

 L'INSTITUT MUTUALISTE MONTSOURIS	Laboratoire	Réf.: M1-FT-PVT-12 – V4	
Fiche Technique PRELEVEMENT SANGUIN POUR HEMOCULTURE			
Date d'application : 12/08/2022 Version : 4 Nombre de pages : 6 Nombre d'exemplaires : 1 PVT, 2 CS (+GDE)	Rédacteur	GREBAUT ISABELLE	09/08/2022
	Contrôleur	BELMONTE AUDREY	09/08/2022
	Approbateur	GREBAUT ISABELLE EOH	09/08/2022

1. OBJECTIF

L'hémoculture permet de mettre en évidence la présence de bactéries ou levures dans le sang et de réaliser un antibiogramme.

Il s'agit d'un prélèvement sanguin avec mise en culture directe du sang.

Le respect du mode opératoire doit permettre d'éviter la contamination du prélèvement par les germes cutanés du patient ou ceux présents sur les mains du soignant.

Les **précautions standard** doivent être respectées afin d'éviter le risque d'AES et de limiter les risques de contamination du prélèvement.

Le diagnostic d'un épisode bactériémique chez l'adulte nécessite la mise en culture **de 40 à 60 mL de sang** (recommandations SFM), **soit 3 paires correctement remplies** (8-10mL par flacon).

La qualité du prélèvement (asepsie et volume de sang prélevé) a une répercussion sur le résultat de l'hémoculture et donc, la qualité de la prise en charge du patient.

2. PRELEVER 3 PAIRES EN PONCTION UNIQUE

2.1. Circonstances (non limitatif) : pour toute suspicion de sepsis

2.2. Avant antibiothérapie (si possible)

2.3. Prélever **3 paires (1 flacon aérobie + 1 anaérobie) d'hémocultures en ponction unique sur veine périphérique**

- Assurer le prélèvement des 3 paires (pas de risque d'oubli)
- Antibiothérapie instaurée plus rapidement
- Taux de contamination plus faible (divisé par 2 à 3)
- Sensibilité au moins identique aux ponctions distinctes
- Risque moindre d'AES
- Confort du patient (1 ponction)

2.4. Les exceptions sont :

- **Suspicion d'endocardite** (critères de Duke):
=> prescrire 3 paires sur 24h, espacées d'au moins 1h
- **Suspicion d'infection sur dispositif intra-vasculaire**
 - ⇒ Prélever des hémocultures « simultanées » (intervalle <10 min) sur chaque dispositif et sur veine périphérique.
 - ⇒ Si il n'y a un seul dispositif, prescrire 2 hémocultures sur celui-ci afin de totaliser 3 hémocultures pour le diagnostic de bactériémie.
 - ⇒ Il est impératif de prélever **le même volume de sang sur les différents sites** (sinon risque de fausses différences de résultats).
- **Enfant de poids < 40kg** : cf tableau en 3.2 pour nombre de flacons et remplissage
- **Nouveau-né** :
 - ⇒ Prélever un flacon pédiatrique (cf tableau en 3.2 pour remplissage)

3. FLACONS D'HEMOCULTURE: RESPECT DU VOLUME RECOMMANDE ++

3.1. Adulte :

- Toujours débiter par 1 flacon aérobie : Biomérieux BacT/ALERT® FA Plus (capuchon vert)
- Puis Flacon anaérobie : Biomérieux BacT/ALERT® FN Plus (capuchon orange)
- *Volume de sang recommandé pour chaque flacon : 8-10 mL*

3.2. Nouveau-né et Enfant :

Recommandations du nombre de flacons et leur remplissage (Remic 2018) :

- en cas de flacon aérobie sans flacon anaérobie, utiliser le flacon pédiatrique Biomérieux BacT/ALERT® PF Plus (capuchon jaune)
- en cas de flacon aérobie avec flacon anaérobie : idem adultes

