

Diagnostic de la coqueluche par culture et PCR

La confirmation biologique du diagnostic de la coqueluche est indispensable. Comme indiqué dans les recommandations du HSCP (http://www.hcsp.fr/docspdf/avisrapports/hcspa20080905_coqueluche.pdf) « *le diagnostic clinique de la coqueluche peut être difficile, notamment chez les sujets antérieurement vaccinés et les adultes, qui représentent actuellement le réservoir essentiel de la maladie et sont à l'origine de la plupart des contaminations de jeunes enfants ainsi que des épidémies de coqueluche en collectivité* ».

La sérologie n'est pas recommandée en absence de tests commerciaux fiables.

La culture et la PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel sont maintenant les tests de diagnostic de référence chez les sujets qui toussent depuis moins de 3 semaines. Pour les sujets toussant depuis plus de trois semaines il est recommandé de rechercher un cas secondaire et de réaliser une culture ou une PCR en temps réel sur ce cas.

La réalisation de ces tests nécessite **soit un écouvillonnage soit une aspiration nasopharyngée chez le patient**. Le mode opératoire pour la réalisation du prélèvement est visible sur les sites suivants :

- **Centre National de Référence (CNR) de la coqueluche et autres bordetelloses :**

http://www.pasteur.fr/pasteur/film_cnr/prelev.swf

La réalisation de la PCR en temps réel doit suivre les recommandations de la réunion de consensus (Riffelmann M, Wirsing von König CH, Caro V, Guiso N. Nucleic amplification tests for diagnosis of *Bordetella* infections. J Clin Microbiol 2005 ; 43 : 4925). Le CNR est à la disposition des laboratoires voulant mettre au point le test.

La liste des laboratoires réalisant ce test, avec contrôle de qualité annuel, se trouve aussi sur le site du CNR de la coqueluche et autres bordetelloses :

<http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-referance-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/cnr-et-ccoms/cnr-de-la-coqueluche-et-autres-bordetelloses/identite-et-coordonnees>

REALISATION D'UN ECOUVILLONNAGE PHARYNGE OU D'UNE ASPIRATION NASOPHARYNGEE POUR LE DIAGNOSTIC DE LA COQUELUCHE

OBJET : Règles et recommandations d'usage pour la réalisation d'un écouvillonnage pharyngé (EP) ou d'une aspiration nasopharyngée (ANP)

I – Prélèvement par écouvillonnage

La technique est identique pour l'adulte et l'enfant

Matériel

- Ecouvillon dacron avec milieu Amies : ref – 142 C fournisseur COPAN

Protocole

- Etiqueter le tube conformément aux bonnes pratiques de laboratoire
- Mettre des gants à usage unique
- Faire asseoir le patient, la tête droite
- Soulever la pointe du nez de manière à offrir la vision de la fosse nasale en enfilade au niveau de son plancher
- Saisir entre deux doigts l'écouvillon par le corps métallique et non par le bouchon plastique qui n'est pas centré.
- Introduire l'écouvillon dans la narine perpendiculairement au plan de la face (et non parallèlement à l'arête nasale) en longeant le plancher de la fosse nasale
- Enfoncer l'écouvillon jusqu'au contact de la paroi rhino-pharyngée. Une résistance doit être nettement perçue
- Faire rouler l'écouvillon entre les doigts pour prélever l'échantillon de mucus
- Retirer l'écouvillon dans l'axe et prendre garde à ne pas toucher l'orifice narinaire

- Introduire l'écouvillon dans le tube contenant le milieu Amies et fermer le bouchon

II – Prélèvement par aspiration

La technique est identique pour l'adulte et l'enfant. De technique plus délicate, elle est toutefois à préférer si les mucosités sont abondantes

Matériel

- Sonde d'aspiration rhino-pharyngée longueur 15 cm, diamètre 06: ref – 522.06 fournisseur laboratoire VYGON, 95440 ECOUEN
- Ecouvillon dacron avec milieu Amies (seul le milieu de transport sera utilisé) : ref – 142 C fournisseur COPAN
- Seringue stérile de 20 ml à usage unique : BD Plastipak
- Ciseaux
- Gants stériles

Protocole

- Etiqueter le tube conformément aux bonnes pratiques de laboratoire
- Mettre des gants à usage unique
- Faire asseoir le patient, la tête droite
- Soulever la pointe du nez de manière à offrir la vision de la fosse nasale en enfilade au niveau de son plancher
- Brancher la sonde d'aspiration sur la seringue de 20 ml
- Saisir la sonde d'aspiration entre deux doigts
- Introduire la sonde dans la narine perpendiculairement au plan de la face (et non parallèlement à l'arête nasale) en longeant le plancher de la fosse nasale
- Enfoncer la sonde jusqu'au contact de la paroi rhino-pharyngée. Une résistance doit être nettement perçue. Ne pas forcer car la sonde est souple et peut se couder et atteindre l'oropharynx voire l'hypopharynx, ce qui est contre-indiqué.

- Aspirer le mucus au moyen de la seringue sans mobiliser la sonde. Si l'on sent une résistance, reculer la sonde de 5mm.
- Retirer la sonde dans l'axe et prendre garde à ne pas toucher l'orifice narinaire
- Introduire la sonde dans le tube contenant le milieu Amies, vider son contenu au moyen de la seringue, la sectionner au moyen des ciseaux et fermer le bouchon.

