

Chapitre 2

Prélèvement et transport des échantillons de matières fécales

Les échantillons de matières fécales devront être prélevés lors des premiers stades d'une maladie entérique, quand les pathogènes sont généralement présents en nombre élevé dans les selles et avant que les antibiotiques ne soient administrés (Tableau 2-1).

Tableau 2-1. Prélèvement et transport des échantillons pour le diagnostic de laboratoire

Quand faut-il faire les prélèvements	Quand le patient a la diarrhée, dès que la maladie commence (de préférence pendant les 4 jours suivant le début de la maladie) et avant que le traitement par antibiotiques ne soit administré.
Comment faut-il prélever	Écouvillonnage rectal ou écouvillon de selles fraîches dans le milieu de transport.
Milieu de transport	Cary-Blair ou autre milieu de transport approprié (pour <i>V. cholerae</i> , NE PAS UTILISER de soluté salin tamponné glycérolé).
Conservation après prélèvement	Réfrigérer à 4°C si les échantillons sont reçus par le laboratoire dans les 48 heures, sinon congeler à -70°C. Les échantillons de patients que l'on pense atteints de choléra peuvent être transportés à température ambiante et gardés plus longtemps si nécessaire, mais il vaut mieux que les selles soient réfrigérées pendant le transport.
Transport	Fermer les tubes/récipients pour éviter les fuites ; les placer dans des récipients hermétiques pour les protéger de la glace humide ou sèche. Envoyer dans des boîtes étanches contenant de la glace (sèche ou humide) par service postal rapide.

Des spécimens de selles ou d'écouvillonnage rectal devront être prélevés auprès de 10 à 20 personnes répondant aux conditions suivantes :

- Avoir une diarrhée aqueuse (choléra) ou une diarrhée sanglante (dysenterie) au moment du prélèvement
- Le début de la maladie remonte à moins de 4 jours avant la collecte des échantillons
- Le patient n'a pas encore commencé de traitement antibiotique pour la maladie diarrhéique

A. Recueil des selles

Il faut recueillir les selles dans un récipient propre, sans résidus de désinfectant ou de détergent et pourvu d'un couvercle bien adapté et hermétique. Les échantillons ne doivent pas être prélevés à partir des vidoirs d'hôpital (bassins de lit) car ils peuvent contenir des restes de désinfectants ou d'autres contaminants. Les échantillons de selles doivent être réfrigérés si possible et traités dans un délai maximum de deux heures après le prélèvement. Les échantillons qui ne peuvent pas être traités dans les deux heures doivent être placés dans un milieu de transport et réfrigérés immédiatement.

1. Placer les échantillons de selles dans des milieux de transport

On peut recueillir une petite quantité de matières fécales en introduisant un écouvillon dans l'échantillon et en lui imprimant un mouvement de rotation. Si du mucus ou des lambeaux d'épithélium sont présents, il faut toujours les inclure dans le milieu de transport. Insérer immédiatement l'écouvillon dans le milieu de transport. (Ce milieu devra être réfrigéré pendant une ou deux heures si possible.) Introduire l'écouvillon jusqu'au fond du tube et couper la partie supérieure de la tige que les doigts ont touchée. Revisser à fond le bouchon et placer le tube dans un réfrigérateur ou une glacière.

2. Écouvillonnage rectal

L'écouvillonnage peut se faire de la manière suivante : humidifier l'écouvillon dans un milieu de transport stérile, l'introduire dans le sphincter rectal sur 2 à 3



Figure 2-1. Le milieu de transport semi-solide de Cary-Blair

cm (1-1,5 pouces), tourner et retirer. Vérifier la présence de traces de matières fécales sur l'écouvillon. Insérer immédiatement l'écouvillon dans le milieu de transport réfrigéré tel que décrit dans le paragraphe ci-dessus et placer le tube dans un réfrigérateur ou une glacière.

Le nombre d'écouvillons nécessaires à l'ensemencement dépend du nombre de boîtes de Petri à ensemencer. En général, si on cherche à détecter plusieurs pathogènes, il faut collecter au moins deux échantillons de selles ou écouvillons rectaux par patient et les deux écouvillons doivent être insérés dans le même tube de milieu de transport.

