

PHASE PRE-ANALYTIQUE POUR LES ANALYSES DE MICROBIOLOGIE

PROCEDURES ET RECOMMANDATIONS

TABLE DES MATIERES :

PREAMBULE	2
FROTTIS DIVERS	7
PUS, ABCES, AUTRES PRELEVEMENTS PROFONDS	8
TISSUS	9
EXPECTORATION ET AUTRES PRELEVEMENTS PULMONAIRES	10
URINE.....	11
SELLES	13
HEMOCULTURES ET LCR	14
LIQUIDE DE PONCTION	15
SPERME	16
CORPS ETRANGERS	17
RECHERCHE DE MYCOBACTERIES	18
RECHERCHE DE PARASITES	19
RECHERCHE DE CHAMPIGNONS DANS PEAU ET SES ANNEXES.....	21

REFERENCES :

- 1 REMIC. Référentiel en microbiologie médicale. Edition courante.
- 2 Essential Procedures for Clinical Microbiology. Edition courante.
- 3 Manual of Clinical Microbiology. Edition courante.

PREAMBULE

L'objectif principal des analyses de microbiologie est de mettre en évidence et d'identifier les microorganismes pathogènes et de déterminer leurs sensibilités aux antibiotiques. La qualité des résultats dépend ainsi étroitement de celle des phases pré-analytique et analytique, ainsi que de la validation des résultats.

Nous voulons attirer votre attention aux aspects critiques de la phase pré-analytique. La rédaction de la prescription, l'exécution du prélèvement, ainsi que la conservation et le transport de l'échantillon sont les grandes étapes pré-analytiques qui peuvent influencer la qualité du résultat. Ainsi, nous avons voulu rassembler dans cette rubrique les informations utiles pour la réalisation adéquate des actions pré-analytiques. Nous sommes certains de ne pas avoir été exhaustifs et que vous ne trouvez pas une réponse à une situation particulière. Dans ce cas, n'hésitez pas à nous contacter pour tout renseignement particulier ou pour nous faire part de vos suggestions.

Dans ce chapitre vous trouverez un aperçu des étapes pré-analytiques, avec les principaux conseils. Dans les chapitres suivants, sont expliquées les techniques de réalisation des différents prélèvements. En annexe, est fourni un tableau qui montre quel type de matériel de prélèvement doit être utilisé par localisation anatomique et selon la présentation clinique. Il nous a semblé utile d'y indiquer aussi les germes les plus fréquemment rencontrés dans ces pathologies.

Dans ces documents vous trouverez tous les renseignements suivants :

- les informations à fournir lors de la rédaction de la prescription
- le matériel de prélèvement à utiliser
- la procédure de prélèvement
- la quantité d'échantillon nécessaire
- les conditions de conservation au cabinet
- les conditions de transport
- le délai maximal pour réaliser une analyse
- le délai de conservation des échantillons au laboratoire

Aperçu des étapes pré-analytiques :

Prescription médicale :

La feuille de prescription doit contenir les informations nécessaires pour identifier le patient et le prescripteur autorisé. Elle doit également fournir les données cliniques pertinentes.

Afin de réaliser correctement les analyses, les éléments qui doivent figurer sur la feuille de prescription sont les suivants :

1. L'identification univoque du patient.
2. Le nom du prescripteur et le(s) destinataire(s) des résultats.
3. Le type de spécimen et le site anatomique d'origine.
4. La nature des analyses prescrites.
5. Les renseignements cliniques relatifs au patient, comprenant au minimum le sexe et la date de naissance.
6. La date et l'heure de prélèvement.

Exécution du prélèvement :

1. Le prélèvement doit être effectué dès le début du processus infectieux.
2. Le prélèvement doit être effectué avant l'administration d'agents antimicrobiens.
3. En cas d'échec d'un traitement préventif ou curatif institué sans analyse microbiologique préalable, celui-ci doit être idéalement interrompu avant de réaliser le prélèvement.

