimen et l'acheminer sur de la glace au laboratoire (certains micro-organismes, comme *Shigella* ou *Neisseria gonorrhœæ*, sont cependant sensibles au froid)[1,3]. Pour utiliser correctement les milieux de transport commerciaux, il faut bien entendu respecter la date de péremption afin d'obtenir des résultats fiables.

Les systèmes de type Culturette® pour les écouvillons sont utilisés couramment : ils contiennent un milieu de transport permettant la conservation de plusieurs agents bactériens. Des milieux de transport spéciaux sont également disponibles pour la conservation des virus prélevés sur écouvillons[1,3]. Ces derniers doivent être acheminés sur glace au laboratoire.

Le fixateur SAF (acétate de **s**odium-acide **a**cétique-**f**ormol) pour la conservation des parasites intestinaux est un milieu de transport fréquemment utilisé. Il existe également des milieux commerciaux pour le transport des selles pour culture d'agents bactériens (milieu de Cary-Blair, par exemple)[5]. Leur usage ne semble cependant pas généralisé dans la pratique courante. Il faut donc acheminer rapidement au laboratoire chacun des spécimens pour recherche de bactéries dans les selles, sans attendre d'obtenir les spécimens subséquents. Les spécimens pour recherche de parasites déposés dans un fixateur peuvent être acheminés tous ensemble à la fin des prélèvements, les organismes y étant préservés. Sauf exception, aucun spécimen de selles ne doit être congelé.

Rejet des spécimens inadéquats

Les laboratoires doivent établir des critères de rejet des spécimens inadéquats (par exemple, un échantillon provenant des voies respiratoires inférieures doit contenir plus de 25 polynucléaires par champ à l'examen microscopique - objectif 10x). Lorsqu'un spécimen inadéquat est rejeté, il faut effectuer un nouveau prélèvement, ce qui est souvent fastidieux pour le patient et retarde l'établissement du diagnostic. S'il est impossible de reprendre le prélèvement et que le spécimen est tout de même analysé, des commentaires en ce sens devraient accompagner les résultats pour mettre en garde le médecin traitant quant à leur validité[1].

VOYONS MAINTENANT les raisons qui pourraient expliquer le résultat négatif obtenu dans notre histoire du début.

1. L'envoi d'un seul échantillon pour examen : le prélèvement de deux spécimens de selles aurait pu augmenter les chances de détecter l'agent étiologique.

2. L'absence de milieu de transport : le milieu de transport permet de mieux conserver les micro-organismes dans les spécimens acheminés au laboratoire dans les 24 heures suivant leur prélèvement.

3. La réfrigération du spécimen : la réfrigération permet de conserver efficacement plusieurs micro-organismes en l'absence de milieu de transport. Certains organismes sont cependant sensibles au froid (comme *Shigella*). L'acheminement rapide (moins d'une

Les spécimens doivent être acheminés au laboratoire dès que possible (idéalement en moins d'une ou deux heures) dans les conditions de température recommandées. Si l'on prévoit un retard dans l'acheminement de l'échantillon, il faudra utiliser un milieu de transport approprié ou réfrigérer le spécimen et l'acheminer sur glace au laboratoire (certains micro-organismes, comme *Shigella* ou *Neisseria gonorrhœæ*, sont cependant sensibles au froid).

Repère

FMOQ – Formation continue
Maladies infectieuses/sida
6 et 7 avril 2000, Centre des congrès, Laval
Renseignements : (514) 878-1911 ou 1 800 361-8499

ou deux heures) des spécimens au laboratoire reste la façon idéale de préserver la qualité du spécimen à analyser.

4. L'absence de mention de la présence de sang dans les selles sur le formulaire de demande : cette mention aurait amené le personnel du laboratoire à faire la recherche de *E. coli* O157:H7 en utilisant des milieux de culture spéciaux.

5. L'absence de demande d'analyse précise : la recherche de toxine de *C. difficile*, par exemple, sera faite uniquement si l'on en fait la demande. Les conditions de recherche de *E. coli* O157:H7, quant à elles, varient d'un laboratoire à l'autre. Parfois, celle-ci n'est effectuée qu'à certaines périodes de l'année (l'été, par exemple) ou qu'en présence de sang dans les selles (observée par la technologiste ou mentionnée dans le formulaire), de même que dans les cas de syndrome hémolytique et urémique.

6. La nature du germe : le germe pathogène était peut-être un parasite ou un virus ; les gastro-entérites virales sont cependant plus fréquentes l'hiver.

Vous comptez sur le laboratoire pour vous aider à effectuer votre diagnostic ? Le laboratoire compte également sur vous pour lui fournir l'information pertinente et un spécimen de qualité ! C'est une affaire de partenariat ! □

Date de réception : 13 octobre 1999.
Date d'acceptation : 5 décembre 1999.

Mots clés : prescription d'analyses microbiologiques, prélèvement, conservation, transport des spécimens.

Bibliographie

1. Miller JM. A *Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology*. 2e éd. Washington : ASM Press, 1999.
2. Wilson ML. General principles of specimen collection and transport. *Clinical Infectious Diseases* 1996 ; 22 : 766-77.
3. Miller JM, Holmes HT. Specimen collection, transport, and storage. Dans : Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, réd. *Manual of Clinical Microbiology*. 7e éd. Washington : ASM Press ; 1999 : 33-63.
4. Garcia LS, Bullock-Iacullo S, Palmer J, Shimizu RY. Diagnosis of parasitic infections: collection, processing, and examination of specimens. Dans : Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, réd. *Manual of Clinical Microbiology*. 6e éd. Washington : ASM Press 1995 : 1145-58.
5. Hines J, Nachamkin I. Effective use of the clinical microbiology laboratory for diagnosing diarrheal diseases. *Clinical Infectious Diseases* 1996 ; 23 : 1292-301.
6. Lennette DA. Collection and preparation of specimens for virological examination. Dans : Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, réd. *Manual of Clinical Microbiology*. 6e éd. Washington : ASM Press 1995 : 868-75.

Summary

Microbiological specimens: a matter of culture...! Microbiological analyses are often helpful to establish or confirm a clinical diagnosis. However, communication between the physician and the laboratory is essential. The laboratory requisition form is the best means for the physician to supply specific and critical information. Moreover, microorganisms or biological material (toxins, antigens, antibodies, etc.) may not resist to environmental changes in temperature, pH, moisture, etc. Appropriate selection, collection, storage and transport of the specimens to the clinical microbiology laboratory are therefore critical to ensure clinically relevant results. Furthermore, contamination of the specimens by the normal flora must be avoided. This article summarizes some of the practical guidelines in specimen management to ensure reliability and cost-effectiveness of microbiological testing.

Key words : specimen collection, storage, transport, microbiological analyses request.