



1. Objet et Domaine d'application :

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

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

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.

2. Documents de référence et Documents associés :

Rémic 2018

SF2H : Société Française de Hygiène Hospitalière : surveiller et prévenir les infections associées aux soins – septembre 2010.

SF2H Antiseptie de la peau saine avant un geste invasif chez un adulte – mars 2016

EN-GE-017 Table de préconisation

CH-FLERS-EN 311 Antiseptiques disponibles au CH de Flers

CH-FLERS PROC 026 Utilisation des antiseptiques : les 10 commandements

3. Responsabilités :

Les prélèvements sont réalisés sous la responsabilité du biologiste et sont pratiqués par le personnel autorisé.

4. Déroulement de l'activité :

5.1 Indications

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

- affirmer la présence de bactéries / levures dans le sang
- rechercher et préciser l'étiologie d'une endocardite infectieuse
- orienter la recherche du foyer infectieux indéterminé
- apporter une aide à la conduite du traitement antibiotique ou antifongique.

L'hémoculture fait partie des 4 actions médicales obligatoires à mettre en œuvre dans les 3h suivant la prise en charge d'un sepsis.



5.2 Ordre et volume de prélèvement

- Prélever les hémocultures avant tout autre type de tubes de prélèvement sanguin afin de limiter les contaminations
- **Prélever le flacon aérobie avant le flacon anaérobie si utilisation d'un dispositif à ailettes afin de purger d'air la tubulure dans le flacon aérobie (l'inverse si prélèvement à la seringue afin d'éviter toute admission d'air)**
- 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 à 60 mL** soit **2 à 3 couples** (1 couple = 1 aérobie + 1 anaérobie) avec **8 à 10 mL** par flacon (= **2 graduations de 5 mL** indiquées sur le côté du flacon + trait blanc indiquant le niveau à atteindre) en un **prélèvement unique** (sensibilité équivalente à des prélèvements multiples et limitation du nombre de contamination).



Ou

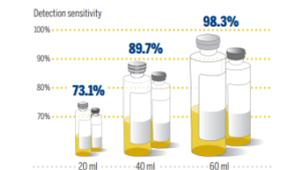


si > 8 mL / flacon



Figure 2 : % de sensibilité cumulée selon le nombre de set de flacons d'hémoculture prélevés⁽¹⁷⁾

Adapted from Lee et al. Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures Are Needed?
J Clin Microbiol. 2007; 45:3540-3543



- En pédiatrie, le volume de sang doit être compris entre 1 et 4 mL mais on peut adapter le volume en fonction du poids de l'enfant car chez ce dernier, la concentration bactérienne est plus importante que chez l'adulte et elle diminue avec l'âge.

Poids de l'enfant	Flacons à prélever		Nombre de flacons	Volume de sang / flacon	Volume total	
1,5 - 5	Pédiatrique	PF PLUS	1		3 mL	3 mL
5,1 - 15	Aérobie + anaérobie	FA PLUS + FN PLUS	1+1		5 mL	10 mL
15,1-30	Aérobie + anaérobie	FA PLUS + FN PLUS	2+2	x 2	5 mL	20 mL
>30	Aérobie + anaérobie	FA PLUS + FN PLUS	2+2	x 2	10 mL	40 mL



5.3 Nombre de prélèvements et moment de réalisation

	Mode de prélèvement	Nombre de flacons	Quand?	Remarques
Diagnostic des bactériémies et fongémies	Unique Ponction veineuse périphérique	2 à 3 couples (4 à 6 flacons au même moment) 	Avant toute antibiothérapie	Chez les patients à capital veineux pauvre et bénéficiant de dispositifs intra vasculaires, revenir à 3 séries d'hémocultures sur 3 sites différents par l'intermédiaire des cathéters intra vasculaires.
Diagnostic bactériologique d'une endocardite	Multiple	3 couples Sur 24 heures	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. Préciser la suspicion d'endocardite sur le bon de demande du laboratoire.
Diagnostic des infections microbiennes liées à un dispositif intra-vasculaire (cathéter, chambre implantable, picline)	2 couples d'hémocultures : un sur ponction veineuse périphérique et l'autre sur le matériel Simultanément (< 10 min)	1 couple en périphérie et 1 couple sur matériel 	Simultanément Avant toute antibiothérapie	Purger le matériel avant prélèvement Prélever le même volume sur les flacons. Prélèvements réalisés simultanément, correctement identifiés (site de prélèvement précisé) et acheminés en même temps au laboratoire.

1 couple = 1 flacon aérobie **bouchon vert** + 1 flacon anaérobie **bouchon orange**

Reprélèvement :

- 1) Incubation en cours : non justifié si volume adéquat
- 2) Hémocultures négatives : non justifié si procédure diagnostique optimale, état clinique du patient stable ou en amélioration ou absence de nouvel évènement bioclinique en faveur d'une infection non contrôlée



- 3) Hémocultures positives : justifié pour s'assurer de la négativation des hémocultures à *S. aureus* ou *Candida sp.* ou en cas d'endocardite infectieuse 2 à 4 jours après le début du traitement et jusqu'à l'obtention d'hémocultures négatives
- 4) Nouvel épisode (au moins 48h d'apyrexie par rapport à l'épisode précédent) : justifié si le contexte clinique le justifie

5.4 Matériel nécessaire

Flacons d'hémocultures aérobie ± anaérobie :	Savon antiseptique
Adulte aérobie BactAlert FA Plus 	Antiseptique alcoolique de la même gamme
Adulte anaérobie BactAlert FN Plus 	Sérum physiologique (1 dosette)
Pédiatrie aérobie BactAlert PFPlus 	Aiguille type épicroânienne protégée
	Gants non stériles (ou si besoin, stériles)
	Compresses stériles
	Pansement ou sparadrap
	Container pour objets piquants, coupants ou tranchants
Adaptateur BactAlert universel	Sac Dasri
	Sac ordures ménagères



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 par couple d'hémocultures** même si les flacons sont prélevés au même moment):
 - coller *l'étiquette patient*,
 - indiquer le *site anatomique d'origine* (périphérique, cathéter...),
 - la *date et l'heure* du prélèvement,
 - la *température* du patient,
 - les *noms du préleveur et prescripteur*,
 - les *renseignements cliniques et un éventuel traitement antibiotique*.

