

HÉMOCULTURE

Un prélèvement d'urgence dans le diagnostic des infections du sang





INTRODUCTION

“...la détection des bactériémies et des fongémies reste l'une des activités les plus importantes des laboratoires de microbiologie clinique... Une hémoculture positive établit ou confirme la présence d'une étiologie infectieuse. Elle précise en outre l'agent étiologique et permet de réaliser des antibiogrammes afin de cibler la thérapie.”⁽¹⁾

Une identification rapide et précise des bactéries ou des champignons responsables d'infections du sang donne des informations cliniques vitales nécessaires au diagnostic et au traitement du sepsis.

Le Sepsis est un processus inflammatoire complexe qui n'est pas souvent reconnu comme étant l'une des premières causes de morbidité et de mortalité dans le monde. Selon les estimations, avec 19 millions de cas diagnostiqués chaque année dans le monde,⁽⁴⁾ le sepsis cause la mort d'une personne toutes les 3-4 secondes.⁽³⁾

Un diagnostic précoce et une thérapie adaptée font toute la différence lorsqu'il s'agit d'améliorer les résultats des patients atteints de sepsis. Les chances de survie diminuent d'autant plus vite que la mise en place du traitement est tardive. Si le traitement antimicrobien est administré au patient dans l'heure qui suit le diagnostic, le taux de survie avoisine les 80 % ; ce taux diminue de 7,6 % à chaque heure suivante. Pourtant, si le traitement antimicrobien administré dans un premier temps n'est pas adapté, les chances de survie du patient sont divisées par cinq.⁽⁴⁾

Le présent livret entend :

- **répondre aux questions clés** les plus fréquemment posées en matière d'hémoculture
- **proposer des recommandations pratiques** pour les procédures d'hémoculture utilisées en routine
- **mettre à disposition un guide** des meilleures pratiques de prélèvement des hémocultures illustré étape par étape.

Le présent livret est destiné à être un outil de référence utile pour les médecins, le personnel infirmier, le personnel de laboratoire et autres professionnels de santé impliqués dans le processus d'hémoculture.

NOUS REMERCIONS TOUT PARTICULIÈREMENT

Dr Susan M. Novak-Weekley

Ph.D. D(ABMM), S(M)ASCP
Vice-President, Medical Affairs,
Qvella, Carlsbad, CA, USA

Wm. Michael Dunne, Jr.

Ph.D. D(ABMM), F(AAM, CCM, IDSA, PIDJ)
Senior Fellow, Clinical Microbiology, Data Analytics Group,
bioMérieux, Inc., Durham, NC, USA
Adjunct Professor of Pathology and Immunology,
Washington University School of Medicine,
St. Louis, MO, USA
Adjunct Professor of Pediatrics,
Duke University School of Medicine,
Durham, NC, USA

*pour leurs précieux conseils et la révision complète
du présent livret.*

DÉFINITIONS

Bactériémie: présence de bactéries dans le sang. La bactériémie peut être transitoire, intermittente ou continue.

Hémoculture : prélèvement de sang mis en culture afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de micro-organismes. Elle permet la récupération d'agents pathogènes potentiels chez des patients suspects de bactériémie ou de fongémie.

Série d'hémocultures : groupe de flacons d'hémocultures temporellement liées et prélevées dans le but de déterminer si un patient présente une bactériémie ou une fongémie.

Set d'hémoculture : couple de flacons composé d'un flacon aérobique et d'un flacon anaérobie, réalisé lors d'un prélèvement de sang.

Infection du sang : infection associée à une bactériémie ou une fongémie.

Contaminant : micro-organisme isolé à partir d'une hémoculture, qui a été introduit lors du prélèvement ou du traitement de l'échantillon et qui n'est pas considéré comme étant responsable de l'infection du sang (autrement dit, les micro-organismes n'étaient pas présents dans le sang du patient au moment du prélèvement en vue de sa mise en culture).

Contamination : présence, dans le flacon, de micro-organismes qui sont introduits lors du prélèvement, mais qui ne circulaient pas réellement dans le sang du patient.

Fongémie : présence de champignons dans le sang.

Sepsis : dysfonctionnement des organes, causé par une dérégulation de la réponse de l'hôte à une infection.⁽¹⁾

Septicémie : syndrome clinique se caractérisant par de la fièvre, des frissons, des malaises, une tachycardie, etc. lorsque les bactéries en circulation se multiplient à une vitesse supérieure aux quantités éliminées par phagocytose.⁽²⁾

Épisode septique : épisode de sepsis ou choc septique pour lequel un prélèvement d'hémocultures est réalisé.

Choc septique : sous-ensemble du sepsis dans lequel des anomalies métaboliques circulatoires et cellulaires sous-jacentes sont particulièrement profondes pour augmenter sensiblement la mortalité..⁽⁵⁾

Source: Wayne, P.A. Principles and procedures for Blood Cultures; Approved Guideline, CLSI document M47-A. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2007 unless otherwise specified.

CONTENU

1	GÉNÉRALITÉS SUR LES HÉMOCULTURES	p. 2
1	Qu'est-ce qu'une hémoculture ?	p. 4
2	Pourquoi les hémocultures sont-elles importantes ?	p. 4
3	Quand faut-il prélever une hémoculture ?	p. 5
4	Quel volume de sang faut-il prélever ?	p. 6
5	Combien de sets d'hémoculture est-il nécessaire de prélever ?	p. 8
6	Quels milieux utiliser ?	p. 10
7	Intervalles des prélèvements pour hémoculture : la ponction unique	p. 11
8	Comment effectuer les prélèvements d'hémoculture ?	p. 12
9	Quelle est la durée d'incubation recommandée ?	p. 14
10	S'agit-il d'un contaminant ou d'un véritable agent pathogène ?	p. 15

2	GROS PLAN SUR L'ENDOCARDITE INFECTIEUSE	p. 18
----------	--	-------

3	TRAITEMENT DES HÉMOCULTURES POSITIVES	p. 20
----------	--	-------

4	INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS	p. 22
----------	-------------------------------------	-------

5	LIGNES DIRECTRICES EN MATIÈRE D'HÉMOCULTURE/DE SEPSIS	p. 24
----------	--	-------

	RÉFÉRENCES	p. 26
--	------------	-------

	RECOMMANDATIONS EN MATIÈRE DE PRÉLÈVEMENT DES HÉMOCULTURES	p. 30
--	--	-------



1 GÉNÉRALITÉS SUR LES HÉMOCULTURES

1 Qu'est-ce qu'une hémoculture ?

Une hémoculture est une analyse de laboratoire dans lequel le sang, prélevé chez le patient, est inoculé dans des flacons contenant un milieu de culture afin de déterminer si des micro-organismes (bactéries ou champignons) sont présents dans le sang du patient.

→ Les hémocultures sont destinées à :

- Confirmer la présence de micro-organismes dans le sang
- Identifier l'étiologie microbienne de l'infection du sang
- Aider à déterminer la source de l'infection (par ex. une endocardite)
- Isoler l'agent infectieux et connaître son profil de résistance afin d'optimiser le traitement antimicrobien

LES 3 PRINCIPAUX OBJECTIFS DE L'HÉMOCULTURE* :

- Confirmer l'étiologie infectieuse
- Identifier l'agent infectieux
- Guider la thérapie antimicrobienne

* Adapté d'ESCMID (Société européenne de Microbiologie Clinique et Maladies Infectieuses) directives, 2012. (7)

2 Pourquoi les hémocultures sont-elles importantes ?

L'hémoculture est l'outil de diagnostic le plus largement utilisé pour détecter les bactériémies et les fongémies. Il s'agit du moyen le plus important pour diagnostiquer l'étiologie des infections du sang et du sepsis. Elle a également des implications majeures dans le traitement de ces patients.

Une hémoculture positive établit ou confirme la présence d'une étiologie infectieuse dans la maladie du patient. (3) Une hémoculture positive précise en outre l'agent étiologique pour l'antibiogramme, ce qui permet de cibler le traitement antibiotique. (3) Le sepsis est l'un des enjeux les plus importants en soins intensifs, et le diagnostic précoce est l'un des facteurs décisifs dans le pronostic de survie des patients. L'identification précoce des agents pathogènes dans le sang peut

GÉNÉRALITÉS SUR LES HÉMOCULTURES

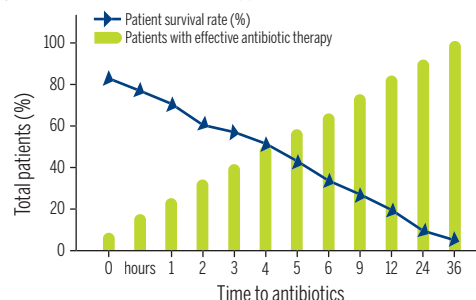
constituer une étape cruciale pour garantir un traitement adapté. De plus, le fait de commencer un traitement antibiotique efficace le plus tôt possible peut avoir une influence importante sur l'évolution de la maladie et le taux de survie. (8,9) Le taux de survie diminue de 7,6% pour chaque heure de retard d'une antibiothérapie ciblée.