Le site du prélèvement :

1. Le site anatomique le plus approprié est généralement le foyer infectieux initial lui-même et ses localisations secondaires.
2. Les prélèvements de la porte d'entrée, des voies d'excrétion ou d'évacuation de l'infection (fistule, drainage) peuvent être réalisés, mais l'interprétation des résultats de leur analyse peut être difficile car il s'agit souvent de sites plurimicrobiens.
3. Le prélèvement des liquides de drainage recueillis dans les collecteurs est inutile car les souches isolées sont représentatives des espèces les plus aptes à se multiplier secondairement et non de celles des microorganismes présents dans les lésions profondes

Les méthodes de prélèvement :

1. Meditest fournit tout le matériel nécessaire au prélèvement.
2. Les prélèvements seront réalisés avec du matériel stérile à usage unique et non périmé.
3. Les prélèvements invasifs (ponction, aspiration, biopsie ou chirurgie) sont les mieux interprétables.
4. Si la recherche de bactéries anaérobies strictes est envisagée, les échantillons doivent être immédiatement conditionnés en évitant tout contact avec l'air.
5. Le prélèvement par écouvillonnage (frottis) est une technique très utilisée pour récupérer du matériel biologique de pratiquement toutes les parties du corps (plaies, muqueuses, cavités, etc.). Cependant, l'écouvillonnage présente le désavantage de ne permettre que la récolte d'un faible volume d'échantillon.

La contamination des prélèvements :

1. En dehors de prélèvements dans une zone anatomique normalement aseptique, l'accès au site de prélèvement passe au travers d'une zone anatomique dotée de sa propre flore commensale. Des précautions particulières doivent alors être prises pour éviter la contamination du prélèvement.
2. Afin de réduire au maximum l'interférence de ces flores, trois stratégies sont utilisées. Il est possible de protéger le dispositif de prélèvement (brosses ou cathéters télescopiques), d'éliminer le plus de flore commensale (rinçage, usage d'antiseptiques, d'utiliser des conditions de culture inhibant en partie la flore commensale).
3. L'écouvillonnage de l'orifice d'une fistule a plus de risque de contenir des bactéries commensales non pathogènes que l'échantillon prélevé de façon invasive par passage au travers de la peau ou d'une muqueuse saine (curetage ou biopsie).

Délai de transport et conservation des échantillons

1. En règle générale, les bactéries ne résistent pas à la dessiccation et au froid, en particulier lorsque de petits volumes d'échantillons sont prélevés.
2. Idéalement, les petits échantillons et les biopsies doivent être acheminés au laboratoire en moins de 2 heures, afin de préserver la survie des microorganismes les plus fragiles et d'éviter qu'ils ne soient inhibés par des bactéries plus résistantes à l'environnement extérieur.
3. Des milieux de transport doivent être utilisés dans le cas d'infections probablement causées par des bactéries fragiles, ou pour des délais de transport de plus de 2 heures.
4. Sans indications particulières le délai maximal acceptable entre le prélèvement et l'analyse d'un échantillon conservé en atmosphère réfrigérée est de 24 heures.

Les transferts d'échantillons et sécurité :

1. L'emballage et la signalisation des échantillons doivent permettre l'identification correcte au laboratoire, l'intégrité du matériel biologique et la sécurité du personnel. D'autre part, ils doivent garantir la viabilité des microorganismes à cultiver
2. Tout produit pathologique doit être considéré comme potentiellement infectieux et donc dangereux.
3. Tout récipient doit être fermé hermétiquement, pour ne pas contaminer l'extérieur des flacons ou des tubes.
4. Il ne faut pas transporter une seringue avec son aiguille. Celle-ci doit être retirée grâce à un dispositif de sécurité. La seringue, purgée d'air, doit être obturée stérilement, puis placée dans un sac plastique fermé hermétiquement.

Risques d'erreurs

Les circonstances liées au prélèvement peuvent conduire à des résultats peu satisfaisants. A titre indicatif nous signalons les situations suivantes :

1. Traitement antibiotique en cours au moment du prélèvement.
2. Application locale de produits anesthésiques sur les lésions avant le prélèvement.
3. Utilisation d'une solution contenant un antiseptique pour recueillir l'échantillon.
4. Conditionnement dans un milieu de transport inapproprié.
5. Les difficultés de prélèvement qui peuvent rendre impossible l'obtention d'un échantillon représentatif du processus infectieux.
6. La contamination par la flore endogène de certains sites de prélèvement.

