

BACT- Bonnes pratiques des prélèvements respiratoires pour la recherche de mycobactéries

Applicable au 02/12/2019

Approuvé par Christelle KOEBEL, *biologiste médical* le 27/11/2019

Validé par Émilie TALAGRAND-REBOUL, *biologiste médical*

Rédigé par Frédéric SCHRAMM

Processus de rattachement : R2 - Pré-analytique

1. OBJET/ DOMAINE D'APPLICATION

Ce protocole s'applique à tout le personnel soignant et médical susceptible de prélever des échantillons respiratoires destinés à la recherche de mycobactéries par culture ou par PCR.

2. INSTRUCTIONS

a) Réalisation des prélèvements

i) Quand réaliser les prélèvements ?

- Pour le **diagnostic initial** : les échantillons pour la recherche de mycobactéries par examen microscopique direct et par culture à visée diagnostique sont à prélever **avant de mettre en route le traitement antituberculeux (ou l'antibiothérapie adaptée au traitement d'une mycobactériose atypique)**.
- Pour le **suivi d'une tuberculose** : les premiers échantillons pour la recherche de mycobactéries par examen microscopique direct et par culture destinés à suivre l'efficacité thérapeutique (prélèvements de contrôle) sont à prélever **au plus tôt 15 jours à 3 semaines après le début du traitement** (effectuer le suivi plus précocement est inutile : les examens directs et les cultures mettent beaucoup plus de temps à se négativer que des bactéries banales).

ii) Précautions d'hygiène & sécurité

- Précautions standard : appliquer les **précautions standard d'hygiène** [tablier en plastique, ports de gants à usage unique, protection oculaire ...] : voir IntraHUS à la rubrique Hygiène > Recommandations > Précautions standard.
- Protection respiratoire spécifique : appliquer les **précautions complémentaires AIR chez les patients suspects ou confirmés de tuberculose** [port d'un appareil de protection respiratoire (masque FFP2)] : voir IntraHUS à la rubrique Hygiène > Recommandations > Précautions complémentaires > Tuberculose. ; pour le recueil des expectorations « induites » (émises après inhalation d'aérosols d'eau physiologique stérile), il est recommandé que le personnel soignant se place derrière le patient pour limiter le risque de transmission.

iii) Conditionnement et acheminement des échantillons au laboratoire

- Utiliser des **pots à usage unique stériles secs** (pas de conservateur, pas de milieu de transport, pas de contamination par de l'eau du robinet, et surtout pas de formol ou autre liquide de Bouin sinon l'analyse ne sera pas réalisée), à encolure large (pour limiter le risque de souiller le contenant).
- Les tubes secs stériles sont acceptés pour les prélèvements réalisés par fibroscopie.
- Veiller à bien **refermer hermétiquement** le pot ou les tubes utilisés (si ouvert, risque de contamination de l'échantillon et du personnel réceptionnant l'échantillon au laboratoire), en veillant à bien retirer les éventuelles tubulures de prélèvements.
- Veiller à **ne pas souiller l'extérieur** du pot ou du tube.
- Veiller au **bon étiquetage des échantillons** (règles habituelles d'identitovigilance).
- **Les prélèvements programmés peuvent être réalisés le week-end, un jour férié, ou la veille d'un week-end ou d'un jour férié** et ne doivent pas être différés : ils seront analysés dès le jour ouvré suivant.
- Les prélèvements sont à **acheminer rapidement au laboratoire et au maximum dans les 24h, y compris ceux réalisés le week-end ou un jour férié**, afin qu'ils puissent être conservés dans les conditions optimales au laboratoire avant leur prise en charge technique.

iv) Expectorations et tubages gastriques

- Le **volume minimal est de 2 mL**, mais de plus grands volumes permettent d'améliorer la sensibilité de l'analyse : **idéalement remplir le pot avec le maximum d'échantillon disponible**.
- Répéter les prélèvements (expectorations ou tubages gastriques) [attention, l'approche microbiologique d'une tuberculose est sensiblement différente de celle d'une mycobactériose atypique] :
 - **pour le diagnostic de la tuberculose**, un seul prélèvement positif en culture suffit à confirmer le diagnostic ; les prélèvements respiratoires simples (expectorations ou tubages gastriques) sont réalisés **3 jours de suite** pour augmenter les chances d'avoir au moins un échantillon positif ;