→ Proposer un traitement antibiotique adéquat dans les premières 24 à 48 heures présente les avantages suivants : (10-14)

- Diminution de la mortalité liée à l'infection (20-30%)
- Durées d'hospitalisations et de récupération moins longues
- Réduction du risque de survenue d'effets secondaires négatifs
- Réduction du risque de résistance microbienne
- Réduction des coûts (durée du séjour, traitement, test diagnostique)

Figure 1 : Augmentation du taux de survie des patients dans le cas d'une antibiothérapie rapide et ciblée

Adapté de Kumar A, et al. Crit Care Med. 2006;34(6):1589-96. (15)



3 Quand faut-il prélever une hémoculture ?

Une hémoculture doit être prescrite chaque fois qu'une infection du sang ou un sepsis est suspecté.

→ Les signes cliniques présentés par un patient et susceptibles d'entraîner une suspicion d'infection du sang sont les suivants :

- Fièvre d'origine indéterminée ($\geq 38^\circ\text{C}$) ou hypothermie ($\leq 36^\circ\text{C}$)
- Choc, tremblements, frissons intenses
- Infections locales graves (méningite, endocardite, pneumonie, pyélonéphrite, suppuration intra-abdominale...)
- Augmentation anormale du rythme cardiaque
- Baisse ou augmentation de la tension artérielle
- Augmentation de la fréquence respiratoire

→ Les hémocultures doivent être prélevées :

- dès que possible après l'apparition des signes cliniques ;
- idéalement, avant l'administration d'un traitement antimicrobien ⁽¹⁶⁾.

Si le patient bénéficie déjà d'un traitement antimicrobien, la récupération des micro-organismes peut être augmentée en prélevant l'échantillon de sang juste avant d'administrer la dose suivante, et en inoculant le sang dans des flacons contenant des molécules neutralisant l'activité des antibiotiques circulants.

4 Quel volume de sang faut-il prélever ?

La récupération optimale des bactéries et des champignons à partir du sang dépend de la mise en culture d'un volume adéquat de sang. Le prélèvement d'une quantité suffisante de sang améliore la détection des bactéries ou des champignons pathogènes présents en faibles quantités. Cela est essentiel lorsqu'une infection endovasculaire (comme l'endocardite) est suspectée.

Le volume de sang que l'on prélève pour chaque set d'hémoculture est la variable la plus importante pour récupérer des micro-organismes chez des patients souffrant d'infections du sang. ^(17,18)

Les flacons d'hémoculture sont conçus pour tenir compte du ratio sang-bouillon recommandé (1:5 à 1:10) avec le volume sanguin optimal. Il est possible que les systèmes d'hémocultures de surveillance en continu mis sur le marché utilisent un ratio sang-bouillon plus faible (< 1:5) en raison de l'ajout de polyanéthol sulfonate de sodium (SPS) qui neutralise les substances inhibitrices présentes dans le sang. ⁽¹⁾

→ Adultes

Chez l'adulte, le volume de sang qu'il est recommandé de prélever pour une mise en culture est de 40 à 60 ml. ^(1,16)

Étant donné que chaque set se compose d'un flacon aérobie et d'un flacon anaérobie, chacun des flacons doit être inoculé avec environ 10 ml de sang. Ce volume est recommandé pour optimiser la récupération des agents pathogènes lorsque la charge bactérienne/fongique est inférieure à 1 unité formant colonie (UFC) par ml de sang.

Par ailleurs, il est généralement recommandé d'utiliser **deux ou trois sets de flacons** (deux flacons par set) par épisode septique, ce qui implique, chez l'adulte, de prélever 40 à 60 ml de sang sur le patient pour les 4 à 6 flacons, à raison de 10 ml par flacon.

Pour chaque millilitre de sang supplémentaire mis en culture, le rendement des micro-organismes récupérés à partir de sang adulte augmente en proportion directe de 3% jusqu'à 30 ml. ⁽¹⁾

→ Enfants

Le volume optimal de sang à prélever chez les nourrissons et les enfants est moins bien prescrit. Cependant, les données disponibles indiquent que le rendement des agents pathogènes augmente également en proportion directe avec le volume de sang mis en culture. ^(16,20) Le volume de sang qu'il est préconisé de prélever doit être **adapté au poids du patient** (voir Tableau 1). Il convient également d'utiliser un flacon anaérobie, sauf en cas de suspicion d'une infection anaérobie. ⁽²¹⁾

Des flacons d'hémoculture pédiatriques sont disponibles sur le marché pour une utilisation chez l'enfant de moins de 2 ans. Ils sont spécialement conçus pour maintenir le ratio sang-bouillon habituel (1:5 à 1:10) avec de petits volumes de sang, et ils ont montré qu'ils permettent d'améliorer la récupération microbienne. ⁽¹⁾

Table 1 : Recommandation sur les volumes de sang à prélever en pédiatrie ⁽²⁰⁾

Extrait du Tableau II du référentiel REMIC 6.1, version 2018, chapitre 14, page 140. Volume de sang à mettre en culture en fonction du poids de l'enfant.

Poids de l'enfant (kg)	Volume de sang (ml)						Volume total cultivé (ml)	Volume total soustrait (ml)
	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	1,7-3
2,1-3,9	3 à 6						3 à 6	1,8
4-7,9	6						6	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

5 Combien de sets d'hémoculture est-il nécessaire de prélever ?

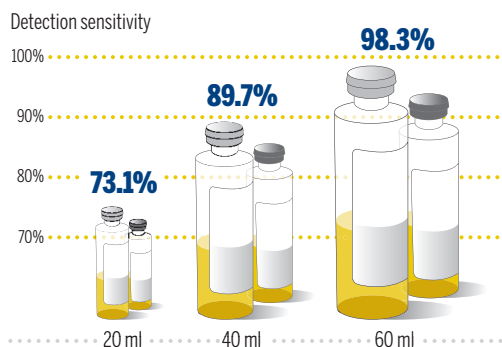
Étant donné que les bactéries et les champignons peuvent ne pas être présents en permanence dans le sang, **la sensibilité d'un seul set d'hémoculture est limitée.**

On a observé que le % de sensibilité cumulée était de 73,1 % avec le premier set, de 89,7 % avec les deux premiers sets et de 98,3 % avec les trois premiers.

Le prélèvement de quatre sets d'hémoculture ⁽²²⁾ permet d'atteindre un % de sensibilité > à 99%.

Figure 2 : % de sensibilité cumulée selon le nombre de set de flacons d'hémoculture prélevés ⁽²²⁾

Adapted from Lee et al. Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures Are Needed? J Clin Microbiol. 2007; 45:3546-3548



Chez les patients adultes, il convient de ne jamais prélever un seul flacon ou set d'hémoculture, cette pratique ne permettant pas de mettre en culture un volume adéquat de sang et augmentant les chances de manquer un nombre considérable de bactériémies. ^(1,22)

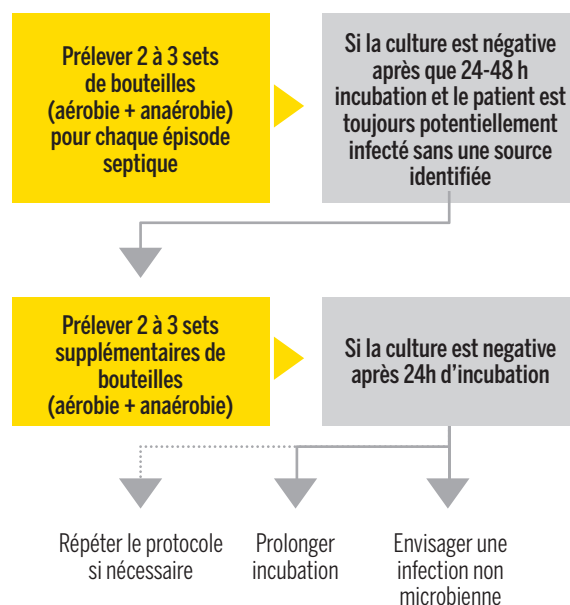
Un contaminant sera généralement présent dans un seul flacon d'un set d'hémoculture, contrairement à une infection du sang avérée où plusieurs flacons/sets d'hémoculture seront positifs.

➤ C'est pourquoi les directives recommandent de prélever 2, à 3 sets d'hémoculture pour chaque épisode septique. ^(1, 7,16)

Si 2 à 3 sets sont prélevés, que les cultures demeurent négatives au bout de 24 à 48 heures d'incubation et que le patient est encore potentiellement septique, il peut s'avérer nécessaire de prélever 2 à 3 cultures supplémentaires, comme le montre le schéma suivant. ⁽¹⁶⁾

Figure 3 : Recommandation sur le nombre de set d'hémoculture

Adapté de Baron, E.J., et al. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed., E.J. Baron. ASM Press, Washington, D.C. 2005



6 Quels milieux utiliser ?

Les micro-organismes responsables d'infections du sang sont très variés (aérobies, anaérobies, champignons, micro-organismes fastidieux...) et, en plus d'éléments nutritifs, ils peuvent exiger des conditions de croissance spécifiques.

Dans les cas où le patient reçoit un traitement antimicrobien, il convient d'utiliser des milieux spécialisés capables de neutraliser les antibiotiques. Les études montrent que les **milieux de neutralisation des antibiotiques** augmentent la récupération et réduisent les délais de détection par rapport aux milieux standard.⁽²³⁻²⁶⁾

Dans les bonnes pratiques, chaque set d'hémocultures inclut une paire d'un flacon aérobie et d'un flacon anaérobie.

