

**Laboratoire de Biologie Médicale multi sites du CHU de Lyon**  
**Institut des Agents Infectieux - Service de Bactériologie**  
**Bon de demande d'examens de bactériologie moléculaire**

**Groupement Hospitalier Nord**

Institut des Agents Infectieux, bâtiment O - Hôpital de la Croix-Rousse  
Laboratoire de Bactériologie  
103 grande rue de la Croix-Rousse  
69317 Lyon cedex 04  
Tel : 04 72 07 11 11  
Fax : 04 72 07 18 42



**Informations générales concernant le diagnostic moléculaire en bactériologie**

**Nature des prélèvements :**

Tous les sites anatomiques et tous les liquides biologiques peuvent théoriquement faire l'objet de prélèvements pour le diagnostic par technique moléculaire.

Pour la **PCR « universelle »**, du fait de l'amplification simultanée de tous les ADN bactériens, la technique n'a d'intérêt que si le prélèvement est mono microbien.

- Prélèvements classiquement techniques : biopsies, pus, valves cardiaques, LCR, ascites, pleuraux, liquides articulaires, os, tissus profonds, prélèvements intra-oculaires.
- Prélèvements non techniques : selles, urines, prélèvements broncho-pulmonaires et digestifs, prélèvements génitaux.

**Il est très important de bien préciser la nature du prélèvement que vous nous envoyez. Elle conditionne le pré-traitement de l'échantillon et la technique d'extraction utilisée (lyse enzymatique, mécanique, lyse des globules rouges, fluidification du prélèvement, etc...).**

Notre laboratoire ne réalise pas les extractions d'ADN à partir de prélèvements inclus en paraffine. Il les réalise sur les extraits d'ADN provenant des laboratoires d'anatomo-pathologie pour des recherches spécifiques (hors PCR universelle).

**Types de PCR réalisées**

Pour toute PCR non répertoriée sur le bon de demande ci-dessous, merci de nous contacter par téléphone.

**Conditions de prélèvements :**

Prélever dans un **tube sec** ou un **poudrier sec stérile**. **N'ajouter aucun liquide** (fixateur, sérum physiologique, liquide de transport...) car ceux-ci constituent souvent la source de contaminants ou d'inhibiteurs de PCR.

Les prélèvements de **sang** doivent être réalisés sur **EDTA**, jamais sur héparine car c'est un inhibiteur de PCR.

Pour les liquides, un **volume minimal de 200 µL** est requis, excepté pour les prélèvements intra-oculaires pour lesquels un volume inférieur peut être accepté.

**Conservation des prélèvements :**

Nous recommandons de conserver les prélèvements à +4°C avant envoi. Pour une conservation plus longue (plusieurs jours), privilégier une congélation à -20°C exceptés les tubes de sang (conservés à + 4°C).

**Conditions d'acheminement des prélèvements :**

Acheminement par transporteur agréé à température ambiante ou +4°C ou -20°C.

**Tarifification :**

Les tarifications appliquées suivent les nomenclatures RIHN et liste complémentaire définies par la DGOS et disponible sur le site internet du Ministère des Affaires Sociales et de la Santé (<http://social-sante.gouv.fr/systeme-de-sante-et-medico-social/recherche-et-innovation/article/le-referentiel-des-actes-innovants-hors-nomenclature-de-biologie-et-d>).

**Délai de rendu du résultat :**

- 24 à 48 heures ouvrées pour une PCR spécifique
- 3 à 5 jours ouvrés pour une PCR nécessitant un séquençage

**Communication des résultats :**

Tous les résultats positifs sont dans un premier temps communiqués par téléphone ou mail.

Un compte-rendu papier est envoyé pour toutes les demandes quel que soit le résultat.