- **pour les mycobactérioses atypiques**, il est souvent très difficile d'éradiquer l'infection, malgré l'utilisation d'antibiothérapies complexes et prolongées plusieurs mois voire années ; par conséquent, avant d'initier un traitement de mycobactériose atypique, il est primordial d'établir avec certitude le diagnostic d'infection et d'éliminer une simple colonisation : si pour *M. kansasii* une seule expectoration positive suffit pour établir le diagnostic, les critères microbiologiques d'infection pour les autres mycobactéries atypiques requièrent la présence en culture de la même espèce sur **plusieurs expectorations espacées chacune d'au moins une semaine** (≥ 2 cultures positives pour *M. avium*, ≥ 3 cultures positives pour les autres espèces).
- Pour les **expectorations**, prélever si possible **le matin à jeun** ; veiller à recueillir des expectorations « **profondes et non salivaires** » pour améliorer la sensibilité de l'analyse.
- Les **tubages gastriques** peuvent remplacer les expectorations si le sujet n'expectore pas ; prélever **le matin le plus tôt possible après le réveil, à jeun, chez un sujet maintenu alité depuis la veille au soir**.
- **Interdiction de « pooler » les différents échantillons** : chaque échantillon doit faire l'objet d'un examen séparé.
- **Les expectorations post-fibroscopie ont une excellente valeur diagnostique pour la recherche de mycobactéries : nous conseillons de les envoyer systématiquement au labo en plus des autres échantillons.**

v) Aspirations trachéales

- Ce type de prélèvement peut remplacer le recueil des expectorations ou des tubages gastriques chez un patient intubé : les mêmes consignes que pour les expectorations et tubages gastriques s'appliquent (≥ 2 mL [...], sans pooler les échantillons).

vi) Prélèvements obtenus par fibroscopie (lavages bronchiques / LBA)

- Le **volume minimal est de 2 mL : idéalement remplir le pot avec le maximum d'échantillon disponible**.
- À noter que plus l'échantillon recueilli est concentré, meilleure sera la sensibilité de l'analyse : à ce titre, l'aspiration bronchique est plus pertinente que le LBA ou le prélèvement distal protégé qui ont une valeur diagnostique moindre.
- À noter également que la fibroscopie induit une irritation bronchique importante, et la toux qu'elle entraîne dans les heures qui suivent favorise l'émission d'expectorations : **les expectorations post-fibroscopie ont une excellente valeur diagnostique pour la recherche de mycobactéries et nous conseillons de les envoyer systématiquement au labo en plus des autres échantillons.**
- En cas de lésion focalisée, une biopsie pulmonaire peut également être réalisée.

b) Prescription des examens

Remplir toutes les informations nécessaires sur la feuille de demande : identité du patient, date et heure du prélèvement, renseignements cliniques pertinents, traitements antibiotiques en cours, site anatomique prélevé.

En cochant la case « BK (mycobactéries »), le laboratoire effectuera une recherche de mycobactéries (mycobactéries tuberculeuses et mycobactéries atypiques) par examen microscopique direct et par culture. En cas de positivité de l'examen direct et/ou de la culture, le laboratoire effectuera de façon systématique la PCR du complexe tuberculeux, la recherche des principales mutations de résistance aux antituberculeux, et l'antibiogramme phénotypique des mycobactéries tuberculeuses.

La PCR du complexe tuberculeux n'est pas effectuée de façon systématique sur les échantillons primaires (sauf en cas de positivité de l'examen microscopique), et doit être précisée de façon manuscrite sur la feuille de demande si celle-ci doit être effectuée en plus de l'examen direct et de la culture. À noter qu'en cas de faible volume, le laboratoire privilégiera toujours la recherche par culture plutôt que la recherche par PCR (qui est limitée à la seule recherche du complexe tuberculeux et à la détection des mutations de résistance à la rifampicine : cette technique réalisée seule ne permet pas d'**isoler** la souche, nécessaire à l'identification précise au rang d'espèce et à la réalisation d'un antibiogramme phénotypique complet).

Les recherches de mycobactéries particulières doivent être spécifiées de façon manuscrite sur la feuille de demande. Ex : recherche spécifique de *M. xenopi* (meilleure croissance à 42 °C, nécessitant l'ensemencement de milieux complémentaires).