Le sang prélevé doit être réparti à parts égales entre les flacons aérobie et anaérobie.

S'il n'est pas utilisé de flacon anaérobie, celui-ci doit toujours être remplacé par un flacon aérobie supplémentaire de façon à veiller à mettre en culture un volume de sang suffisant.⁽²⁷⁾

→ Un milieu d'hémoculture doit être :

- **suffisamment sensible** pour récupérer :
 - une large gamme de micro-organismes cliniquement pertinents, même les plus fastidieux (*Neisseria*, *Haemophilus*...)
 - les micro-organismes libérant de petites quantités de CO₂ (*Brucella*, *Acinetobacter*...) (adultes, nourrissons, patients recevant un traitement antibiotique, liquides biologiques normalement stériles...)
- **polyvalent** : capable de donner un résultat pour tous les types de prélèvement d'échantillons (adultes, nourrissons, patients recevant un traitement antibiotique, liquides biologiques normalement stériles...)

→ Quel flacon doit être inoculé en premier ?

Si un set **dispositif de prélèvement sanguin à ailettes** est utilisé, **remplir d'abord le flacon aérobie** afin de purger la tubulure l'air de l'appareil dans le flacon aérobie.

Si une **aiguille** et une **seringue** sont utilisées, **inoculer d'abord le flacon anaérobie** afin d'éviter toute admission d'air.

Si le volume de sang prélevé est inférieur au volume recommandé*, **commencer** par inoculer environ 10 ml de sang dans le **flacon aérobie**, car la plupart des cas de bactériémies sont dus à des bactéries facultatives et anaérobies. De plus, les levures pathogènes et les micro-organismes aérobies stricts (par ex. *Pseudomonas*) sont récupérés presque exclusivement à partir de flacons aérobies.

Le reste de sang doit alors être inoculé dans le flacon anaérobie.⁽⁸⁾

* Pour les recommandations, voir page 6, chapitre « Quel Volume de sang faut-il prélever ? »

7 Intervalles des prélèvements pour hémoculture : la ponction unique

Des études ont montré que l'intervalle de temps espaçant le prélèvement de deux sets d'hémoculture n'est pas considéré comme un facteur critique puisque le rendement diagnostique reste le même.⁽⁷⁾

La pratique du prélèvement multiple de 2 à 3 sets d'hémoculture présente des inconvénients non maîtrisés tels que des faux positifs liés à la contamination des flacons par la multiplication des prélèvements et un volume de sang insuffisant lorsque qu'une seule paire de flacons est prélevée (hémoculture solitaire). Les recommandations évoluent vers le prélèvement unique qui permet de réduire le risque de contamination et qui garantit une sensibilité maximale par le prélèvement, d'emblée du volume de sang optimal de 4 à 6 flacons correctement remplis.⁽⁷⁾

Les prélèvements sanguins réalisés de façon espacée dans le temps, par exemple à un intervalle de 1 à 2 heures, ne sont recommandés que dans le cadre d'une surveillance continue des bactériémies/fongémies chez les patients suspectés d'endocardite infectieuse ou d'autres infections endovasculaires (liées aux cathéters).

2 ou 3 sets additionnels d'hémoculture peuvent être prélevés dans le cas où les premiers flacons d'hémoculture sont négatifs à 24-48 heures d'incubation avec une infection sévère ou afin d'augmenter la sensibilité diagnostique (cas de pyélonéphrite par exemple). Cette recommandation dépend également des micro-organismes responsables de l'infection à diagnostiquer car la sensibilité est meilleure pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, comparativement à *Pseudomonas aeruginosa* ou les levures ou moisissures.⁽²⁸⁾

8 Comment prélever les hémocultures ?

Le prélèvement des flacons est une étape cruciale dans l'analyse d'une d'hémoculture. Il est impératif de respecter les précautions d'usage et de maintenir des conditions aseptiques strictes pendant toute la durée de la procédure. Le respect des recommandations en matière de prélèvement des hémocultures peut améliorer de manière significative la qualité et la valeur clinique des études sur les hémocultures et réduire l'incidence de la contamination des échantillons ainsi que les résultats « faux-positifs » diagnostiques.

Un échantillon convenablement prélevé et ne contenant pas de contaminants est essentiel pour garantir la précision et la fiabilité des résultats des hémocultures.

Il est recommandé de confier les prélèvements pour hémoculture uniquement aux membres du personnel (médical) ayant suivi une formation complète et fait l'objet d'une évaluation de leurs compétences en la matière.⁽²⁹⁾

Les 10 étapes clés pour bien réaliser un prélèvement pour hémoculture :

Pour une illustration étape par étape, voir page 30.

- 1 Avant toute utilisation, **examiner les flacons** pour vérifier qu'ils ne présentent aucun signe d'endommagement, de détérioration ou de contamination. Ne pas utiliser de flacon contenant un milieu présentant un caractère trouble ou une pression de gaz excessive, ces signes étant ceux d'une éventuelle contamination.
- 2 **Vérifier la date de péremption** inscrite sur chaque flacon. Jeter tout flacon dont la date de péremption est dépassée.
- 3 **Respecter scrupuleusement le protocole de prélèvement** utilisé dans les établissements de santé, notamment les précautions d'usage en ce qui concerne la manipulation de sang au chevet du patient.
- 4 Les flacons d'hémoculture doivent être **clairement et correctement étiquetés** avec une étiquette mentionnant entre autres l'identification du patient, la date et l'heure du prélèvement, ainsi que le site de ponction (ponction veineuse ou dispositif intravasculaire).
- 5 Chaque set d'hémocultures doit inclure 1 flacon aérobic et 1 flacon anaérobic.
- 6 Le sang destiné à être mis en culture doit être **prélevé au niveau d'une veine, et non d'une artère**.⁽³⁰⁾
- 7 Il est recommandé d'éviter de **prélever du sang à partir d'un cathéter veineux ou artériel**, ces dispositifs étant souvent associés à des taux de contamination plus élevés.⁽³¹⁾
- 8 Avant de procéder au prélèvement de l'échantillon, **désinfecter soigneusement la peau** à l'aide d'un désinfectant approprié, comme une solution de chlorhexidine et d'alcool isopropylique à 70 % ou de la teinture d'iode (compresse ou applicateur).⁽³⁾ Laisser sécher 30 à 60 secondes.⁽¹⁾
- 9 **Acheminer les flacons inoculés** et la demande d'hémoculture complétée vers le laboratoire de microbiologie clinique aussi rapidement que possible, de préférence sous 2 à 4 heures.⁽³⁾ Tout retard dans l'exécution des tests des flacons inoculés peut se traduire par un risque accru d'obtenir des résultats faux négatifs. En cas de retard prévisible, il est recommandé de stocker temporairement à température ambiante les flacons d'hémoculture destinés à être testés dans des systèmes de surveillance continue, (directives de la Société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses (ESCMID)⁽³²⁾. L'utilisation de systèmes de transport par tube sous vide peut faciliter la transmission rapide des flacons vers le laboratoire de microbiologie.⁽³³⁾
- 10 **Renseigner les informations relatives au prélèvement** et au patient dans le dossier du patient, en particulier la date, l'heure, le site de prélèvement ainsi que les indications cliniques.

9 Quelle est la durée d'incubation recommandée ?

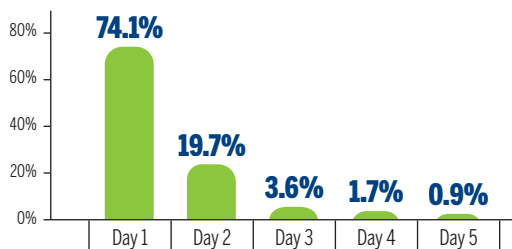
➤ La recommandation actuelle concernant la durée d'incubation standard des hémocultures en routine est de cinq jours.⁽³⁴⁾

Toutefois, les données publiées indiquent qu'une durée de **trois jours peut être suffisante** pour récupérer jusqu'à 95 à 98 % de micro-organismes cliniquement pertinents.

Une étude réalisée par Bourbeau, et al. (JCM, 2005) a montré le nombre de micro-organismes importants isolés par jour.⁽³⁵⁾

Figure 4 : % d'isolats significatifs par jour de culture⁽³⁵⁾

Adapté par Bourbeau PP et al. Routine incubation of BacT/ALERT® FA and FN blood culture bottles for more than 3 days may not be necessary. J Clin Microbiol. 2005;43:2506-2509



Ces résultats montrent que 95 % des isolats ayant une signification clinique ont été récupérés dans les 2 premiers jours d'incubation et 98 % dans les 3 jours d'incubation.

➔ Incubation des micro-organismes fastidieux

Une autre étude, réalisée par Cockerill, et al. (CID, 2004) a montré que lorsqu'on utilise un système d'hémoculture offrant une surveillance en continu, 99,5 % des infections du sang ne relevant pas de l'endocardite et 100 % des épisodes d'endocardite étaient détectés dans les 5 jours d'incubation.⁽¹⁹⁾ Ces données indiquent que les périodes d'incubation prolongées précédemment préconisées pour la détection des microorganismes fastidieux* qui sont parfois responsables des endocardites, ne sont plus nécessaires lorsqu'on utilise ces systèmes.⁽¹⁶⁾

* including *Brucella*, *Capnocytophaga* and *Campylobacter* spp., and the HACEK group (*Haemophilus* (except *H. influenzae*) species, *Aggregatibacter* (previously *Actinobacillus*) species, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* and *Kingella* species)⁽²⁰⁾

10 S'agit-il d'un contaminant ou d'un véritable agent pathogène ?

La contamination des hémocultures au cours du processus de prélèvement peut entraîner un niveau important de résultats faux positifs, ce qui peut avoir des effets négatifs en termes de résultats chez les patients.

