

C.BIO.

la com des biologistes

Le magazine interne des laboratoires des
Centres hospitaliers d'Epinal et Remiremont



Disponibilité des résultats
sur le serveur

Examens à titre personnel

Mise en place d'une
nouvelle analyse

EAL et gestion des aspects

Rendu des numérations de
formules sanguines

DOSSIER : PV et Tests
simplex / triplex

Janvier 2022 – n°9

Edito 2022

2

En ce début d'année, l'équipe du laboratoire et les biologistes vous souhaitent une excellente année

Ce début d'année est l'occasion pour nous de vous présenter notre nouvelle collègue qui est arrivée en cours d'année 2021 :

Dr Manon MOUGINOT orientée vers la biochimie et l'hématologie.

Nous renforçons notre équipe de biologistes pour répondre à vos besoins et à ceux des patients.

Nous profitons de cette gazette pour vous décrire la démarche à suivre si vous souhaitez que l'on diversifie notre offre de biologie médicale. Nous avons aussi fait un point sur les modalités à suivre si vous voulez réaliser des bilans en interne et sur la modalité d'utilisation du serveur.

Nous avons aussi souhaité dans notre gazette décrire les changements que nous avons mis en place, que ce soit pour un rendu plus rapide des explorations des anomalies lipidiques ou pour la démarche de prise en charge de la recherche des virus respiratoires par biologie moléculaire.

Afin d'expliquer notre démarche aux (nombreux) nouveaux prescripteurs au sein de l'activité de gynécologie, les microbiologistes ont résumé la gestion des prélèvements gynécologiques au laboratoire selon les indications et ont fait un rappel des bonnes pratiques de prélèvements.

Les hématologues ont résumé la gestion des demandes de NFS pour expliquer dans quels cas nous réalisons des lames et les raisons de certaines exigences en cas de demandes spécifiques.

Bonne lecture

Dr Anthony LEON
Biologiste-responsable Laboratoire GCS Epinal-Remiremont

Disponibilité des résultats sur le serveur

Pour les praticiens et les sage-femmes l'ensemble des résultats sont disponibles sur le serveur (y compris ceux des patients externes du laboratoire).

Si un patient est connu sur les deux établissements deux dossiers sont disponibles. Il n'est pas possible de fusionner les deux dossiers donc chercher celui d'intérêt.

Pour plus de précisions sur l'utilisation du serveur voir la procédure :

Utilisation et accès aux serveurs de résultats du laboratoire du CHED et de Remiremont (SUP-LABO-004 ou FT/OPC/SMT/0003).

3

Conduite à tenir pour un examen interne à titre personnel

Nous acceptons les prélèvements du personnel en heures ouvrables du laboratoire dans les conditions suivantes

- Papier d'identité et d'organismes payeurs (carte vitale et mutuelle) pour faire le bon de circulation
- Fiche de suivi médicale (disponible sur le manuel de prélèvement) si prélèvement non effectué au laboratoire.

A noter que le laboratoire (deux sites) n'effectue pas les prélèvements nasopharyngés et prélèvements vaginaux.

Concernant la transmission, les résultats sont envoyés par courrier au patient et médecin prescripteur (mail selon médecin) mais les résultats sont présents sur le serveur donc visibles en fonction des droits des différents personnels.

Mise en place d'une nouvelle analyse

Dans le cadre d'une demande de mise en place d'un examen de biologie médicale au laboratoire ou dans un service de soins, demander la fiche GCS/J/J2/ENR05 (Justification de la mise en place d'un dispositif de biologie délocalisée ou de demande d'un nouvel examen au laboratoire (anthony.leon@ch-ed.fr))

- ⇒ Des dérogations existent ; en cas de doute le laboratoire est disponible pour répondre aux questions éventuelles.

Une fois la fiche complétée les modalités sont étudiées

- Soit par les biologistes si l'examen est à internaliser au laboratoire lors des staffs
- Soit par la commission des professionnels de santé conformément à la procédure de Gestion des examens de biologie médicale délocalisée EBMD (SUP-LABO-005 ou PO/OPC/SMT/0082)