<b>PATIENT</b> Nom : ..... Prénom : ..... Date de Naissance : ..... Sexe : .....	<b>DEMANDEUR</b> Nom du médecin / biologiste : ..... Service / Adresse : ..... Tel : ..... Fax : ..... Mail : .....
<b>NATURE DU PRELEVEMENT :</b>	<b>RESULTAT DE LA CULTURE SI REALISEE :</b>
<b>CONTEXTE CLINIQUE :</b>  <b>CAS PARTICULIER DES LCR :</b> En raison d'un manque de sensibilité de la PCR universelle sur les LCR pauci-cellulaires (Leucocytes < 50 éléments/mm <sup>3</sup> ), seules des PCR spécifiques seront réalisées dans ce cas-là. <b>Pour toute demande de PCR sur LCR, merci de joindre les résultats de la cyto-chimie et le contexte clinique justifiant la demande.</b> <b>CAS PARTICULIER DU SANG (TUBE EDTA) :</b> PCR réalisées uniquement dans un contexte d'endocardite infectieuse du fait du manque de sensibilité. Nous contacter au préalable.	
<b>PCR universelle</b> - Amplification et séquençage* du gène codant l'ARNr 16S - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Biopsies, pus, valves cardiaques, LCR, ascites, pleuraux, liquides articulaires, os, tissus profonds, prélèvements intra-oculaires</li> <li>▪ Sensibilité généralement inférieure à celle des PCR spécifiques</li> </ul>
<b>Streptococcus spp</b> - Amplification et séquençage* du gène <i>tuf</i> - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ PCR spécifiques des genres <i>Staphylococcus</i> et <i>Streptococcus</i>, plus sensibles et/ou discriminantes que la PCR universelle</li> </ul>
<b>Staphylococcus spp</b> - Amplification et séquençage* du gène <i>tuf</i> - BHN 250 (liste complémentaire)	* Séquençage réalisé par la société Biofidal, Vaulx-en-velin
<b>Staphylococcus aureus</b> - Amplification du gène <i>femA<sub>2</sub></i> par PCR en temps réel avec sonde - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ PCR plus sensible que la PCR universelle et que la PCR spécifique <i>Staphylococcus</i></li> </ul>
<b>Bordetella pertussis / parapertussis</b> - Kit <i>B. pertussis &amp; parapertussis</i> , Diagénodé® - B 140 (NABM)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Uniquement réalisée sur aspiration nasopharyngée (à défaut écouvillon).</li> <li>▪ Technique non validée sur crachats.</li> </ul>

<b>Streptococcus pyogenes</b> - Amplification du gène de l'ATPase par PCR en temps réel avec sonde - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Liquides pleuraux, prélèvements ostéo-articulaires, liquides profonds...</li> </ul>
<b>Streptococcus pneumoniae</b> - Amplification du gène <i>lytA</i> par PCR en temps réel avec sonde - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ LCR, pleuraux, prélèvements ostéo-articulaires...</li> </ul>
<b>Neisseria meningitidis, génogroupage</b> - Kit Dia-MenSerogroup, Diagénodé® - BHN 450 (liste RIHN)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Biopsies cutanées, sang, LCR</li> </ul>
<b>Listeria monocytogenes</b> - Kit LIST, Progenie molecular, ORGENTEC® - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ LCR</li> </ul>
<b>Kingella kingae</b> - Amplification du gène <i>rxA</i> par PCR en temps réel avec sonde - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Liquides articulaires, os</li> <li>▪ Enfant &lt; 4 ans</li> </ul>
<b>Borrelia (maladie de Lyme)</b> - Kit BBUR, Progenie molecular, ORGENTEC® - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Biopsies cutanées, liquides articulaires</li> <li>▪ <b>Non réalisée sur LCR</b> du fait du manque de sensibilité de la technique</li> </ul>
<b>Francisella tularensis / B. henselae</b> - Amplification des gènes <i>ISFlu2</i> et <i>ribC</i> par PCR en temps réel avec sondes - BHN 450 (liste RIHN)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Ganglions, abcès</li> </ul>
<b>Bartonella henselae / quintana</b> - Amplification du gène <i>ribC</i> par PCR en temps réel avec sondes - BHN 450 (liste RIHN)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Valves cardiaques, biopsies cutanées, ganglions</li> </ul>
<b>Tropheryma whippelii</b> - Amplification de séquences répétées par PCR en temps réel avec sonde - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sang, biopsies digestives, LCR, selles, salive</li> </ul>
<b>Vérotoxines de E. coli (SHU)</b> - Amplification des gènes <i>stx1</i> , <i>stx2</i> et <i>eae</i> par PCR temps réel - BHN 450 (liste RIHN)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Selles</li> <li>▪ <b>Non réalisée sur souche</b></li> </ul>
<b>Coxiella burnetii</b> - kit COX, Progenie, ORGENTEC® - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Valves cardiaques, liquides de ponction</li> <li>▪ Autres prélèvements : nous contacter.</li> </ul>
<b>Propionibacterium acnes</b> - Amplification et séquençage* du gène codant l'ARNr 16S spécifique de <i>P. acnes</i> - BHN 250 (liste complémentaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Prélèvements ostéo-articulaires, valves cardiaques, matériels vasculaires</li> </ul>
<b>Autres PCR : nous contacter</b>	