On entend par **faux positif** diagnostique la croissance, dans le flacon d'hémoculture, de bactéries qui n'étaient pas présentes dans le sang du patient et qui sont introduites au cours du prélèvement de l'échantillon.

Plusieurs sources peuvent être à l'origine d'une contamination : la peau du patient, le matériel utilisé pour prélever l'échantillon, les mains de la personne procédant au prélèvement sanguin, ou encore l'environnement.

➤ Il est essentiel de recueillir un échantillon sanguin ne contenant pas de contaminant si l'on veut que le résultat d'une hémoculture ait une valeur clinique.

Certains micro-organismes, comme les staphylocoques à coagulase négative, les streptocoques du groupe viridans *Bacillus* spp., *Propionibacterium* spp., les diphtéroïdes, *Micrococcus* spp. sont rarement responsables d'infections bactériennes ou d'infections du sang sévères. Il s'agit là de **contaminants courants de la peau** et, même s'ils sont capables de provoquer de graves infections dans un contexte favorable, leur détection dans un seul set d'hémoculture peut être raisonnablement identifiée comme un contaminant possible sans signification clinique. Il est cependant important de considérer que les staphylocoques à coagulase négative représentent la principale cause des infections associées aux cathéters et au matériel prothétique et qu'ils peuvent avoir une signification clinique dans une proportion de cas pouvant aller jusqu'à 20 %.⁽³⁷⁾

La principale difficulté d'interprétation pour le médecin est de savoir si l'organisme récupéré à partir d'une hémoculture est un **véritable agent pathogène responsable de l'infection du sang**, ou un contaminant. Lorsqu'il s'agit d'un contaminant, le patient sera traité inutilement avec des antibiotiques, ce qui entraîne des risques supplémentaires sur sa santé. Le distinguer entre véritable agent pathogène et contaminant est fonction de la méthode de prélèvement sanguin utilisée (ponction veineuse ou dispositif intravasculaire) et de la multiplicité de l'isolement de la même espèce.

Cela montre combien il est crucial d'inclure les **informations sur le site de prélèvement à la demande d'hémoculture envoyée au laboratoire.**

Contrairement aux patients souffrant d'endocardite infectieuse ou d'autres infections du sang avérées, les patients dont les hémocultures contiennent des contaminants ont généralement un seul flacon d'hémoculture positif.⁽¹⁶⁾

Le moyen le plus efficace de réduire les taux de contamination consiste à respecter scrupuleusement les règles d'hygiène des mains et les meilleures pratiques en matière de prélèvement sanguin, en particulier pendant la désinfection cutanée, la ponction veineuse et le transfert de l'échantillon dans des flacons d'hémoculture.

Néanmoins, même si les meilleurs protocoles de prélèvement sanguin sont utilisés, il est difficile de faire baisser le taux de contamination au-dessous de 2%.⁽³⁸⁾ La Société américaine de microbiologie (ASM) et le CLSI recommandent de cibler des taux de contamination n'excédant pas 3% de l'ensemble des sets prélevés.^(1,16)

→ Impact des taux de contamination

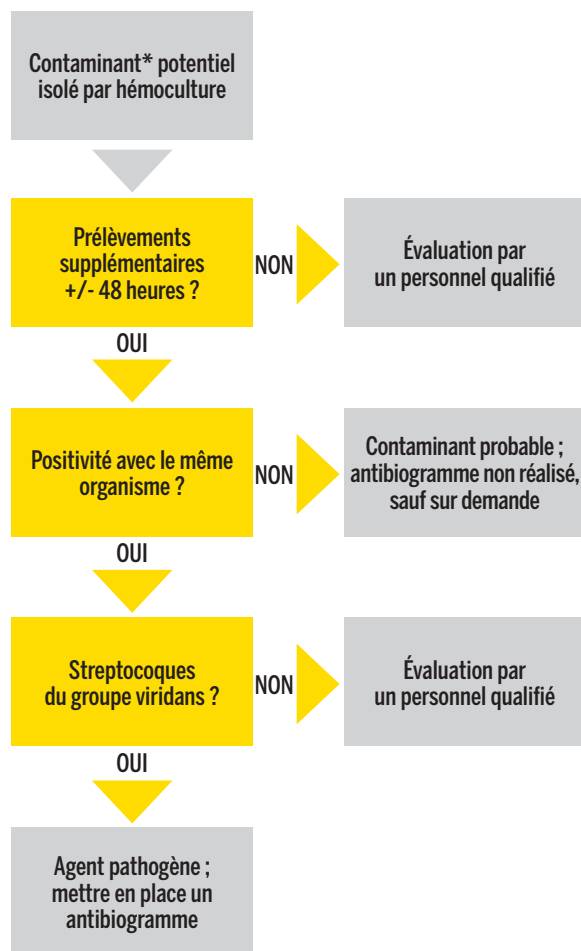
Une hémoculture contaminée peut entraîner un traitement antibiotique inutile, une durée d'hospitalisation plus longue et des coûts plus élevés.

Il a été montré que chaque résultat faux positif peut avoir pour conséquence :

- Une durée de séjour prolongée (en moyenne 3 jours).⁽³⁹⁾
- Une augmentation de 39% des coûts d'antibiothérapie intraveineuse.⁽³⁹⁾
- Des coûts d'hospitalisation supplémentaires compris entre 4 700 et 8 200 euros.^(40,41)
- Une augmentation de 20% des dépenses de laboratoire.⁽³⁹⁾
- Une prise d'antibiotiques prolongée de 3 jours.⁽³⁹⁾

Figure 5 : Exemple d'algorithme en laboratoire destiné à déterminer la contamination des hémocultures⁽⁴²⁾

Adapté de Richter *et al.* Minimizing the workup of blood culture contaminants: implementation and evaluation of a laboratory-based algorithm. *J Clin Microbiol.* 2002;40:2437-2444.



* Micro-organismes comme les staphylocoques à coagulase négative, *Streptococcus viridans*, *Bacillus* spp., *Propionibacterium* spp., les diphtéroïdes, *Micrococcus* spp.

2 GROS PLAN SUR L'ENDOCARDITE INFECTIEUSE

L'hémoculture est essentielle dans le diagnostic de l'endocardite infectieuse (infection des valves cardiaques). Dans cette maladie dont les causes restent difficiles à établir, il peut être nécessaire de procéder à plusieurs prélèvements au cours des épisodes fébriles, lorsque les bactéries se répandent par les valves cardiaques dans le sang. Pour les patients souffrant d'endocardite infectieuse, on obtient des hémocultures positives dans plus de 90 % des cas, si des conditions de culture optimales sont observées.⁽⁴³⁾

→ Endocardite infectieuse aiguë

Il s'agit d'une maladie fulminante qui progresse rapidement au fil des jours et des semaines, et qui peut être due à des agents pathogènes très virulents tels que *Staphylococcus aureus*. Lorsqu'elle est suspectée, la gravité de cette maladie implique d'effectuer sans délai des hémocultures afin d'éviter tout retard inutile dans la mise en place du traitement.

- Il convient de prélever plusieurs sets d'hémoculture au cours des 30 minutes précédant l'administration d'un traitement antimicrobien empirique.⁽⁴⁴⁾

→ Endocardite infectieuse subaiguë

Si l'on suspecte une infection subaiguë, il n'est pas urgent en général d'administrer un traitement empirique. Il est plus important d'essayer d'établir le diagnostic microbiologique.

- Il convient de prélever plusieurs sets d'hémoculture avant l'administration d'un traitement antimicrobien, en respectant des intervalles de 30 minutes à une heure entre chaque prélèvement. Cela peut aider à documenter une bactériémie continue, et peut revêtir une valeur clinique supplémentaire.⁽⁴⁾

→ Endocardite infectieuse fongique

L'incidence de l'endocardite fongique, phénomène rare autrefois, augmente considérablement.⁽⁴⁵⁾ Les espèces *Candida* représentent les agents pathogènes fongiques les plus fréquemment impliqués dans l'endocardite infectieuse.⁽⁴⁶⁾ Si des conditions de prélèvement optimales sont observées, le rendement des hémocultures positives dans l'endocardite fongique pour *Candida* spp. est de 83 à 95 %.⁽⁴⁷⁾

→ Quel est le nombre d'hémocultures nécessaires ?

Un total de trois à cinq sets d'hémoculture doit suffire pour permettre de faire la distinction entre contamination et bactériémie avérée.

- Il convient, dans un premier temps, de prélever deux ou trois sets d'hémoculture auprès de patients suspectés d'endocardite infectieuse. Si les 2-3 premiers sets sont négatifs au bout de 24 à 48 heures, prélever à nouveau deux ou trois autres sets d'hémoculture.⁽⁴⁾

Souvent, les patients chez lesquels on suspecte une endocardite infectieuse ont été mis sous antibiotiques avant le prélèvement sanguin. C'est ce qui explique le plus souvent l'**endocardite infectieuse à « hémoculture négative »**. Il est donc important d'utiliser un milieu d'hémoculture capable de neutraliser les antimicrobiens afin de soutenir la croissance microbienne en présence d'antibiotiques (voir page 10 « Quels milieux utiliser »).^(48,49)

Toutefois, l'endocardite à « hémoculture négative » peut aussi être due à des micro-organismes fastidieux comme *Aspergillus* spp., *Brucella* spp., *Coxiella burnetii*, *Chlamydia* spp. et les micro-organismes HACEK*.