Situations qui peuvent justifier le refus d'une analyse

1. Le laboratoire peut refuser de procéder à l'analyse de certains prélèvements quand les conditions de prélèvement, de transport et de conservation sont préjudiciables à la sécurité de l'analyse et à la validité des résultats.
2. L'analyse d'échantillons non représentatifs du processus infectieux peut donner des résultats inappropriés conduisant à des erreurs de diagnostic et à des traitements inadaptés.
3. Le prescripteur est systématiquement informé du problème. S'il souhaite néanmoins que l'analyse soit effectuée, le résultat sera rendu avec une mention « Résultat sous réserve ».

Les conditions habituelles de refus sont les suivantes (liste non exhaustive) :

1. échantillons non étiquetés ou improprement étiquetés
2. échantillons reçus dans des récipients endommagés et non étanches
3. échantillons visiblement contaminés
4. échantillons reçus au-delà des délais maximaux recommandés.
5. échantillons pas conservés dans les conditions recommandées.
6. échantillons inappropriés aux analyses prescrites.
7. échantillons multiples dans un délai très court (à l'exception des hémocultures, LCR et tout nouveau prélèvement justifié par l'aggravation de la situation clinique)

FROTTIS DIVERS

Remarques préliminaires

1. Le prélèvement par écouvillonnage (frottis) est une technique très utilisée pour récupérer du matériel biologique de pratiquement toutes les parties du corps (plaies, muqueuses, cavités, etc.).
2. Utiliser l'écouvillon standard avec gélose de transport.
3. Au niveau des plaies, il faut prélever le matériel à la limite de la zone saine et pas dans la nécrose.
4. Le liquide de ponction ou le tissu est préférable au frottis. Dans ce cas, il faut mettre l'échantillon dans un flacon contenant une solution physiologique stérile.
5. Mentionner sur la demande d'analyse toutes les informations cliniques susceptibles de faciliter l'analyse (localisation précise, anamnèse, traitement antibiotique en cours ou prévu, etc.).

Technique de prélèvement avec frottis pour culture bactériologique

1. Préparer l'écouvillon standard avec gélose de transport.
2. Incrire nom et date.
3. En cas de surfaces sèches, humecter l'écouvillon de solution physiologique stérile avant le prélèvement.
4. Si nécessaire (présence de crème et tout type de souillure), nettoyer la région avec une solution physiologique stérile.
5. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo pour éviter une prolifération trop importante de la flore commensale.
6. Mentionner toute demande spéciale (recherche de champignons, mycobactéries, méningocoques, etc.).

Cas particulier du frottis de gorge

1. Préparer l'écouvillon standard avec gélose de transport.
2. Incrire nom et date.
3. Frotter fort au niveau des deux amygdales et de la paroi postérieure de la muqueuse pharyngée.

Eviter le contact avec la langue et les joues (au besoin s'aider d'un abaisse-langue).

PUS, ABCES, AUTRES PRELEVEMENTS PROFONDS

Remarques préliminaires

1. Les ponctions de pus et d'autres prélèvements profonds sont préférables au frottis. Dans ce cas, il faut mettre l'échantillon dans un flacon stérile.
2. Mentionner sur la demande d'analyse toutes les informations cliniques susceptibles de faciliter l'analyse (localisation précise, anamnèse, traitement antibiotique en cours ou prévu, etc.).

Technique de prélèvement pour culture bactériologique

1. Préparer un flacon stérile.
2. Inscrire nom et date.
3. Si nécessaire (présence de crème et tout type de souillure), nettoyer la région avec une solution physiologique stérile.
4. Prélever plusieurs ml d'échantillon.
5. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo pour éviter une prolifération trop importante de la flore commensale.

Mentionner toute demande spéciale (recherche de champignons, mycobactéries, méningocoques, etc.).

TISSUS

Remarques préliminaires

1. Les prélèvements de tissus sont préférables au frottis. Dans ce cas, il faut mettre l'échantillon dans un flacon contenant une solution physiologique stérile.
2. Mentionner sur la demande d'analyse toutes les informations cliniques susceptibles de faciliter l'analyse (localisation précise, anamnèse, traitement antibiotique en cours ou prévu, etc.).

