



1. Objet/Domaine d'application

Ce document décrit les bonnes pratiques à suivre pour la réalisation du prélèvement d'hémoculture. Il s'adresse à l'ensemble des préleveurs et prescripteurs (HCC et hors HCC).

L'hémoculture est un prélèvement sanguin veineux effectué sur prescription médicale, nécessitant une asepsie rigoureuse, et permettant d'isoler le(s) micro-organisme(s) responsable(s) d'une bactériémie/fongémie, de déterminer sa(leur) sensibilité aux anti-infectieux et d'adapter le traitement.

2. Abréviations

- ✚ DIV : Dispositif intra-vasculaire
- ✚ OPCT : Objet piquant coupant tranchant
- ✚ PVP : Prélèvement veineux périphérique
- ✚ SHA : Solution hydroalcoolique

3. Protocoles de prélèvement

Une paire de flacons = 1 flacon **aérobic** (vert) + 1 flacon **anaérobic** (orange)

Une série = 2 à 3 paires

- Les prélèvements d'hémoculture doivent être réalisés, de préférence, avant toute antibiothérapie.
- Le prélèvement via le cathéter veineux périphérique n'est pas recommandé.
- Toujours prélever le flacon **aérobic** en premier pour purger la tubulure.
- Dans les situations où un dispositif intra-vasculaire (DIV) est présent chez le patient, le prélèvement d'hémoculture doit toujours être réalisé par ponction veineuse périphérique plutôt que par prélèvement sur le DIV hormis si une infection liée au cathéter est suspectée auquel cas la réalisation d'hémocultures appariées est requise.
- La recherche d'infection liée au DIV nécessite la réalisation d'hémocultures appariées
- En cas de suspicion d'endocardite ou de cryptococcose, renseigner cette indication sur la feuille de prescription (permet la prolongation de l'incubation des prélèvements à 10 jours).

Dans le cas **d'une suspicion d'infection liée à un cathéter veineux central** (cathéter veineux central non tunnelisé, cathéter veineux central tunnelisé, PICC-Line, CIP/chambre implantable). Le laboratoire pourra calculer **le différentiel de positivité** sur les hémocultures appariées (prélèvement sur cathéter central et par ponction veineuse) sous réserve des conditions suivantes :




- Hémocultures prélevées simultanément (< 10 min) sur le cathéter central et par ponction veineuse périphérique.
- **Une seule paire prélevée sur le DIV**
- Flacons aérobies positifs sur les deux sites avec la même bactérie.
- Volumes de sang prélevés dans les 2 flacons aérobies identiques et suffisants (10 mL +/- 2 mL)
- Mise en incubation simultanées des échantillons (échantillons transmis ensemble au laboratoire).



	Hémocultures standards (ponction veineuse périphérique, chez l'adulte)	Suspicion d'endocardite	Recherche d'infection liée à un DIV → <u>hémocultures appariées (PVP + DIV)</u>
Nombre de flacons	4 à 6 (2 à 3 paires)	6 (3 paires)	Prélever au <u>même moment</u> (<10 min) et avec le <u>même volume</u> : - par PVP : 4 à 6 flacons (2 à 3 paires) => idem hémocultures standards + - une paire d'hémocultures sur le DIV (sans purge).
Nombre de ponctions	1	3 espacées de 30 min	
Moment du prélèvement	Sans attendre le pic fébrile	Sans attendre de pic fébrile. Prélèvements à réitérer 48-72 h après documentation microbiologique et traitement antibiotique.	

- En **Pédiatrie**, il est recommandé d'adapter le type de flacon et le protocole selon le poids et la situation :
 - o Chez l'enfant de plus de 36 kg => même protocole que chez l'adulte.
 - o Chez l'enfant de moins de 36 kg :
 - Privilégier l'utilisation des flacons **aérobies** et **anaérobies** si possibilité d'obtenir des volumes suffisants (Cf. chapitre 4)
 - Sinon => Utilisation des flacons **pédiatriques**. L'utilisation d'un flacon **anaérobie** associé au flacon **pédiatrique** est intéressante dans certains contextes (immunodépression, infections intra-abdominales, infections cérébrales ou méningées, infections de la sphère ORL).