- Comme les systèmes actuels d'hémoculture offrant une surveillance en continu peuvent récupérer l'ensemble des micro-organismes HACEK et d'autres micro-organismes fastidieux en l'espace de 5 jours, la prolongation de l'incubation au-delà de cette période n'est plus considérée comme nécessaire. En cas de doute diagnostique, il est préférable d'associer des techniques complémentaires de type amplification génique. Néanmoins, si tous les flacons d'hémoculture sont négatifs au bout de 5 jours et qu'une endocardite infectieuse est toujours suspectée, il convient de réaliser une subculture de l'ensemble des flacons sur gélose chocolat.⁽⁵⁰⁾

3 TRAITEMENT DES HÉMOCULTURES POSITIVES

Aujourd'hui, les systèmes d'hémoculture offrant une surveillance en continu proposent la meilleure solution en matière de traitement des échantillons sanguins. Les périodes d'incubation généralement reconnues peuvent varier de 5 à 7 jours, 5 jours étant le cas le plus souvent rencontré.⁽²⁷⁾ Le graphique représenté en Figure 4 montre que 98 % de l'ensemble des échantillons positifs ont été détectés dans les 3 premiers jours (voir page 14).⁽³⁵⁾

Chez les patients dont l'état de santé évolue vers un choc septique, la mortalité augmente de 7,6 % par heure s'ils ne bénéficient pas d'un traitement approprié.⁽¹⁵⁾

Lorsque l'instrument signale un événement positif, le flacon est retiré du système ; une coloration de Gram et une subculture sont aussi réalisées.

- **Si le test de coloration de Gram effectué sur l'échantillon est positif**, la morphologie de l'organisme doit être communiquée au médecin. Il convient de réaliser immédiatement des subcultures ou de mettre en oeuvre des techniques rapides (par ex. diagnostic moléculaire) afin d'obtenir des informations supplémentaires pour identifier l'organisme, et de réaliser un antibiogramme le plus tôt possible.
- **Si le test de coloration de Gram effectué sur l'échantillon est négatif**, la courbe de croissance du flacon peut être vérifiée, une subculture est réalisée et le médecin est informé, selon le résultat de la subculture.

Une hémoculture positive est jugée critique et doit être signalée dès qu'elle est connue, en raison de son impact immédiat sur les décisions à prendre en termes de soins pour le patient. Des études ont montré qu'une **communication rapide des informations** se traduisait par une nette amélioration des résultats et des économies en matière de prise en charge des patients.^(51, 52)

Une étude réalisée par Barenfanger, *et al.* (Am J Clin Pathol, 2008) a confirmé que les colorations de Gram des hémocultures positives constituent un

facteur très important ayant une influence sur le **traitement approprié et les résultats des patients**. L'étude a mis en évidence une augmentation statistiquement significative du taux de mortalité chez les patients dont les hémocultures avaient été traitées tardivement (la coloration de Gram a été réalisée au moins 1 heure après que l'hémoculture a été détectée positive ; $P = 0,0389$). Le retrait des flacons en temps utile et la communication des résultats de la coloration de Gram ont un impact positif sur les soins dispensés aux patients, et cette étude vient étayer la nécessité de disposer des instruments d'hémoculture 24 heures sur 24 et 7 jours sur 7.⁽⁵³⁾

Les récentes avancées technologiques telles que **MALDI-TOF** (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight, Désorption-ionisation laser assistée par matrice et temps de vol) permettent d'identifier rapidement et définitivement l'organisme. Les **diagnostics moléculaires** peuvent identifier les agents pathogènes les plus répandus dans les hémocultures positives ainsi que des gènes de résistance aux antibiotiques spécifiques associés aux infections du sang. L'identification rapide permet aux médecins de prescrire un traitement antimicrobien plus ciblé et plus efficace avant toute influence positive sur les résultats.⁽⁵⁴⁻⁵⁶⁾

En outre, des techniques permettant d'**évaluer la sensibilité aux antibiotiques** doivent être mises en oeuvre sur des hémocultures positives afin de fournir au clinicien un résultat complet. Une utilisation appropriée des antibiotiques est cruciale dans les cas d'infections du sang et de sepsis. Le fait de déterminer avec précision le profil de résistance microbienne de l'agent pathogène incriminé afin de choisir le traitement antibiotique le plus efficace peut avoir d'importantes répercussions sur les résultats des patients.

Si elles sont traitées correctement, les hémocultures donnent des informations cliniques pertinentes qui peuvent contribuer à améliorer la survie des patients, à réduire la durée de séjour à l'hôpital et à diminuer le recours aux antibiotiques.

4 INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

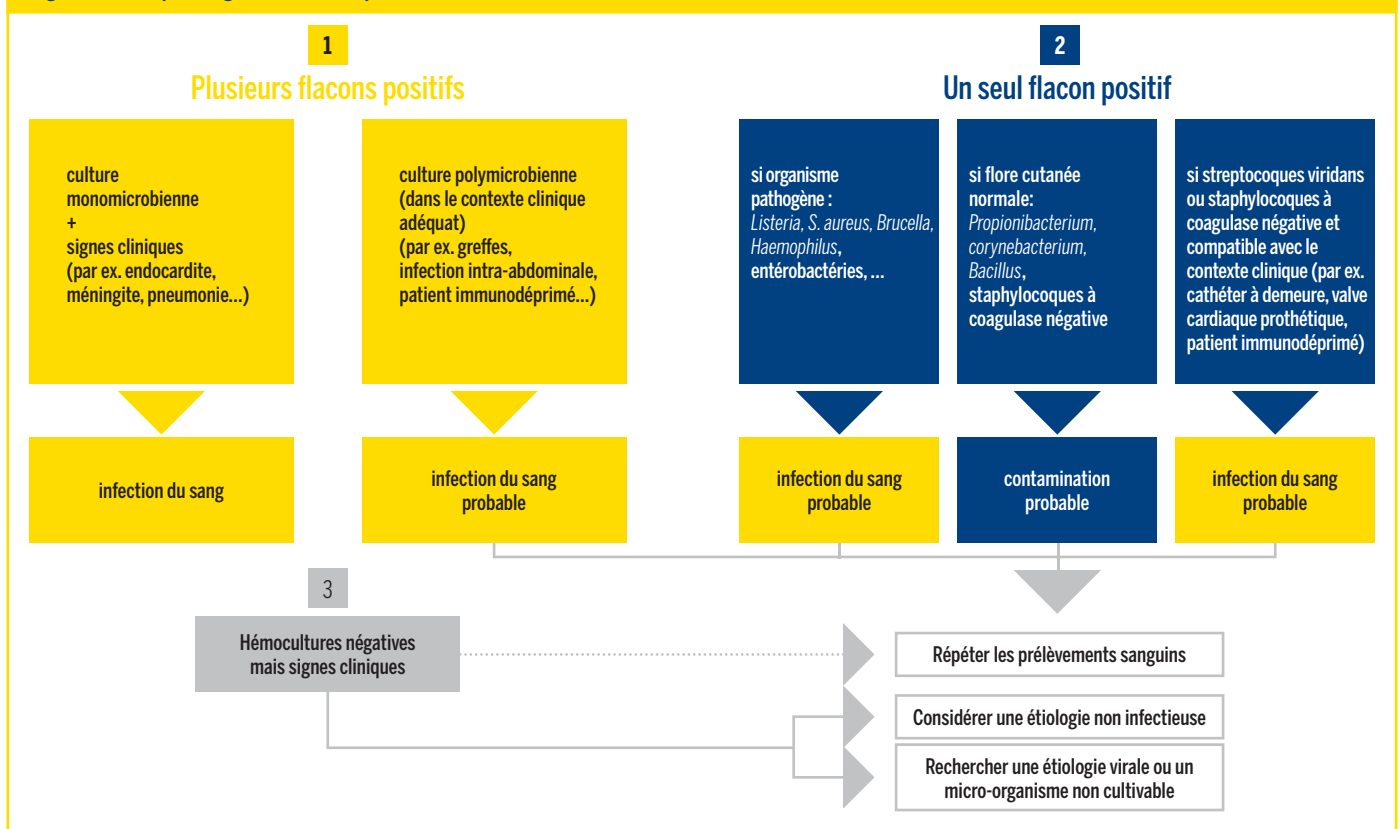
Le laboratoire de microbiologie peut communiquer aux cliniciens des informations utiles susceptibles de les aider à déterminer si un échantillon ayant fait l'objet d'une hémoculture est un vrai positif ou un faux positif (contaminant). Par exemple, l'identité du micro-organisme isolé peut contribuer à déterminer si la culture est contaminée, et le nombre de flacons présentant une positivité avec le même organisme peut aider à confirmer des infections avérées.⁽⁵⁷⁾

Le délai de positivité est également un facteur utilisé pour déterminer une contamination potentielle dans la mesure où le délai de détection pour les contaminants est généralement plus long en raison d'une charge biologique globale inférieure.