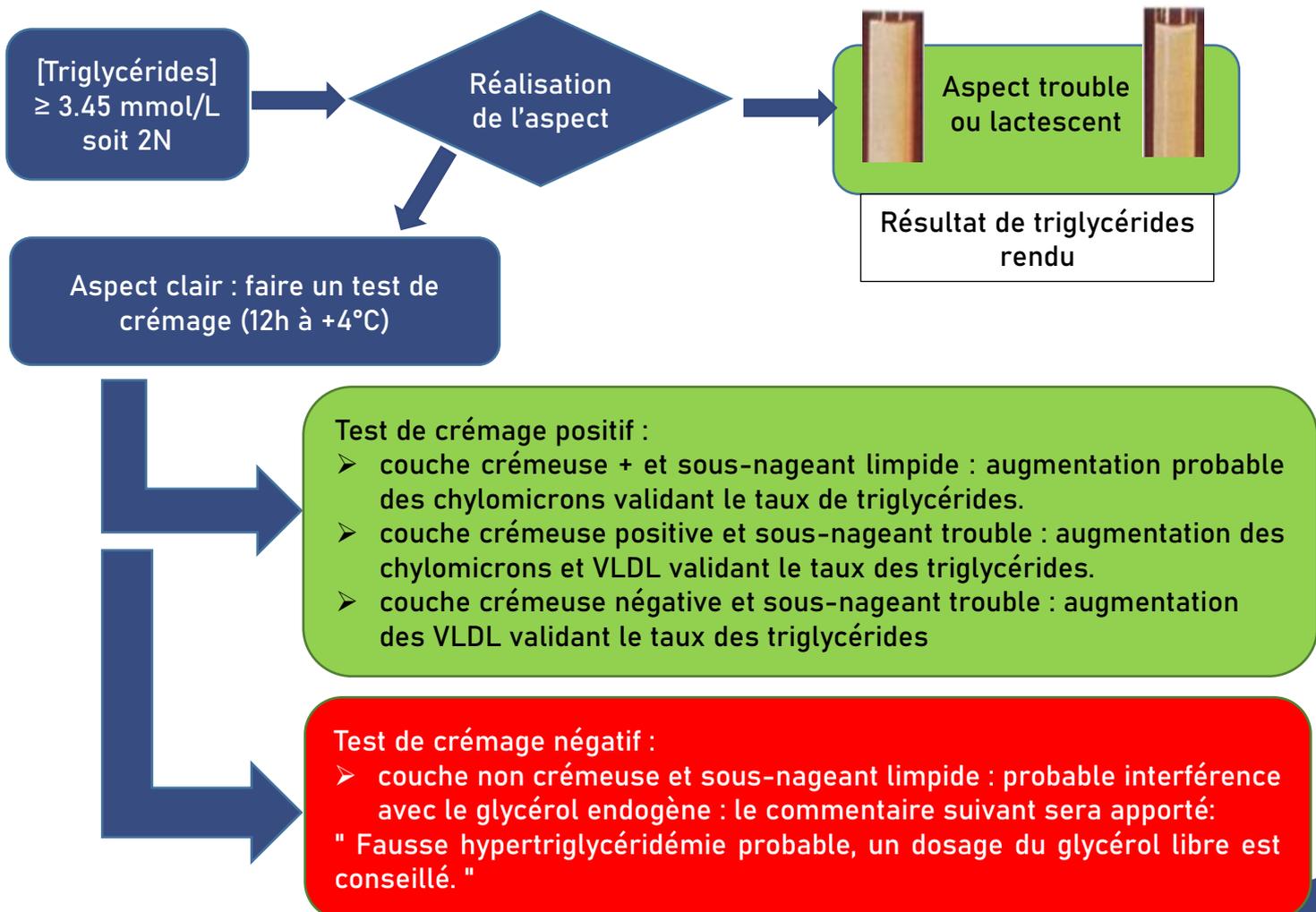
EAL et gestion des aspects

4

Afin d'accélérer le rendu des résultats en maintenant la qualité des résultats nous avons adapté le rendu de l'aspect du plasma et des tests de crémage.

- ⇒ L'aspect du plasma doit absolument être interprété au regard de la concentration des triglycérides. Ainsi, sa limpidité ne peut généralement pas être associée à une hypertriglycéridémie (en pratique, à partir d'environ 3g/L ou 3,45 mmol/L) car celle-ci est concomitante à l'augmentation des lipoprotéines riches en triglycérides. C'est pourquoi l'aspect du plasma ne sera réalisé au moment de la décantation seulement si triglycérides $\geq 3,45$ mmol/L soit 2N.

Ainsi, ces tests sont utiles pour confirmer une hypertriglycéridémie « vraie »



DOSSIER :**PV et tests simplex / triplex**

5

Etape 1 : analyse de la demande

Quelles demandes ?