Poids de l'enfant (kg)	Volumes de sang (ml)						Volume total cultivé (ml)	Volume total soustrait (%)
	Culture 1		Culture 2		Culture 3			
	Aérobie	Anaérobie	Aérobie	Anaérobie	Aérobie	Anaérobie		
≤ 1	0,5 à 2						0,5 à 2	1,5 à 3
1,1-2	1,5 à 4,5						1,5 à 4,5 ¹	1,7-3
2,1-3,9	3 à 6						3 à 6 ¹	1,8
4- 7,9	6						6 ¹	1 à 2
8-13,9	4 à 5		4 à 5				8 à 10	1 à 1,5
14-18,9	5	5 à 7	5 à 8	5 à 7			20 à 24	1,8 à 2,4
19-25,9	5	5	5	5	5	5	30	1,8 à 2,2
26-39,9	10	10	10	10			40	1,7 à 2,2
≥40	10	10	10	10	10	10	60	≤ 2,3

- **Pour un poids entre 2 et 4 kg**, le volume de sang optimal recommandé est de 3 à 6 mL : un volume de **4 mL** paraît souhaitable = **1 graduation sur flacon pédiatrique Biomérieux BacT/ALERT® PF Plus (capuchon jaune)** (à défaut, prélever au minimum 1 mL, soit environ 20 gouttes)

4. SITE DE PRÉLÈVEMENT

4.1. L'hémoculture doit être réalisée par ponction veineuse périphérique

4.2. Prélèvement sur dispositif intra-vasculaire :

- A éviter car augmente de façon significative les contaminants.
- Si patient impiquable sur veine périphérique :
Réaliser si possible les prélèvements sur différents cathéters.
- Si recherche d'une infection liée à un dispositif intra-vasculaire (cf 2.4) :
Au préalable : désinfection du site avec un antiseptique alcoolique (Bétadine® alcoolique 5% ou chlorhexidine alcoolique puis purge du dispositif

5. MATÉRIELS ET PRODUITS

ANTISEPTIQUE :

Bétadine® alcoolique 5% ou chlorhexidine alcoolique

MATERIEL

- Compresses stériles imprégnées de Bétadine alcoolique 5% ou chlorhexidine alcoolique
- Alèse de protection
- Set d'anesthésie (garrot compris), ou compresses stériles + garrot désinfecté avant utilisation
- Gants usage unique non stériles
- Aiguille à ailettes pour prélèvement
- Adaptateur BacT/ALERT pour flacons d'hémoculture (cloche)
- 3 Paires de flacons d'hémoculture (aérobie, anaérobie)
- Pansement
- Étiquettes du patient avec code barre
- Sac de prélèvement double poche
- Feuille de demande d'examen (FDE) de microbiologie

6. PRÉPARATION DU PRÉLÈVEMENT

- 6.1. Vérifier la **péréemption** des flacons, vérifier la prescription
- 6.2. Le patient est **informé** et installé confortablement, une protection placée sous le bras, porte de chambre fermée.
- 6.3. **Oter les capsules de protection** des bouchons, vérifier l'**intégrité** :
 - ⇒ Les flacons présentant des signes d'endommagement ou de contamination (tels que fêlure, fuite, milieu trouble, modification de coloration, bouchon protubérant ou en dépression) ne doivent pas être utilisés.
- 6.4. **Désinfecter l'opercule** avec les compresses imprégnées d'antiseptique sécher 30-60 sec
- 6.5. Visser à fond l'adaptateur BacT/ALERT au dispositif de prélèvement (ailettes)
- 6.6. **Repérage de la veine** à ponctionner
- 6.7. **Hygiène des mains**
- 6.8. **Préparation cutanée** de la zone à ponctionner :
 - si la peau est visuellement souillée :
 - Réaliser la détergence avec des compresses imprégnées de savon antiseptique de la gamme de l'antiseptique utilisé
 - Rincer le savon à l'aide de compresses imprégnées de sérum physiologique puis sécher la zone avec des compresses sèches.
 - Si la peau n'est visuellement pas souillée, procéder directement à la désinfection
 - Désinfecter le site de ponction avec des compresses imprégnées d'antiseptique
 - Laisser sécher en respectant le temps de contact (30 secondes).
 - Ne plus toucher la zone de ponction après cette étape
- 6.9. **Pose du garrot**
- 6.10. **Hygiène des mains puis mettre les gants** à usage unique non stériles

7. RÉALISATION DU PRÉLÈVEMENT

7.1. Appliquer les précautions standard de **prévention des AES**.

7.2. **Ponctionner la veine** (ne pas retoucher le site de ponction).