Les laboratoires doivent se concerter avec leur directeur médical pour créer un algorithme permettant de déterminer si un organisme isolé est ou non un contaminant ou un agent infectieux.

Les modèles, tels que l'algorithme ci-dessous, peuvent donner des **indications sur l'interprétation des résultats des hémocultures**.^(42, 57, 58) Ces lignes directrices doivent être utilisées conjointement avec les directives cliniques, par exemple la numération formule sanguine du patient, la présence de cathéters, les résultats des examens radiologiques, etc.

Figure 6 : Exemple d'algorithme d'interprétation de résultats d'hémoculture





5 LIGNES DIRECTRICES EN MATIÈRE D'HÉMOCULTURE/DE SEPSIS

→ Lignes directrices internationales

Lignes directrices de l'OMS applicables aux prélèvements sanguins : meilleures pratiques en phlébotomie.

Organisation mondiale de la santé 2010.

http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599221_eng.pdf

Campagne « Surviving Sepsis » (« Survivre au sepsis ») : Guide international pour la prise en charge du sepsis sévère et du choc septique : 2012.

Dellinger RP., et al. Crit Care Med. 2013;41:580-637.

<http://www.survivingsepsis.org/guidelines/Pages/default.aspx>

Troisièmes définitions consensuelles du sepsis et du choc septique (Sepsis 3).

Singer M., et al. JAMA. 2016;315(8):801-810.

<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=2492881>

→ Lignes directrices nationales

PAYS	LIGNES DIRECTRICES
Australia	Australia Clinical Excellence Commission Sepsis Kills Program: Adult Blood Culture Sampling Guide v2 2012 SHPN (CEC) 120077 http://www.cec.health.nsw.gov.au/_data/assets/pdf_file/0005/259412/adult-blood-culture-sampling-guideline.pdf
Brazil	Elmor de Araujo MR, Hemocultura: recomendações de coleta, processamento e interpretação dos resultados, J Infect Control 2012; 1: 08-19 http://www.iqg.com.br/pbsp/img_up/01355393320.pdf
Europe	European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, European Manual for Clinical Microbiology, 1 st Edition, 2012. https://www.escmid.org/escmid_library/manual_of_microbiology/

LIGNES DIRECTRICES EN MATIÈRE D'HÉMOCULTURE/DE SEPSIS

PAYS	LIGNES DIRECTRICES
France	REMIC 6 ^{ème} édition 2018, 6.1, chapitre 14, Bactériémies et fongémies- hémocultures http://www.sfm-microbiologie.org/
Germany	Reinhart K et al., Prevention, diagnosis, therapy and follow-up care of sepsis: 1 st revision of S-2k guidelines of the German Sepsis Society (Deutsche Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG)) and the German Interdisciplinary Association of Intensive Care and Emergency Medicine (DIVI). German Medical Science, 2010, Vol. 8: 1-86 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2899863/pdf/GMS-08-14.pdf
South Africa	Guideline for the optimal use of blood cultures. SAMJ 2010; Vol. 100, No. 12: 839-843 SAMJ http://www.fidssa.co.za/Guidelines/Guideline_for_the_optimal_use_of_blood_cultures.pdf
UK	<ul style="list-style-type: none"> ■ UK Standards for Microbiology Investigations. Investigation of Blood Cultures (for Organisms other than Mycobacterium species). Bacteriology B 37 Issue no: 8 Issue date: 04.11.14 Page: 1 of 51. Issued by the Standards Unit, Health Protection Agency, PHE. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/372070/B_37i8.pdf ■ Taking blood cultures - a summary of best practice: Saving lives reducing infection, delivering clean and safe care. London: Department of Health; 2007. http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20120118164404/hcai.dh.gov.uk/files/2011/03/Document_Blood_culture_FINAL_100826.pdf
USA	<ul style="list-style-type: none"> ■ American Society for Microbiology: Cumitech 1C, 2005 (EJ Baron et al.) ASM Press ■ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI[®]), document M47-A, Vol 27, 2007 (ML Wilson et al.) ■ Emergency Nurses Association (ENA). Clinical Practice Guideline: Prevention of Blood Culture Contamination https://www.ena.org/practice-research/research/CPG/Documents/BCCCPG.pdf ■ E. Septimus. CDC Clinician Guide for Collecting Cultures. 2015 http://www.cdc.gov/getsmart/healthcare/implementation/clinician_guide.html

RÉFÉRENCES

1. Principles and procedures for Blood Cultures; Approved Guideline, CLSI document M47-A. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); Wayne, P.A. 2007
2. Adhikari N.K.J., Fowler R.A., Bhagwanjee S., Rubenfeld G.D., Critical care and the global burden of critical illness in adults. *Lancet* 2010;376:1339-1346
3. WSD fact sheet 2013/www.world-sepsis-day.org
4. Kumar, A, *et al.* Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*. 2009 Nov;136(5):1237-48
5. Singer M., *et al.* The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801-810
6. Koneman E.W., *et al.*, Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Third Edition
7. European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, European Manual for Clinical Microbiology, 1st Edition, 2012
8. Garey KW., Rege M., Manjunath P. Pai, Mingo DE., Suda KJ., Turpin RS., Bearden DT. Time to Initiation of Fluconazole Therapy Impacts Mortality in Patients with Candidemia: A Multi-Institutional Study. *Clin Infect Dis*. 2006;43(1):25-31
9. Khatib R., Saeed S., Sharma M., Riederer K., Fakhri MG., Johnson LB. Impact of initial antibiotic choice and delayed appropriate treatment on the outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006;25(3):181-5
10. Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest*. 1999;115(2):462-74
11. Harbarth S., Garbino J., Pugin J., Romand J.A., Lew D., Pittet D. Inappropriate initial antimicrobial therapy and its effect on survival in a clinical trial of immunomodulating therapy for severe sepsis. *Am J Med*. 2003;115(7):529-535
12. Lodise T.P., McKinnon P.S., Swiderski L., Rybak M.J. Outcomes Analysis of Delayed Antibiotic Treatment for Hospital-Acquired *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *CID* 2003;36:1419-1423
13. Kang C.I., Kim S.H., Kim H.B., Park S.W., Choe Y.J., Oh M.D., Kim E.C., Choe K.W. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome. *Clin Infect Dis*. 2003;37(6):745-51
14. Forrest G.N., Mankes K., Jabra-Rizk M.A., Weekes E., Johnson J.K., Lincalis D.P., Venezia R.A. Peptide Nucleic Acid Fluorescence In Situ Hybridization-Based Identification of *Candida albicans* and Its Impact on Mortality and Antifungal Therapy Costs. *J Clin Microbiol*. 2006 Sep; 44(9): 3381-3383
15. Kumar A, *et al.* Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. 2006;34(6):1589-96
16. Baron, E.J., M.P. Weinstein, W.M. Dunne, Jr., P. Yagupsky, D.F. Welch, and D.M. Wilson. *Cumitech IC, Blood Cultures IV. Coordinating ed., E.J. Baron. ASM Press, Washington, D.C. 2005*
17. Mermel L.A., Maki D.G. Detection of bacteremia in adults : consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann Intern Med*. 1993;119:270-272
18. Bouza E, Sousa D, Rodríguez-Créixems M, Lechuz JG, Muñoz P. Is the volume of blood cultured still a significant factor in the diagnosis of bloodstream infections? *J Clin Microbiol*. 2007 45:2765-9
19. Cockerill FR III, Wilson J.W., Vetter E.A., *et al.* Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis*. 2004 ;38 :1724-1730
20. Kellogg J.A., Manzella J.P., Bankert D.A. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J Clin Microbiol*. 2000;38:2181-2185
21. Freedman S.B., Roosevelt G.E. Utility of anaerobic blood cultures in a pediatric emergency department. *Pediatr Emerg Care*. 2004;20(7):433-6
22. Lee A., Weinstein MP, Mirrett S., Reller LB. Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures Are Needed? *J Clin Microbiol* 2007;45:3546-3548
23. Lee DH., Kim S.C., Bae IG., Koh EH., Kim S., Clinical Evaluation of BacT/ALERT FA Plus and FN Plus Bottles Compared with Standard Bottles. *J. Clin. Microbiol*. 2013; 51(12): 4150-4155
24. Amarsy-Guerle R., Mougari F., Jacquier H., Oliary J., Benmansour H., Riahi J., Berçot B., Raskine L., Cambau E., High medical impact of implementing the new polymeric bead-based BacT/ALERT™ FA Plus and FN Plus blood culture bottles in standard care, *Eur J. Clin. Microbiol Dis*. 2015;34(5):1031-1037
25. Kirn T.J., Mirrett S., Reller L.B., Weinstein M.P., Controlled Clinical Comparison of BacT/ALERT FA Plus and FN Plus Blood Culture Media with BacT/ALERT FA and FN Blood Culture Media, *J. Clin. Microbiol*. 2014; 52(3): 839-843
26. Doern C., Mirrett S., Halstead D., Abid J., Okada P., Reller L.B. Controlled Clinical Comparison of New Pediatric Medium with Adsorbent Polymeric Beads (PF Plus) versus Charcoal-Containing PF Medium in the BacT/ALERT Blood Culture System, *J. Clin. Microbiol*. 2014; 52(6): 1898-1900
27. Riley J.A., Heiter B.J., Bourbeau P.P. Comparison of recovery of blood culture isolates from two BacT/ALERT FAN aerobic blood culture bottles with recovery from one FAN aerobic bottle and one FAN anaerobic bottle. *J. Clin. Microbiol*. 2003;41:213-217