- PV standard (recherche de tous germes) : grossesse ou pas grossesse
- PV pour recherche de Streptocoque B – suivi de grossesse
- Demande de *Chlamydiae trachomatis* / Gonocoque
- Demande de Mycoplasmes : *Ureaplasma urealyticum*/*Mycoplasma hominis*
- Demande de *Mycoplasma genitalium*
- Demande d'Herpès

Nota bene
Importance de bien préciser votre demande pour que le laboratoire réalise le bon examen

Etape 2 : Conformité des échantillons reçus

Quels échantillons ?

PV standard	<i>Chlamydiae</i> /Gonocoque	Mycoplasmes	Herpès
			
Kit E-Swab "rose"	Milieu GenExpert	Milieu Σ -Transwab®	Milieu pour recherche virale

IMPORTANT

- L'utilisation des milieux recommandés permet une meilleure prise en charge des demandes : volume d'échantillon, dispatching des examens sur les différents sites, stabilité de l'échantillon, sensibilité des tests...
- Si pas de milieux spécifiques à disposition : faire un Kit E-Swab par examen demandé

Etape 3 : Enregistrement dans le SI Labo

Chaque demande a un code d'enregistrement spécifique

Enregistrement d'une non-conformité en cas de :

- Demande non conforme : antibiothérapie non indiquée, pas de nom de préleveur ...
- Prélèvement non conforme : non utilisation des milieux spécifiques recommandés, 1 seul E-Swab pour plusieurs examens demandés...

DOSSIER :**PV standard (prise en charge sur le site d'Epinal)****Etape 1 : ensemencement**

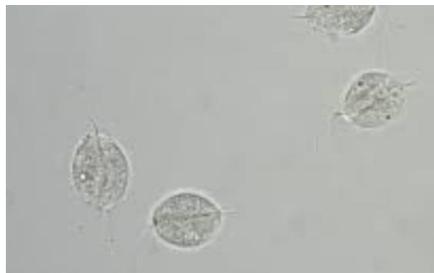
Ensemencement de différentes géloses (= milieux de culture) adaptées aux germes recherchés dans les prélèvements vaginaux :

Lactobacilles, *Gardnerella vaginalis*, levures, entérobactéries, gonocoque ...

Si notion de grossesse : ensemencement d'une gélose spécifique pour la recherche de Streptocoque B



6

**Etape 2 : état frais microscope**

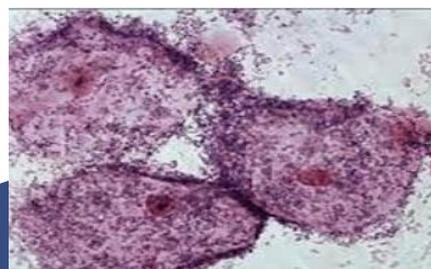
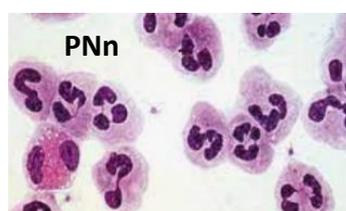
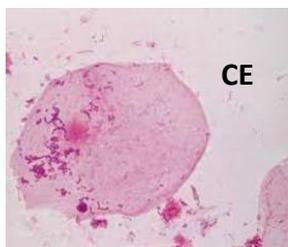
Une goutte de prélèvement entre lames et lamelles

Recherche de *Trichomonas vaginalis*

Etape 3 : examen direct coloration de Gram microscope

- Frottis coloré par coloration de Gram
- Evaluation de la cytologie : CE, PNn et GR
- Evaluation de la flore microbienne : bactéries et levures
- Evaluation du score de Nugent

0	Score 0 à 3 Flore normale	
1		
2		
3		Exemple L1 G4 M0 : Score 5
4	Score 4 à 6 Flore intermédiaire	
5		
6		Exemple L4 G4 M0 : Score 8
7		
8	Score 7 à 10 Vaginose bactérienne	
9		



Nota bene
CE : Cellules épithéliales
PNn : Polynucléaires neutrophiles
GR : Globules rouges

CE avec Lactobacilles

Clue-cells = CE tapissées de *Gardnerella vaginalis*

DOSSIER :**PV standard (prise en charge sur le site d'Epinal)**

7

Etape 3 : lecture des cultures

- Lecture 48H après ensemencement
- Contrôle visuel de toutes les géloses ensemencées : présence ou absence de colonies ?
- Si présence de colonies : quel est ce germe ?

**Etape 4 : identification des colonies**

- Identification par spectrométrie de masse
- Les bactéries d'intérêt sont citées sur le compte-rendu de résultats avec une quantification (rares, quelques, nombreux)
- Réalisation d'antibiogramme si nécessaire : Gonocoque, *E. coli* chez la femme enceinte...