3. Milieu de transport

Milieu de transport de Cary-Blair

Le milieu de transport de Cary-Blair peut être utilisé pour le transport de nombreux pathogènes entériques, notamment *Shigella*, *V. cholerae* et *E. coli* O157:H7 (Figure 2-1). Sa consistance semi-solide permet un transport facile et le milieu de Cary-Blair est stable et peut être stocké après préparation, à température ambiante pendant une durée maximale de un an dans des récipients fermés hermétiquement. Son pH étant élevé (8,4), c'est le milieu de choix pour le transport et la conservation de *V. cholerae*.

Préparation et contrôle de qualité du milieu de Cary-Blair

Le préparer en suivant les instructions du fabricant. [Note : Il existe plusieurs formules déshydratées de Cary-Blair disponibles dans le commerce. Certaines demandent que l'on ajoute du chlorure de calcium, d'autres n'en ont pas besoin. Le milieu de Cary-Blair peut également être préparé à partir de produits séparés.] Quand le milieu de Cary-Blair est préparé, il doit être mis dans des récipients en quantité suffisante pour que les écouvillons soient recouverts de 4 cm au moins de milieu de transport. Par exemple, des quantités de 5 à 6 ml doivent être versées dans des tubes à bouchon vissé de 13 x 100 mm. Dévisser les bouchons et les stériliser en les chauffant (ne pas mettre dans l'autoclave) à 100°C pendant 15 minutes. Revisser le capuchon après stérilisation. Le milieu de Cary-Blair est assez stable s'il est conservé dans des récipients fermés hermétiquement, dans un endroit sec pour que le milieu ne se dessèche pas. Il peut être utilisé pendant au maximum un an et tant que l'on n'observe pas de perte de volume, de contamination ou de changement de couleur.

Autres milieux de transport

Les milieux Amies et Stuart sont d'autres milieux similaires à celui de Cary-Blair. Ces deux milieux de transport sont acceptables pour *Shigella* et *E. coli* O157:H7 mais ils ne sont pas aussi bons que le Cary-Blair pour le transport de *V. cholerae*.

L'eau peptonée alcaline (APW) peut être utilisée pour le transport de *V. cholerae* pendant de brèves périodes mais c'est un milieu de transport d'une

qualité inférieure à celui de Cary-Blair et que l'on utilisera uniquement si ce dernier est indisponible. L'APW ne devra pas être utilisée si le repiquage est différé de plus de 6 heures après la réalisation du prélèvement, car d'autres organismes et germes vont proliférer et masquer les vibrions.

Le soluté salin tamponné glycérolé (BGS) est un milieu de transport qui convient pour *Shigella* spp., mais par contre, il est inapproprié pour le transport de *V. cholerae*. Le BGS a un autre inconvénient, il ne peut être utilisé que pendant un mois après sa préparation et, comme c'est un milieu liquide, il a plus de risque d'être répandu ou renversé pendant le transport.

4. Conservation des échantillons dans le milieu de transport

Si le milieu de transport doit être gardé à température ambiante, il devrait être réfrigéré si possible pendant une ou deux heures avant son utilisation. Les échantillons préservés dans le milieu de transport devraient être réfrigérés jusqu'à leur traitement. Si les échantillons sont gardés au-delà de 2 à 3 jours avant d'être mis en culture, il vaut mieux les congeler immédiatement à -70°C . Il sera éventuellement possible de récupérer des pathogènes d'échantillons réfrigérés au plus tard 7 jours après le prélèvement, mais le rendement diminue après les deux premiers jours. Il est particulièrement important de procéder à un ensemencement rapide ou à une congélation immédiate dans le milieu Cary-Blair pour l'isolement de *Shigella* qui est plus fragile que les autres organismes entériques. Les échantillons de selles qui ont été collectés auprès de patients atteints de choléra n'ont pas besoin d'être réfrigérés dans un milieu de transport à moins qu'ils ne risquent d'être exposés à des températures élevées ($>40^{\circ}\text{C}$).