28. Weinstein, M. P., M. L. Towns, S. M. Quartey, S. Mirrett, L. G. Reimer, G. Parmigiani, and L. B. Reller. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s; a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin. Infect. Dis.* 1997;24:584-602
29. UK Department of Health: Taking Blood Cultures – A summary of best practice. 2007
30. Weinstein M.P. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology, and interpretation of results. *Clin Infect Dis.* 1996 ;23 :40-46
31. Everts R.J., Vinson E.N., Adholla P.O., Reller L.B. Contamination of catheter-drawn blood cultures. *J. Clin Microbiol.* 2001;39:3393-3394
32. Cornaglia G., *et al.* European Manual of Microbiology. ESCMID-SFM 2012
33. Kirm T.J., Weinstein M.P. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19(6):513-520
34. Wilson M.L., Mirrett S., Reller L.B. *et al.* Recovery of clinically important microorganisms from the BacT/ALERT blood culture system does not require testing for 7 days. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1993;16:31-34
35. Bourbeau PP., Foltz M. Routine incubation of BacT/ALERT FA and FN blood culture bottles for more than 3 days may not be necessary. *J Clin Microbiol.* 2005;43:2506-2509
36. Clinical Infectious Disease. Edited by David Schlossberg. Cambridge University Press, 2015
37. Keri K. Hall and Jason A. Lyman, Updated Review of Blood Culture Contamination, *Clin. Microbiol. Rev.* 2006, 19(4):788
38. Dunne W.M. Jr., Nolte F.S., Wilson M.L. Cumitech 1B, Blood Cultures III. Coordinating ed., Hindler J.A. ASM Press. Washington, D.C. 1997
39. Hall, K.K. and J.A. Lyman. Updated review of blood culture contamination. *Clinical Microbiology Reviews.* 2006;19:788-802
40. Bamber, A.I., J. G. Cuniffe, D. Nayar, R. Ganguly and E. Falconer. The effectiveness of introducing blood culture collection packs to reduce contamination. *British Journal of Biomedical Science.* 2009;66(1):1-9.
41. Gander, R. M., L. Byrd, M. DeCrescenzo, S. Hirany and M. Bowen, J. Baughman. Impact of blood cultures drawn by phlebotomy on contamination rates and health care costs in a hospital emergency department. *J. Clin. Microbiol.* 2009;47:1021-1024
42. Richter S.S., Beekman S.E., Croco D.J., Koontz R.P., Pfaller M.A., Doern G.V. Minimizing the workup of blood culture contaminants: implementation and evaluation of a laboratory-based algorithm. *J Clin Microbiol.* 2002;40:2437-2444
43. Towns M.L., Reller L.B. Diagnostic methods: current best practices and guidelines for isolation of bacteria and fungi in infective endocarditis. *Infect Dis Clin N Am.* 2002;16:363-376
44. Osborn TM., Nguyen HB., Rivers EP. Emergency medicine and the surviving sepsis campaign: an international approach to managing severe sepsis and septic shock. *Ann Emerg Med* 2005;46:228-231
45. Rubenstein E., Lang R. Fungal endocarditis. *Eur Heart J.* 1995; 16(Suppl B):84-89
46. Ellis ME., Al-Abdely H., Standridge A., Greer W., Venturea W. Fungal endocarditis: evidence in the world literature, 1965-1995. 2001;32:50-62
47. McLeod R., Remington JS. Fungal endocarditis. In: Rahimtoola SH *et al.*, eds. *Infective Endocarditis.* New York, NY: Gune & Stratton.1978:211-290
48. Ziegler R., Johnscher I., Martus P., Lendarth D., Just HM. Controlled Clinical Laboratory Comparison of Two Supplemented Aerobic and Anaerobic Media Used in Automated Blood Culture Systems To Detect Bloodstream Infections. *J Clin Microbiol.* 1998;36:657-661
49. Pohlman JK., Kirkley BA., Easley KA., Basille BA., Washington JA. Controlled Clinical Evaluation of BACTEC Plus Aerobic/F and BacT/ALERT Aerobic FAN Bottles for Detection of Bloodstream Infections. *J Clin Microbiol.* 1995;33:2856-2858
50. Baron E.J., Scott J.D., Tompkins L.S. Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures. *Clin Infect Dis.* 2005;41:1677-1680
51. Beekmann SE., Diekema D.J., Chapin KC., Goern GV. Effects of rapid detection of bloodstream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J Clin Microbiol.* 2003;41:3119-3125
52. Munson E., Diekema DJ., Beekmann SE., Chapin KC., Doern GV. Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. *J Clin Microbiol.* 2003;41:495-497
53. Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L, Sangwan G, Lawhorn J, Drake CA, Verhulst SJ, Peterson R, Moja LB, Ertmoed MM, Moja AB, Shevlin DW, Vautrain R, Callahan CD. Decreased Mortality Associated With Prompt Gram Staining of Blood Cultures, *Am J Clin Pathol* 2008;130:870-876
54. Timbrook T, Boger MS, Steed LL, Hurst JM, 2015. Unanticipated Multiplex PCR Identification of Polymicrobial Blood Culture Resulting in Earlier Isolation, Susceptibilities, and Optimization of Clinical Care. *J. Clin. Microbiol.* 2015;53(7):2371-3
55. Bauer KA, West JE, Balada Llasat J, Pancholi P, Stevenson KB, Goff DA. An Antimicrobial Stewardship Program's Impact with Rapid Polymerase Chain Reaction Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* / *S. aureus* Blood Culture Test in Patients with *S. aureus* Bacteremia. *Clin. Infect. Dis.* 2010;51(9):1074-1080.
56. Dierkes C, Ehrenstein B, Siebig S, Linde H-J, Reischl U, Salzberger B. Clinical impact of a commercially available multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis. *BMC Infect. Dis.* 2009;9(1):126
57. Weinstein MP. Blood Culture Contamination: Persisting Problems and Partial Progress. *J Clin Microbiol.* 2003;41:2275-2278
58. Weinstein MP., Towns ML, Quartey SM. *et al.* The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis.* 1997;24:584-602
59. Applied Phlebotomy. Dennis J. Ernst, Dennis J. Ernst (MT(ASCP)). Lippincott Williams & Wilkins, 2005
60. Essentials Of Medical Laboratory Practice. Constance L Lieseke, Elizabeth A Zeibig. F.A. Davis, 2012
61. Qamruddin A, Khanna N, Orr D. Peripheral blood culture contamination in adults and venipuncture technique: prospective cohort study. *J Clin Pathol.* 2008 61:509-13

RECOMMANDATIONS EN MATIÈRE DE PRÉLÈVEMENT DES HÉMOCULTURES

SYNTHÈSE DES BONNES PRATIQUES

A) UTILISATION D'UN DISPOSITIF DE PRÉLÈVEMENT SANGUIN À AILLETTES

(méthode de prélèvement privilégiée)^{59,60,61}

1 PRÉPARER LE DISPOSITIF DE PRÉLÈVEMENT SANGUIN

Vérifier l'identité du patient et rassembler tous les éléments requis avant de commencer le prélèvement. **Ne pas utiliser de flacons d'hémoculture dont la date de péremption est dépassée**, ou de flacons présentant des signes d'endommagement, de détérioration ou de contamination.



Pour les flacons anaérobie et aérobie, utiliser le repère visuel de remplissage optimal noté sur l'étiquette du flacon.



2 PRÉPARER LES FLACONS POUR L'INOCULATION

laver les mains à l'eau et au savon, puis sécher, ou utiliser un lave-mains à base d'alcool ou une autre solution de désinfection pour les mains à l'efficacité reconnue. Retirer le bouchon plastique des flacons d'hémoculture et désinfecter le septum à l'aide d'un désinfectant approprié, à l'efficacité reconnue, comme une solution de chlorhexidine et d'alcool isopropylique à 70 %, de l'alcool isopropylique à 70 % ou de la teinture d'iode (compresse ou applicateur). Changer de compresse/d'applicateur pour chaque flacon.

Laisser sécher le septum des flacons 30 à 60 secondes pour une désinfection complète.



3 PRÉPARER LE SITE DE PONCTION VEINEUSE

Poser un garrot jetable et palper une veine. **Porter des gants d'examen** (le recours à des gants stériles n'est pas nécessaire).

Nettoyer la peau à l'aide d'un désinfectant approprié, comme une solution de chlorhexidine et d'alcool isopropylique à 70 % ou de la teinture d'iode (compresse ou applicateur). **Le site de ponction veineuse ne peut être considéré comme totalement propre tant que le désinfectant ne s'est pas complètement évaporé.**



4 PONCTION VEINEUSE

Relier un dispositif de prélèvement sanguin à ailettes à un adaptateur de prélèvement dédié. **Afin d'éviter de contaminer le site de ponction, ne pas palper de nouveau la veine préparée avant d'insérer l'aiguille.** Insérer l'aiguille dans la veine préparée.