Eviter de parler pendant la préparation cutanée et le prélèvement (risque de contamination).

7.3. Pour chaque flacon prélever **jusqu'au repère visuel (trait blanc =10 ml)** :

- Tenir le flacon vertical , plus bas que le bras du patient (dispositif à ailettes)
- Si d'autres tubes sont à prélever, **toujours commencer par les flacons d'hémoculture**.
- Toujours commencer par le flacon **AEROBIE** puis l'**ANAEROBIE**.
- Le vide du flacon dépasse souvent le volume cible, il faut **arrêter l'écoulement** lorsque celui-ci est atteint.
- => **RESPECT DU VOLUME RECOMMANDE IMPERATIF (8-10 ml pour chaque flacon chez l'adulte)**
- Si besoin d'autres tubes de sang : prélever directement sur le même adaptateur
- **Cas particulier du flacon pédiatrique** (pas de trait de remplissage initialement) :
 - Avant ponction, tenir le flacon vertical et marquer un trait à 1 graduation au dessus du niveau de liquide (= 4mL)
 - Puis prélever jusqu'au trait

7.4. Clamper la tubulure, retirer le garrot, dépiquer le patient, retourner doucement les flacons 2-3 fois.
Eliminer l'unité de prélèvement dans le collecteur à objets piquants

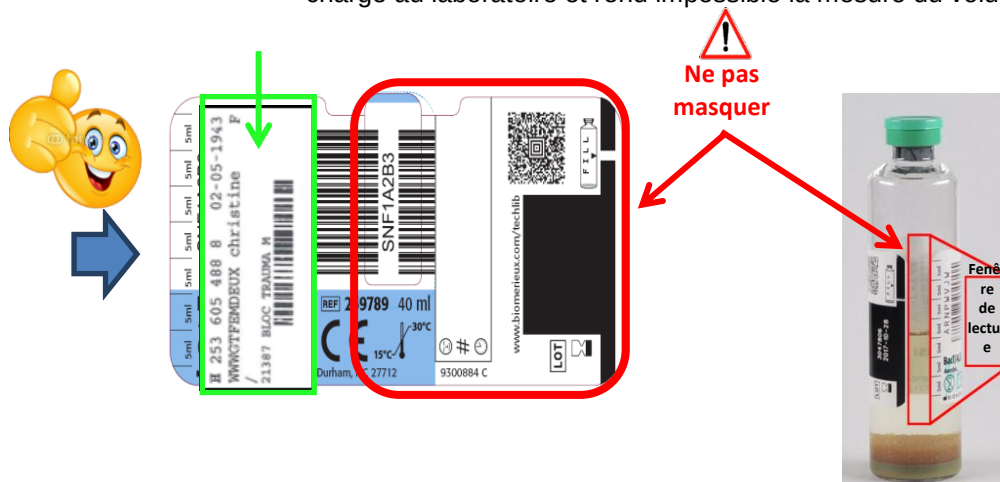
7.5. Comprimer le point de ponction avec une compresse sèche, poser un pansement.

7.6. Retirer les gants.

7.7. **Hygiène des mains**.