5. Échantillons non préservés

Quand des milieux de transport ne sont pas disponibles, on peut, lorsque l'on suspecte la présence de *V. cholerae*, tremper du papier filtre, de la gaze ou du coton dans les selles liquides puis les placer dans un sachet en plastique. Le sachet doit être hermétiquement fermé pour que l'échantillon reste humide et ne se dessèche pas. L'adjonction de quelques gouttes de sérum physiologique stérile dans le sachet aide à maintenir l'échantillon humide. La réfrigération de l'échantillon pendant le transport est souhaitable, mais pas indispensable. Cette méthode n'est pas appropriée pour le transport de *Shigella* ou *E. coli* O157:H7 et c'est également un moyen moins efficace pour préserver *V. cholerae*.

B. Préparation des échantillons pour le transport

Les tubes contenant les échantillons doivent porter une étiquette qui les identifie clairement et qui indique le numéro de l'échantillon et si possible le nom du patient et la date du prélèvement. Il faut inscrire les numéros sur la partie dépolie du tube en utilisant un stylo indélébile. S'il n'existe pas de partie dépolie, inscrire l'information sur un ruban de sparadrap et le mettre sur le tube. Il faut également inscrire l'information concernant le patient sur une fiche de données,

joindre une copie de cette fiche aux échantillons et en conserver une. Un exemple de fiche de données est présenté dans l'Annexe F.

Si les tubes sont envoyés par voie aérienne, consultez les réglementations afférentes à l'emballage qui sont présentées dans la publication *Dangerous Goods Regulations (DGR)*. *International Air Transport Association (IATA)*. Ces réglementations sont résumées au chapitre 13, « Emballage et expédition des échantillons cliniques et agents étiologiques. » Même si les échantillons sont envoyés par un autre moyen, ces réglementations sont d'excellentes directives pour emballer et préparer pour le transport tout matériel infectieux ou susceptible de l'être.

1. Échantillons réfrigérés

Il serait préférable de transporter les échantillons réfrigérés au laboratoire en les emballant dans une boîte hermétiquement fermée contenant des pains réfrigérés ou de la glace. S'il s'agit de glace humide, il faut placer les tubes ou les containers dans des récipients hermétiques, par exemple des sacs en plastique, pour protéger les échantillons de l'eau quand la glace fond.

2. Échantillons congelés

Les échantillons congelés doivent être transportés dans de la carboglace (ou glace sèche) en utilisant les mesures de précaution suivantes :

- Placer les tubes dans des récipients ou les envelopper dans du papier pour les protéger de la glace. Le contact direct avec la carboglace peut briser les tubes en verre.
- Si les échantillons ne sont pas encore mis dans des récipients hermétiques, il faut les protéger du gaz carbonique en fermant les capuchons à fond ou en mettant les tubes dans un sac en plastique qui sera hermétiquement fermé avec de l'adhésif. Le gaz carbonique va faire baisser le pH du milieu de transport et affecter la survie des organismes.
- Vérifier que la glacière est remplie de carboglace au minimum au tiers. Si les échantillons sont envoyés par avion et si on utilise plus de 2 kg de carboglace, il faut conclure des accords spéciaux avec la compagnie aérienne. Les compagnies aériennes n'acceptent que les paquets contenant moins de 2 kg de carboglace.
- L'adresse doit être marquée bien lisiblement avec le nom et le numéro de téléphone du laboratoire de destination. Il faut marquer en majuscules ÉCHANTILLONS MÉDICAUX URGENTS : APPELER L'EXPÉDITEUR À L'ARRIVÉE, MAINTENIR RÉFRIGÉRÉ (ou CONGELÉ si tel est le cas). Ne pas oublier de mettre toutes les étiquettes ou fiches nécessaires, par exemple celles qui sont exigées par l'IATA, à l'extérieur du paquet.

Références

Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for the collection of laboratory specimens associated with outbreaks of gastroenteritis. MMWR 1990 ; 39 (No. RR-14).

Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory methods for the diagnosis of *Vibrio cholerae*. Atlanta, Georgie : CDC, 1994.