Pour qu'un allongement de la durée d'incubation sur automate soit effectué au laboratoire (30 jours) :

suspicion d'endocardites
recherche de fongémies
recherche de Brucella
recherche d'une bactérie spécifique
don d'organe

cocher la case spécifique ou le préciser sur le bon de demande

- Vérifier la **date de péremption** des flacons et examiner le flacon : fond du flacon **non jaune, milieu non trouble et sans gaz (bulles)**. Repérer le **volume de prélèvement recommandé** à l'aide des graduations sur le flacon : 8 à 10 mL chez les adultes (2 graduations), 1 à 4 mL en pédiatrie selon le poids de l'enfant.
- Réaliser une hygiène des mains avec une friction hydroalcoolique
- Décapuchonner les flacons et **désinfecter le septum avec l'alcool à 70° à l'aide de compresses stériles**
- Retirer les compresses et attendre le séchage spontané sur le septum (= 30 sec = délai d'action de l'antiseptique)

Etape 2 – Désinfection et antiseptie

- Vérifier l'identité du patient et la concordance avec la prescription sur le dossier de soins. Rassurer le patient et lui expliquer le but du prélèvement.
- Réaliser une hygiène des mains avec une friction hydro-alcoolique.
- Choisir le site de **ponction au niveau d'une veine : éviter** le recueil à travers un dispositif intra vasculaire car cela 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 un temps, avec Chlorexidine alcoolique, en respectant le séchage complet, ou en 4 temps si la peau est souillée. (DéterSION au savon antiseptique, rinçage au sérum physiologique, séchage, désinfection avec un antiseptique alcoolique en respectant le séchage spontané de 30 secondes.



Si enfant < 18 ans, déterision à la chlorhexidine moussante "Gilbertscrub" 4%, rinçage au sérum physiologique, séchage et désinfection à la chlorhexidine alcoolique 0,5 %.

Etape 3 – Prélèvement

- Relier l'adaptateur Bact-Alert au dispositif utilisé pour le prélèvement en prenant soin de visser à fond
- Enfiler des gants à usage unique : si pas de palpation de la veine, gants non stériles, si besoin de repalpation de la veine, gants stériles.
- Réaliser la ponction veineuse avec l'unité de prélèvement sécurisée (cf 5.2 Ordre et volume de prélèvement) :

Prélever 4 à 6 flacons par patient, en un seul prélèvement, sauf en cas d'endocardites (cf. 5.3 Nombre de prélèvements et temps de réalisation).

- **en premier : flacon aérobie**

PUIS

- **en deuxième : flacon anaérobie**

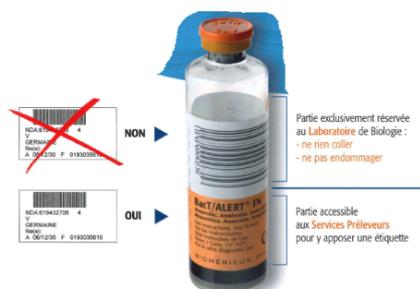


Bien remplir
8 à 10 mL
(1 à 4 mL en
pédiatrie
selon poids)

Maintenir le flacon à hémoculture en position verticale pour visualiser le niveau et plus bas que le bras du patient pour éviter tout reflux de sang vers le point de ponction

Ne pas suremplir les flacons, ce qui peut entraîner des faux positifs.

- Si d'autres tubes doivent être prélevés, respecter l'ordre de prélèvement des tubes (cf. table de préconisation).
- Enclencher à la fin du prélèvement la sécurité du dispositif pour prévenir tout risque d'AES et éliminer l'unité de prélèvement dans le collecteur à objets coupants, piquants, tranchants se trouvant au plus près du soin.
- Retourner délicatement les flacons (3 fois).
- Etiqueter le flacon (étiquette patient) et indiquer le site de prélèvement, la date et l'heure du prélèvement et l'ordre des flacons. **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



- A la fin du soin, réaliser une hygiène des mains avec une friction hydro-alcoolique
- Tracer le soin dans le dossier informatisé

Etape 4 – Acheminement au laboratoire

- Acheminer le plus rapidement possible les flacons avec le bon de demande dans le sachet double approprié. Tout retard dans l'exécution des tests des flacons inoculés peut se traduire par un risque accru d'obtenir des résultats faux négatifs.
Si l'acheminement immédiat ne peut être réalisé, conserver le prélèvement à 20-25°C, 24 heures au maximum (données fournisseur)

5.6 Limites de la méthode

- **Micro-organismes non cultivables** : Legionella sp, Coxiella sp., Bartonella sp., bactéries intracellulaires
- **Mycobactéries** : des flacons spécifiques sont nécessaires. Contacter le laboratoire.
- **Levures et moisissures** : les flacons d'hémoculture restent négatifs dans 50 % des infections fongiques disséminées. En cas de suspicion forte et d'absence de culture positive, des flacons spécifiques peuvent être nécessaires. Contacter le laboratoire.
- **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.
- **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)