5 INOCULATION DES FLACONS DE CULTURE

Placer l'adaptateur sur le **flacon aérobie** et appuyer à la verticale pour perforer le septum. Tenir le flacon à la verticale, en dessous du niveau du site de ponction, et se servir du repère visuel de remplissage pour mesurer avec précision le volume de l'échantillon*. Ajouter 10 ml de sang par flacon dans le cas d'un adulte et jusqu'à 4 ml par flacon dans le cas d'un enfant. Une fois le flacon aérobie inoculé, retirer l'adaptateur et répéter la procédure pour le **flacon anaérobie**.



6 AUTRES TESTS SANGUINS

L'adaptateur de prélèvement permet de guider la position des tubes. Les tubes sont prélevés sur le même adaptateur et à la suite des flacons.

Si d'autres tests sanguins sont demandés, prélever toujours en premier lieu l'échantillon destiné à l'hémoculture.

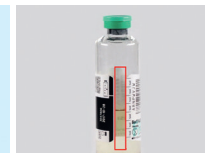
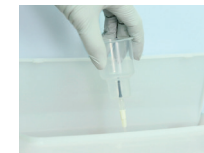


7 TERMINER LA PROCÉDURE

Jeter le dispositif de prélèvement à ailettes dans un conteneur à objets tranchants et appliquer un pansement approprié sur le site de ponction. Retirer les gants et se laver les mains avant de consigner les informations afférentes à la procédure, notamment les indications concernant la culture, l'heure de prélèvement, le site de la ponction veineuse et les complications éventuelles rencontrées.

S'assurer que les étiquettes sont collées dans la zone réservée à l'étiquette du flacon. Ne pas masquer les codes à barres du flacon et s'assurer que les étiquettes détachables de codes à barres n'ont pas été enlevées. Ne pas masquer la fenêtre de lecture du volume de sang sur les flacons.

Les flacons inoculés doivent être acheminés au laboratoire aux fins des tests aussi rapidement que possible, de préférence sous 2 à 4 heures. Ne pas préincuber les flacons à 37°C en cas de retard d'acheminement au laboratoire.



**Éviter de tenir le flacon d'hémoculture à l'horizontale ou à l'envers. Le prélèvement des flacons sans adaptateur doit être proscrit. Éviter également de procéder au prélèvement sanguin avec une aiguille reliée directement au bouchon adaptateur, car le niveau de remplissage ne peut alors pas être contrôlé lors du prélèvement et il existe un risque de reflux de l'échantillon dans la circulation sanguine.*

Ces recommandations illustrent les meilleures pratiques en matière de prélèvement des hémocultures, inspirées des préconisations de l'OMS (Organisation mondiale de la santé) (Lignes directrices de l'OMS applicables aux prélèvements sanguins : meilleures pratiques en phlébotomie). 2010. ISBN 978 92 4 159922 1). Se reporter aux lignes directrices en vigueur dans votre établissement.

UTILISATION D'UNE AIGUILLE ET D'UNE SERINGUE

SYNTHÈSE DES BONNES PRATIQUES

B) UTILISATION D'UNE SERINGUE ET D'UNE AIGUILLE

Elles ne doivent être utilisées que dans le strict respect des mesures préventives d'exposition accidentelle au sang*. Les aiguilles ne doivent pas être recapuchonnées, retirées de seringues jetables ou manipulées de quelque façon que ce soit.

1 PRÉPARER LE SET DE PRÉLÈVEMENT SANGUIN

Vérifier l'identité du patient et rassembler tous les éléments requis avant de commencer le prélèvement.

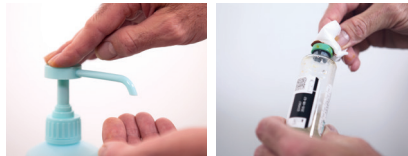
Ne pas utiliser de flacons d'hémoculture dont la date de péremption est dépassée ou de flacons présentant des signes d'endommagement, de détérioration ou de contamination.

Pour les flacons anaérobie et aérobie, utiliser le repère visuel de remplissage optimal noté sur l'étiquette de chaque flacon.



2 PRÉPARER LES FLACONS POUR L'INOCULATION

Se laver les mains à l'eau et au savon, puis sécher, ou utiliser un lave-mains à base d'alcool ou une autre solution de désinfection pour les mains à l'efficacité reconnue. Retirer le bouchon plastique des flacons d'hémoculture et désinfecter le septum à l'aide d'un désinfectant approprié, à l'efficacité reconnue, comme une solution de chlorhexidine et d'alcool isopropylique à 70 %, de l'alcool isopropylique à 70 % ou de la teinture d'iode (compresse ou applicateur). Changer de compresse/d'applicateur pour chaque flacon. **Laisser sécher le col des flacons 30 à 60 secondes pour une désinfection complète.**



3 PRÉPARER LE SITE DE PONCTION VEINEUSE

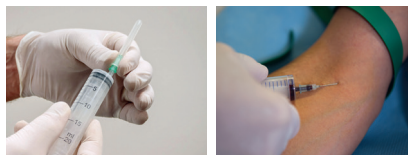
Poser un garrot jetable et palper une veine. **Porter des gants d'examen** (le recours à des gants stériles n'est pas nécessaire). Nettoyer la peau à l'aide d'un désinfectant approprié, comme une solution de chlorhexidine et d'alcool isopropylique à 70 % ou de la teinture d'iode (compresse ou applicateur). **Le site de ponction veineuse ne peut être considéré comme totalement propre tant que le désinfectant ne s'est pas complètement évaporé.**



4 PONCTION VEINEUSE

Fixer l'aiguille à une seringue.

Afin d'éviter de contaminer le site de ponction, ne pas palper de nouveau la veine. Insérer l'aiguille dans la veine préparée. Introduire l'aiguille dans la veine.



5 INOCULATION DES FLACONS DE CULTURE

Prélever l'échantillon soit 20ml. Transférer le sang dans les flacons d'hémoculture, en commençant par le **flacon anaérobie**. Tenir le flacon à la verticale et se servir des traits de graduation du repère visuel de remplissage optimal pour mesurer avec précision le volume de l'échantillon. Ajouter 10 ml de sang par flacon dans le cas d'un adulte et jusqu'à 4 ml par flacon dans le cas d'un enfant. Une fois le flacon anaérobie inoculé, répéter la procédure pour le **flacon anaérobie**.



6 TERMINER LA PROCÉDURE

Jeter l'aiguille et la seringue dans un conteneur à objets tranchants et appliquer un pansement approprié sur le site de ponction. Retirer les gants et se laver les mains avant de consigner les informations afférentes à la procédure, notamment les indications concernant la culture, l'heure de prélèvement, le site de la ponction veineuse et les complications éventuelles rencontrées.

S'assurer que les étiquettes sont collées dans la zone réservée sur de l'étiquette du flacon. Ne pas masquer les codes à barres du flacon et s'assurer que les étiquettes détachables de codes à barres n'ont pas été enlevées. Ne pas masquer la fenêtre de lecture du volume de sang sur les flacons. Les flacons inoculés doivent être acheminés au laboratoire aux fins des tests aussi rapidement que possible, de préférence sous 2 - 4 heures.



* Se reporter à des lignes directrices reconnues telles que celles émises par l'OMS ou le CDC : http://www.who.int/injection_safety/phleb_final_screen_ready.pdf <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2000-108/pdfs/2000-108.pdf>

Ces recommandations illustrent les meilleures pratiques en matière de prélèvement des hémocultures, inspirées des préconisations de l'OMS (Organisation mondiale de la santé) (Lignes directrices de l'OMS applicables aux prélèvements sanguins : meilleures pratiques en phlébotomie). 2010. ISBN 978 92 4 159922 1). Se reporter aux lignes directrices en vigueur dans votre établissement.



bioMérieux

Le diagnostic *in vitro* au service de la santé publique

Acteur majeur dans le domaine du diagnostic *in vitro* depuis plus de 50 ans, bioMérieux est depuis toujours animée par un esprit pionnier et un engagement sans faille pour l'amélioration de la santé publique dans le monde.

Nos solutions de diagnostic apportent une forte valeur médicale aux professionnels de santé. Elles leur fournissent une information pertinente et fiable, le plus rapidement possible, pour les aider dans leurs décisions thérapeutiques et l'amélioration de la prise en charge des patients.

En favorisant l'accès du plus grand nombre à une meilleure connaissance du diagnostic, bioMérieux contribue à améliorer l'éducation médicale, qui constitue l'un des piliers de sa mission. En s'attachant à la valeur médicale du diagnostic, notre collection de livrets pédagogiques vise à sensibiliser les professionnels de santé sur le rôle essentiel des résultats des tests de diagnostic dans la prise de décisions médicales.

**D'autres documents à caractère pédagogique sont disponibles.
Contactez votre représentant bioMérieux local**

Les informations contenues dans ce livret sont fournies à titre de référence uniquement et ne se veulent pas exhaustives. Elles n'associent en aucun cas bioMérieux S.A. au diagnostic établi ou au traitement prescrit par le médecin. Toujours consulter un directeur médical, un médecin ou autre professionnel de la santé qualifié en ce qui concerne les processus et/ou les protocoles de diagnostic et de traitement d'une pathologie médicale.

Lire attentivement les instructions et la notice d'utilisation des produits



bioMérieux S.A. • 69280 Marcy l'Étoile • France
Tel.: + 33 (0)4 78 87 20 00 • Fax: +33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.fr