Technique de prélèvement avec frottis pour culture bactériologique

1. Préparer un flacon stérile contenant une solution physiologique stérile.
2. Inscrire nom et date.
3. Si nécessaire (présence de crème et tout type de souillure), nettoyer la région avec une solution physiologique stérile.
4. Prélever aseptiquement le tissu.
5. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo pour éviter une prolifération trop importante de la flore commensale.
6. Mentionner toute demande spéciale (recherche de champignons, mycobactéries, méningocoques, etc.).

EXPECTORATION ET AUTRES PRELEVEMENTS PULMONAIRES

Remarques préliminaires

1. La qualité de l'expectoration est déterminée au laboratoire par un examen direct. En présence de plus de 25 cellules épithéliales et de moins de 25 leucocytes par champ au microscope à la coloration de Gram, l'expectoration est considérée comme contaminée par la flore salivaire.
2. Préciser sur la demande d'analyse s'il s'agit d'un examen de routine ou d'une recherche de Mycobactéries.
3. Ne pas mélanger différentes expectorations.
4. Pour le prélèvement de lavages broncho-alvéolaires et de lavages bronchiques, se référer aux procédures du fabricant des instruments.
5. Idéalement, les échantillons d'origine pulmonaire devraient être conservés à température ambiante et acheminés rapidement au laboratoire. En effet ils peuvent contenir des bactéries pathogènes fragiles, telles que *Haemophilus influenzae*.

Technique de récolte des expectorations pour culture bactériologique

1. Préparer un récipient stérile.
2. Inscrire nom et date.
3. Rincer la bouche et la gorge par une solution physiologique pour éviter une contamination salivaire ou par les voies aériennes supérieures.
4. Recueillir à jeun (spontanément ou par physiothérapie), les sécrétions mucopurulentes profondes dans un récipient stérile.
5. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé (Ex. : 3 échantillons pour la recherche de mycobactéries) conserver au frigo pour éviter une prolifération trop importante de la flore commensale.

URINE

Remarques préliminaires

1. Si le prélèvement est réalisé par le patient lui-même, une information détaillée, orale ou écrite lui sera donnée lors de chaque prélèvement, de plus on s'assurera que le patient a parfaitement compris la méthode.
2. Avant le prélèvement, procéder à une toilette soignée, particulièrement chez la femme (cf. technique de récolte).
3. Recueillir les premières urines du matin (les numérations y sont plus élevées à cause de la croissance pendant la nuit) ou pendant la journée après une rétention urinaire d'au moins 4 heures permettant ainsi une multiplication bactérienne dans la vessie.
4. Transporter rapidement le matériel au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo. Eviter la multiplication des germes de contamination lors d'un délai d'acheminement trop long à température ambiante (utiliser alors un Uricult).
5. Demandes spéciales :
 - a. Pour la recherche de Chlamydia, préférer le premier jet des premières urines du matin (10-20ml).
 - b. Pour la recherche de Mycobactéries récolter chaque jour pendant 3 jours successifs les premières urines du matin (30-50ml).
 - c. Pour la recherche de Legionella récolter les urines natives (10-20ml).

Technique de récolte d'urine pour culture bactériologique

1. Se laver les mains au savon puis les sécher avec une serviette en papier jetable.
2. Préparer le matériel nécessaire à proximité, le récipient (Urobox, fourni par le laboratoire) pour récolter l'urine, sans toucher les bords du récipient avec les vêtements.
3. Inscrire nom et date.
4. Placer le matériel en face de soi.

Pour les hommes :

5. Ramener le prépuce en arrière, laver le gland au savon et à l'eau.
6. Uriner et recueillir le milieu du jet dans le récipient fourni.

Pour les femmes :

7. S'asseoir sur les toilettes, les jambes écartées.
8. Prendre une lingette dans la main.
9. Ecarter avec l'autre main les lèvres et maintenir les lèvres écartées tout au long du prélèvement.
10. Nettoyer la vulve soigneusement par un mouvement d'avant en arrière et laisser tomber la lingette dans la cuvette.
11. Répéter le même geste avec un tampon d'ouate humide.
12. Commencer à uriner (miction), laisser partir dans la cuvette la première moitié des urines.
13. Lorsqu' on arrive au milieu de la miction, récolter l'urine dans le récipient propre (Ex. : un gobelet plastic) fourni, en veillant à ce que le récipient ne soit pas en contact avec le corps ou les habits.
14. Fermer le récipient en évitant de toucher l'intérieur du bouchon ou les bords supérieurs du récipient.