4. Volume à prélever

	 Flacon aérobie (vert) référence 410851	 Flacon anaérobie (orange) référence 410852	 Flacon pédiatrique (jaune) référence 41085 3
Volume nécessaire par flacon	8-10 mL		0,5 à 4 mL
Sensibilité de l'examen selon le volume prélevé par épisode	98,3% pour 60 mL (=3 paires correctement remplies) 89,7% pour 40 mL (=2 paires correctement remplies) 73,1% pour 20 mL (=1 paire correctement remplie)		-



- Les **graduations** présentes sur les flacons permettent de mesurer le volume prélevé.
- Un volume prélevé insuffisant expose à un risque de faux négatif.
- Un volume de sang supérieur au volume recommandé expose à un risque de faux positif (fausse détection positive par l'automate).

5. Protocole d'antisepsie cutanée pour hémoculture par PVP

Le prélèvement d'hémoculture par PVP est un geste à faible risque infectieux pour le patient. Il est néanmoins primordial de respecter rigoureusement le protocole afin d'éviter le risque de faux positif par contamination par un germe cutané.

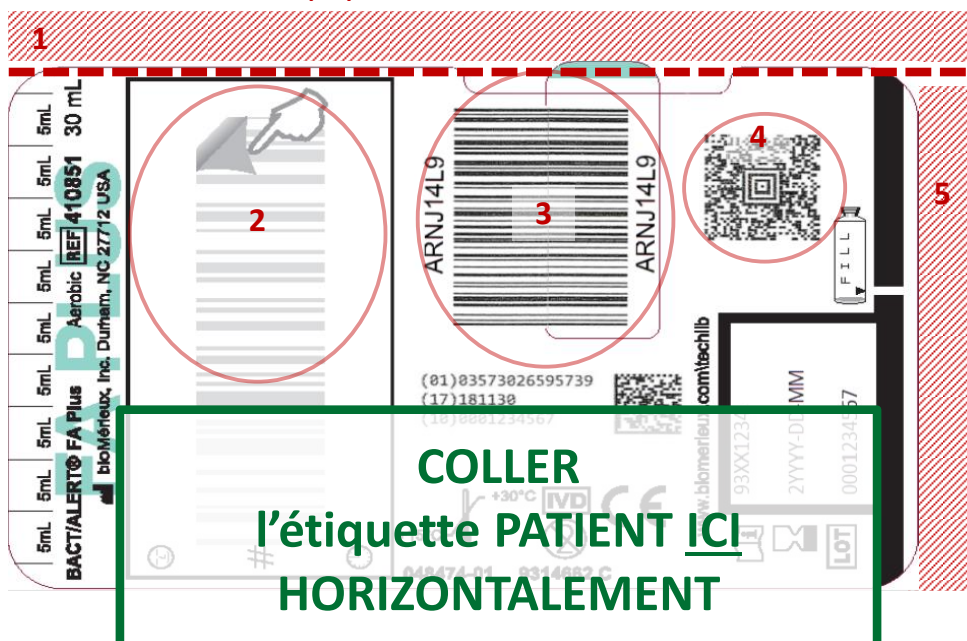
- Une étape préliminaire de déterSION est nécessaire uniquement en cas de peau visiblement souillée.
- **Âge < 30 mois** : Biseptine®/essuyage avec compresse stérile/Biseptine®.
- **Âgé > 30 mois** : Chlorhexidine alcoolique 2% (type CHLORAFREP®). A défaut la Chlorhexidine 0,5 % alcoolique ou la Bétadine® alcoolique peuvent être utilisées.
- Prélever après séchage complet de l'antiseptique.

6. Identification des prélèvements

- Veuillez à identifier chaque prélèvement par une étiquette patient qui doit être collée en laissant libres les codes-barres d'identification du flacon et le niveau de remplissage du flacon tel que présenté ci-dessous :

Laisser libres les zones en rouge

- 1 → Zone située au dessus de l'étiquette du flacon
- 2 → Zone dédiée à l'étiquette du LABORATOIRE
- 3 → Etiquette du flacon
- 4 → QR Code (gestion des péremptions)
- 5 → Zone de mesure optique du volume





- Pour les hémocultures appariées, veuillez préciser le site de ponction sur chaque flacon et sur la feuille de prescription.