7.8. **Identification des flacons :**

- Coller l'étiquette dans la zone encadrée en vert ci-dessous (le long de la bande graduée) ; une étiquette collée dans les 2 zones encadrées en rouge pénalise la bonne prise en charge au laboratoire et rend impossible la mesure du volume sanguin :



Ne jamais écrire sur le fond des flacons : cela pourrait empêcher la détection d'un positif :



8. PRESCRIPTION ET TRANSPORT



Il faut un numéro de dossier différent pour chaque paire d'hémocultures

8.1. Prescription connectée :

- **créer une prescription pour chaque paire**
 - Les précisions sur le site de prélèvement (ex : « fémoral droit »...) doivent être ajoutées dans le champs « description » de l'échantillon au moment de la prescription.
 - Préciser si suspicion d'endocardite ou fongémie (incubation prolongée).
- **Imprimer la feuille spécifique à chaque paire d'hémoculture**, même si elles sont prélevées sur la même ponction
- Il est obligatoire de **valider la réalisation du prélèvement pour chaque paire** dans le logiciel de prescription connectée AVANT de les envoyer au laboratoire

8.2. Si Feuille de demande d'examen (FDE) :

- **Une FDE pour chaque paire**
- Date et heure de prélèvement impératifs
- Renseigner impérativement les renseignements cliniques. Préciser si suspicion d'endocardite ou fongémie (incubation prolongée).
- Cocher la case correspondant au site de prélèvement, et préciser la localisation le cas échéant.

8.3. Transport :

- Utiliser **un sachet vert (microbiologie) par paire** d'hémoculture
- Acheminement rapide au laboratoire, **température ambiante**.
- En cas d'hémocultures simultanées cathéter(s)/veine périphérique, les prélèvements doivent arriver simultanément au laboratoire afin d'être mis en incubation au même moment (comparaison des délais de positivation).

Bonnes pratiques de prélèvement des flacons d'hémoculture

1 Préparation du matériel



- Préparation du matériel sur une table nettoyée
- Vérifier la prescription
- Préparer les étiquettes
- Vérifier la date de péremption des flacons

2 Désinfection des flacons



- Retirer la capsule de protection & Désinfecter l'opercule avec une compresse imbibée de Bétadine alcoolique 5%
- Laisser sécher 30-60 secondes

3 Dispositif



- Visser à fond l'adaptateur BacT/ALERT au dispositif de prélèvement

4 Conditions d'aseptie



- Hygiène des mains
- Désinfecter la zone de prélèvement (Bétadine alcoolique 5%)
- Ne plus palper la veine après cette étape.**

5



- Mettre des gants non stériles
- Pratiquer la ponction veineuse à l'aide de l'aiguille
- Flacon en position verticale plus bas que le bras du patient

6 Ponction unique (4-6 flacons en une seule fois)

Saut suspicion endocardite, pédiatrie, hémocultures simultanées sur différents sites : péripné, cathéters, PAC)



Débuter toujours par un flacon **aérobie** avant le flacon **anaérobie**

- 1) Placer l'adaptateur sur le 1^{er} flacon **aérobie** en pressant le long du flacon. Remplir le 1^{er} flacon **aérobie**
- 2) puis remplir le 1^{er} flacon **anaérobie** jusqu'au repère visuel
- 3) Répéter cette séquence pour les flacons suivants

Flacon **aérobie** et **anaérobie** : remplir jusqu'au repère visuel (soit 10 ml)



Flacon pédiatrique vol optimal : 1-4 ml 1 graduation = 4ml



un volume de remplissage optimum (10 ml) conditionne la sensibilité du diagnostic

7



- Si des tubes de sang doivent être prélevés, prélever les tubes directement sur le même adaptateur déjà connecté

8



- Retirer le dispositif de prélèvement et désinfecter les bouchons des flacons
- Mélanger doucement 2/3 fois chaque flacon
- Enlever les gants et se désinfecter les mains (SHA)

9 Identification des flacons



Ne pas masquer

Les hémocultures mal étiquetées ne pourront pas être prises en charge correctement au laboratoire

10

Si prescription connectée : Ne pas oublier de valider tous les prélèvements

11

Acheminement au laboratoire le + rapidement possible
Feuilles de prescription + sachet vert
flacons d'hémoculture + sachet vert microbiologie + sachet de transport
conserver les prélèvements à T° ambiante

Coller les étiquettes VERTICALEMENT SUR LE CODE BARRE
Ne pas masquer le code flacon ni la fenêtre de lecture



Ne pas écrire sur le fond des flacons : l'automate ne pourrait pas détecter la pousse