Ensemencement de l'uricult

1. S'assurer au préalable que l'uricult n'est pas contaminé, ni desséché, ni périmé.
2. Inscrive nom et date.
3. Tremper entièrement la lame gélosée dans un récipient stérile contenant l'urine fraîchement émise pendant 3-5 secondes.
4. Laisser s'égoutter l'excédent d'urine.
5. Transférer la lame dans son tube et visser fermement.
6. Vider soigneusement le tube de tout reste d'urine.
7. Incuber à 35-37°C, noter la numération et si positif et non contaminé l'envoyer au laboratoire.

SELLES

Remarques préliminaires

1. La bactériologie courante comprend la recherche systématique de *Salmonella*, *Shigella* et *Campylobacter*.
2. Mentionner les demandes spéciales et toutes indications cliniques (séjour en zone tropicale, antibiothérapie, éosinophilie) sur la feuille de demande d'analyse.
3. La recherche de *Clostridium difficile* est indiquée pendant ou après une antibiothérapie ou une chimiothérapie.
4. Si nécessaire, procéder à plusieurs prélèvements comme suit:
 - a. Parasites: 1 selle par jour, 3 jours différents.
 - b. *Clostridium difficile*: attendre 2 jours entre chaque prélèvement.
5. Eviter pour les recherches de parasites, la prise par le patient de médicaments à base de charbon, de bismuth, de magnésium ou d'huile de paraffine ainsi qu'une alimentation riche en fruits et en légumes verts durant les quelques jours précédant l'analyse.
6. Adresser l'échantillon dès que possible au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver le prélèvement à température ambiante, au maximum 24 heures. Pour *Clostridium difficile*, si l'analyse ne peut être effectuée le jour même, congeler l'échantillon.

Technique de récolte des selles pour culture bactériologique

1. Préparer un récipient propre et transparent, permettant l'examen macroscopique. Utiliser de préférence le milieu de transport SAF pour la recherche de parasites.
2. Inscrive nom et date.
3. Si les selles sont solides, transférer une quantité équivalente à une noisette. Si les selles sont liquides, remplir la moitié du flacon. Un prélèvement optimal s'effectue par petites portions à plusieurs endroits des selles.

HEMOCULTURES ET LCR

Hémocultures : remarques préliminaires

1. Effectuer le prélèvement avant le début de l'antibiothérapie.
2. Prélever les hémocultures pendant une période fébrile, au début de la montée de fièvre et lors du frisson.
3. Prélever 3 x 2 bouteilles, un flacon aérobie et un flacon anaérobie pour les adultes, un flacon pédiatrique pour les enfants.
4. Selon le contexte clinique, procéder à plusieurs prélèvements (2-3x) espacés d'au moins une demi-heure.
5. Indiquer une suspicion d'endocardite, de fongémie ou de brucellose.

Technique de récolte des hémocultures

1. Préparer une paire de bouteilles d'hémoculture.
2. Vérifier la date de péremption et l'état du contenu des bouteilles.
3. Préparer le matériel de prise de sang.
4. Inscrire nom et date.
5. Désinfecter les bouchons.
6. Désinfecter le site de ponction.
7. Saisir le flacon aérobie et l'engager à fond dans le corps de pompe pour perforer le bouchon et laisser couler le sang. Répéter l'opération avec le flacon anaérobie. Ne pas aérer.
8. Collecter 10 ml par bouteille (adulte et grand enfant) ou 1-2 ml (enfants).
9. Agiter les flacons d'hémoculture immédiatement après le prélèvement du sang.
10. Acheminer rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, à température ambiante, au maximum 24 heures.

LCR : remarques

1. Le LCR est un matériel extrêmement précieux à traiter en priorité.
2. Le LCR doit être transporté au laboratoire dans les plus brefs délais.
3. L'échantillon ne doit en aucun cas être conservé au frigo.
4. Prélever plusieurs ml d'échantillon.
5. Le prélèvement est effectué selon les procédures médicales standards et le LCR est récupéré dans un flacon stérile.