7. Délais d'acheminement au laboratoire

- Conserver les prélèvements à température ambiante et à l'abri de la lumière solaire directe.
- Faire acheminer le prélèvement au laboratoire dans les meilleurs délais. L'acheminement au laboratoire ne doit pas excéder 24 h après la réalisation du prélèvement. Pour les sites extérieurs à Pasteur : se référer aux affiches « Collecte des prélèvements et urgences de biologie » propres à chaque site.
- En cas d'hémocultures différentielles, il est indispensable d'envoyer en même temps les prélèvements par PVP et sur le DIV.

8. Préparation du matériel

Pour le préleveur :

- SHA,
- Gants à usage unique (gants stériles si nécessité de retoucher le point de ponction après antisepsie)

Pour l'antisepsie cutanée :

- Compresses stériles,
- produits d'antisepsie selon le protocole recommandé (Cf. chapitre 5),
- pansement adhésif ou compresse stérile et sparadrap.

Pour le prélèvement :

- Alcool modifié ou pédiatrique.
- 1 corps à usage unique pour flacons d'hémoculture.
- 1 unité de prélèvement pour hémoculture (ou seringue en pédiatrie).
- Les différents flacons pour hémoculture, selon protocole (Cf. chapitre 3), conservés à l'abri de la lumière et à température ambiante.
- 1 marqueur indélébile.
- 1 garrot désinfecté.
- 1 protection de la literie.
- 1 paquet de 5 compresses stériles :
 - o pour la désinfection des bouchons de flacons (imprégnées d'alcool modifié),
 - o pour la réalisation du pansement sec.
- Collecteur pour OPCT.
- Sac à déchet,
- Si prélèvement sur DIV, ajouter :
 - o 2 seringues de NaCl 0,9 % 10 mL,
 - o 1 adaptateur pour prélèvement de sang sur voie veineuse,
 - o un obturateur stérile.



9. Réalisation du prélèvement

Si d'autres analyses doivent être réalisées simultanément, toujours prélever les hémocultures en premier.

+ PVP (Ponction veineuse périphérique)

- Vérifier l'identité du patient (nom-prénom-date de naissance) et l'informer.
- Vérifier la conformité des flacons : date de péremption, intégrité du contenant et des bouchons, couleur de l'opercule.
- Ôter les opercules et les désinfecter avec de l'alcool modifié ou pédiatrique.
- Laisser sécher.
- Repérer la zone de ponction à l'aide, ou non du garrot.
- Réaliser une friction désinfectante des mains au SHA.
- Réaliser l'antisepsie de la zone de ponction selon le protocole (Cf. chapitre 5). Ne plus toucher la zone de ponction, excepté avec des gants stériles.
- Remettre le garrot.
- Réaliser une friction désinfectante des mains au SHA.
- Mettre les gants à usage unique.
- Adapter l'unité de prélèvement sur le corps à usage unique pour hémoculture.
- Ponctionner la veine et dès visualisation de l'écoulement sanguin, adapter le(s) flacon(s) aérobie(s) puis anaérobie(s) en respectant le volume de sang recommandé.
- Desserrer le garrot, désadapter le dernier flacon.
- Retirer l'aiguille
- Comprimer le point de ponction et réaliser un pansement sec.
- Éliminer les traces de sang sur les flacons si nécessaire.
- Éliminer les déchets et les gants dans les filières adaptées.
- Identifier les flacons : étiquette du patient dans la zone dédiée + inscrire le numéro du flacon.
- Remplir la feuille de prescription d'examen avec :
 - o les étiquettes mentionnant l'identité du patient,
 - o la date et heure de prélèvement,
 - o la présence ou non d'un traitement antibiotique,
 - o le n° du (des) flacon(s) d'hémoculture et le ou le(s) site(s) du prélèvement,
 - o l'identité du prescripteur et du préleveur.
- Placer le prélèvement dans un sachet plastique accompagné de la prescription et faire acheminer le prélèvement au laboratoire en respectant les recommandations susmentionnées.
- Réaliser une friction désinfectante des mains au SHA.
- Tracer le prélèvement dans le dossier patient.



✚ Prélèvement sur DIV (cas des hémocultures appariées, à réaliser immédiatement après le prélèvement par PVP)

- Réaliser une friction désinfectante des mains au SHA.
- Mettre des gants à usage unique.
- Désinfecter le site de prélèvement à l'aide d'une compresse stérile imprégnée d'alcool modifié ou pédiatrique.
- Ôter les opercules des flacons et les désinfecter avec de l'alcool modifié ou pédiatrique.
- Fermer la voie de perfusion si le patient a une perfusion continue ou en cours. Adapter le système de prélèvement adaptateur/corps à usage unique pour hémoculture au robinet à 3 voies ou à la valve bidirectionnelle.
- Ne pas purger la ligne avant de prélever l'hémoculture.
- Adapter le flacon aérobie puis anaérobie et prélever le volume de sang recommandé.
- Refermer le robinet le cas échéant, désadapter le dernier flacon et puis le corps de prélèvement.
- Éliminer le système de prélèvement dans le collecteur OPCT.
- Purger la ligne à l'aide de deux seringues de 10 mL de NaCl 0,9 %.
- Adapter un nouvel obturateur stérile si besoin.
- Vérifier les différentes lignes de perfusion.
- Éliminer les traces de sang sur les flacons si nécessaire.
- Retirer les gants.
- Identifier les flacons : étiquette du patient dans la zone dédiée + inscrire le numéro du flacon.
- Remplir la feuille de prescription d'examen avec :
 - o les étiquettes mentionnant l'identité du patient,
 - o la date et heure de prélèvement,
 - o la présence ou non d'un traitement antibiotique,
 - o le n° du (des) flacon(s) d'hémoculture et le ou le(s) site(s) du prélèvement,
 - o l'identité du prescripteur et du préleveur,
 - o préciser en renseignements cliniques qu'il s'agit d'hémocultures appariées.
- Placer le prélèvement dans un sachet plastique accompagné de la prescription et acheminer le prélèvement au laboratoire en respectant les recommandations susmentionnées.
- Réaliser une friction désinfectante des mains au SHA.
- Tracer le prélèvement dans le dossier patient.



10. Documents associés : Protocoles du CLIN

- *Conduite à tenir en cas d'AES* (chapitre 9 n° 01)
- *Hygiène des mains* (chapitre 1 n° 01)
- *Précautions générales d'hygiène ou précautions standard* (chapitre 10 n° 01)
- *Généralités sur les antiseptiques et les désinfectants cutanés* (chapitre 6 n° 01)
- *Fiches produits antiseptiques* (chapitre 6 n° 02 à 13)
- *Gestion des pansements de la ligne veineuse d'un cathéter veineux central* (chapitre 3 n° 05)
- *Utilisation des chambres à cathéter implantable pour accès veineux* (chapitre 3 n° 06)
- *Gestion des pansements et de la ligne veineuse d'un PICC Line* (chapitre 3 n° 07)

11. Références

- Dien Bard J, McElvania TeKippe E. Diagnosis of Bloodstream Infections in Children. *J Clin Microbiol.* 2016 Jun; 54(6): 1418-24. doi: 10.1128/JCM.02919-15.
- Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. *Front Microbiol.* 2016 May 12;7:697. doi: 10.3389/fmicb.2016.00697.
- Habib G, Lancellotti P, Jung B. 2015 ESC Guidelines on the management of infective endocarditis: a big step forward for an old disease. *Heart.* 2016 Jul 1;102(13):992-4. doi: 10.1136/heartjnl-2015-308791.
- Accoceberry, I., Cornet, M., Fenollar, F., and Mainardi, J. L. (2015). *Référentiel en Microbiologie Médicale, 5th Edn.*, eds T. Bourlet, R. Courcol, P. Laudat, J. L. Herrmann, L. Lachaud, B. Lamy, H. Peigue-Lafeuille, and B. Pangon (Paris: Société française de Microbiologie).
- Fiches techniques des flacons d'hémoculture BacT/ALERT® FA plus (référence 410851), BacT BacT/ALERT® FN plus (référence 410852) et BacT/ALERT® FP plus (référence 410853).
- SFHH, recommandations pour la pratique clinique, *antisepsie de la peau saine avant un geste invasif chez l'adulte*, mai 2016.
- Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol.* 2007Nov;45(11):3546-8.