LIQUIDE DE PONCTION

Remarques

1. Les liquides de ponction sont généralement soumis à différentes analyses. Il est nécessaire de prélever le liquide dans les tubes listés ci-dessous (Tableau 1).
2. Les liquides de ponction doivent être transportés au laboratoire dans les plus brefs délais.
3. L'échantillon ne doit en aucun cas être conservé au frigo.

Tableau 1 : Tubes de prélèvement	
Examen microscopique (leucocytes, érythrocytes, numération et répartition)	Tube EDTA
Recherche de cristaux, examen macroscopique et test à la mucine	Tube à sérum
Examen microbiologique	Tube stérile

SPERME

Remarques

1. Il est indispensable de communiquer au patient la procédure à suivre pour obtenir un prélèvement exempt de contamination par la flore bactérienne de la peau.
2. Dès la veille du prélèvement, le patient doit boire suffisamment afin d'uriner fréquemment, pour permettre le rinçage de l'urètre. Le patient doit uriner une dernière fois durant la demi-heure qui précède la récolte de sperme.
3. Avant le prélèvement, le patient doit se laver soigneusement les mains et le pénis, en prenant soin de retrousser le prépuce, rincer abondamment et sécher.

Technique de récolte du sperme

1. Préparer un flacon stérile
2. Inscrive nom et date.
3. Récupérer le flacon et acheminer rapidement au laboratoire.
4. En cas d'envoi différé garder le prélèvement au frigo et l'acheminer dans les 24 heures au laboratoire

CORPS ETRANGERS

Remarques préliminaires

1. Sont considérés des corps étrangers les cathéters, les drains, les stérilets, etc.
2. L'envoi du corps étranger est préférable au frottis. Dans ce cas, il faut mettre le matériel dans un flacon stérile.
3. Mentionner sur la demande d'analyse toutes les informations cliniques susceptibles de faciliter l'analyse (localisation précise, anamnèse, raison du retrait du corps étranger, traitement antibiotique en cours ou prévu, etc.).

Technique de prélèvement de corps étrangers pour culture bactériologique

1. Préparer un flacon stérile.
2. Incrire nom et date.
3. Si nécessaire (présence de crème et tout type de souillure), nettoyer la région avec une solution physiologique stérile. Pour les cathéters, la pointe et le segment près de la peau est la partie à analyser. Couper cette région avec des ciseaux stériles. Le stérilet entier doit être adressé pour analyse.
4. Prélever aseptiquement le matériel.
5. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo pour éviter une prolifération trop importante de la flore commensale.
6. Mentionner toute demande spéciale (recherche d'actinomycètes, de champignons, de mycobactéries, etc.).

RECHERCHE DE MYCOBACTERIES

Remarques préliminaires

1. Les mycobactéries peuvent être prélevées à partir de différents sites anatomiques. Dans ce chapitre sont présentés les principaux sites anatomiques. Pour les recherches particulières, prière de contacter le laboratoire.
2. L'envoi du corps étranger est préférable au frottis. Dans ce cas, il faut mettre le matériel dans un flacon stérile.
3. Mentionner sur la demande d'analyse toutes les informations cliniques susceptibles de faciliter l'analyse (localisation précise, anamnèse, raison du retrait du corps étranger, traitement antibiotique en cours ou prévu, etc.).

Technique de prélèvement des échantillons pour la recherche de mycobactéries

1. Préparer un flacon stérile.
2. Inscrire nom et date.
3. Expectoration : Rincer la bouche et la gorge par une solution physiologique pour éviter une contamination salivaire ou par les voies aériennes supérieures. Prélever la première expectoration du matin (10 ml). Répéter l'opération 3 fois pendant trois jours.
4. Urine : Prélever la première urine du matin (30 ml). Répéter l'opération 3 fois pendant trois jours.
5. Suc gastrique : prélevé à jeun dès le réveil (30 ml). Répéter l'opération 3 fois pendant trois jours.
6. Selles : comme pour une culture coprologique standard.
7. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo pour éviter une prolifération trop importante de la flore commensale.

RECHERCHE DE PARASITES

Remarques préliminaires

1. Selon le parasite recherché, le matériel et la méthode de prélèvement varie.
 - a. Recherche de vers et d'amibes dans les selles selles
 - b. Recherche d'oxyures scotch test
 - c. Recherche de parasites sanguins sang avec EDTA
 - d. Identification de vers vers
 - e. Ectoparasites parasite
2. Mentionner sur la demande d'analyse toutes les informations cliniques susceptibles de faciliter l'analyse (anamnèse, traitement antiparasitaire en cours ou prévu, voyage en pays tropicaux, etc.). Le statut immunitaire (séropositivité) est aussi utile.
3. Pour les parasites sanguins il faut tenir compte des recommandations suivantes. Pour la recherche de *Plasmodium* (malaria) il faut prélever le sang à des intervalles de 8 à 12 heures pendant 2 à 3 jours (la parasitémie peut fluctuer). Pour la recherche de filaires le prélèvement doit être effectué pendant le jour, sauf pour *Wuchereria bancrofti* (pendant la nuit).
4. Pour les parasites sanguins seule la prise de sang est décrite. Pour tout renseignement concernant la préparation du frottis sanguin ou d'une goutte épaisse, prière de s'adresser directement au laboratoire.
5. Pour tout renseignement concernant le prélèvement d'un abcès hépatique ou d'une biopsie pour recherche de parasites, prière de s'adresser directement au laboratoire.

Technique de prélèvement pour la recherche de vers et d'amibes dans les selles

1. Préparer un flacon à selles stérile ou un tube contenant 10 ml de SAF (envoi différé).
2. Incrire nom et date.
3. Si les selles sont solides, transférer une quantité équivalente à une noisette. Si les selles sont liquides, remplir la moitié du flacon. Un prélèvement optimal s'effectue par petites portions à plusieurs endroits des selles.
4. Répéter trois fois le prélèvement à un jour d'intervalle pour exclure une infection parasitaire.
5. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo.

Technique de prélèvement pour la recherche d'oxyures

1. Idéalement, effectuer l'analyse le matin au réveil du patient.
2. Préparer une lame de microscopie et du scotch transparent.

3. Inscrire nom et date.
4. Appliquer la face adhésive du scotch au sur la région périanale.
5. Coller le scotch sur la lame de microscopie.
6. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo.

Technique de prélèvement pour la recherche de parasites sanguins

1. Préparer le matériel pour une prise de sang (tube avec EDTA).
2. Inscrire nom et date.
3. Prélever 10 ml de sang
4. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo.

Technique de prélèvement pour l'identification de vers

1. Préparer un flacon stérile contenant une solution physiologique stérile.
2. Inscrire nom et date.
3. Transférer le vers dans le flacon
4. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo.

Technique de prélèvement pour l'identification d'actoparasites

1. Préparer un flacon stérile contenant de l'alcool éthylique à 70 % ou .un peu de papier filtre humide
2. Inscrire nom et date.
3. Transférer le vers dans le flacon.
4. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo.

RECHERCHE DE CHAMPIGNONS SUR LA PEAU ET SES ANNEXES

Remarques préliminaires

1. Dans ce chapitre est présentée la marche à suivre pour le prélèvement d'échantillons de peau et de ses annexes (ongles, cheveux et poils) pour la recherche de champignons.
2. Pour la recherche de champignons dans les autres régions anatomiques il faut se référer à d'autres chapitres (« Frottis divers » pour les prélèvements sur des muqueuses ou dans les oreilles ; « Expectorations et autres prélèvements pulmonaires », « selles », etc.)
3. Un nettoyage préalable avec de l'alcool à 70% est permis d'éliminer toute contamination de surface.
4. Au niveau de la peau il faut éliminer les grosses pellicules, les croûtes, les plaques macérées.

Technique de prélèvement pour la recherche de champignons

1. Préparer une boîte pour prélèvement dermatologiques (fournie par le laboratoire).
2. Inscrire nom et date.
3. Peau : avec un scalpel ou une lame de microscopie, gratter la périphérie de la lésion afin de récupérer quelques dizaines de squames.
4. Cheveux et poils : avec une pincette, extraire une dizaine de cheveux ou poils, en veillant à obtenir aussi la racine. Il faut veiller à récolter uniquement des souches cassantes et en mauvais état.
5. Ongles : avec un scalpel stérile prélever la partie de l'ongle qui est à l'interface entre les régions saine et atteinte. Veiller à récupérer la matrice de l'ongle.
6. Acheminer le prélèvement rapidement au laboratoire. En cas d'envoi différé, conserver au frigo.