Conclusion

Une conclusion générale prenant en compte le contexte de la demande, les résultats de la culture et de l'examen direct est donnée pour chaque dossier.

On renseigne

- la présence ou l'absence de Gonocoque
- la présence systématique de levures - selon le contexte on pourra préciser l'absence de levure (ex : si la demande mentionne : suspicion de mycose, mycose à répétition ...)
- l'absence ou la présence de StreptoB pour les femmes enceintes.

Flore normale ?
Vaginose ?
Vaginite ?
Flore déséquilibrée ?
Mycose ?

DOSSIER :

PV pour recherche de streptocoque B (prise en charge sur le site d'Epinal)

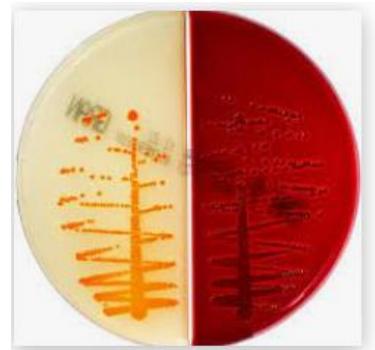
8

Etape 1 : ensemencement

- Pas d'examen direct ni d'état frais
- Ensemencement de milieux permettant la recherche de Streptocoque B

Etape 2 : lecture des cultures

- Lecture 48H après ensemencement
- Gélose spécifique pour la recherche de Streptocoque B (colonies d'aspect spécifique : couleur orange)
- Si culture positive, un contrôle de l'identification est faite



Etape 3 : identification des colonies

Identification par spectrométrie de masse

Conclusion

Le compte-rendu de résultats précisera la présence ou l'absence de Streptocoque B

DOSSIER

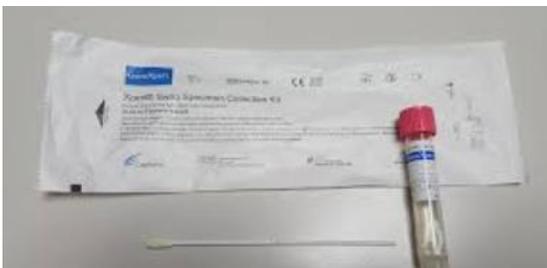
PV pour recherche Chlamydiae et gonocoque (prise en charge sur le site d'Epinal)

9

Chlamydiae trachomatis et
Gonocoque (*Neisseria gonorrhoeae*)

Recherche par biologie moléculaire

Notre technique détecte simultanément les 2 agents pathogènes



PV pour recherche de mycoplasmes (examens sous-traités au CHU de Lille)

Ureaplasma urealyticum
Mycoplasma hominis

- Mise en culture sur milieux adaptés
- Réalisation possible d'un antibiogramme
- Prescription d'intérêt très limité (pouvoir pathogène controversé) sauf dans le cadre d'une PMA

- Cette recherche n'est réalisée que sur demande explicite
- La recherche de *M. genitalium* s'inscrit dans le bilan des IST, *M. genitalium* est responsable de 15 à 25 % des urétrites non gonococciques (voire 40 %).
- Recherche par biologie moléculaire
- En cas de recherche positive, la résistance aux macrolides sera recherchée



Milieu Σ -Transwab®

Mycoplasma genitalium

DOSSIER

PV pour recherche d'herpès (examen sous-traité au CHRU de Nancy)

10

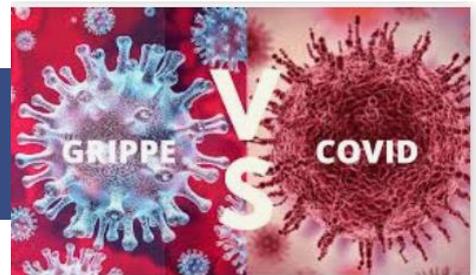
Herpès : HSV1 et HSV2

- Prescription motivée sur une symptomatologie clinique (ou dans le cadre d'un suivi de grossesse chez une femme avec antécédents de poussées herpétiques)
- Recherche par biologie moléculaire (PCR)
- Distinction entre HSV1 et HSV2 en cas de recherche positive



Milieu pour recherche virale

Tests simplex / triplex : recherche de virus « respiratoires »



Constat

- Arrêt des tests rapides antigéniques immunochromatographiques pour : grippe, VRS (manque de sensibilité)
- Souhait du laboratoire de faire ces recherches uniquement en biologie moléculaire (PCR)
- Automate déjà en place sur Epinal
- Installation d'un automate sur Remiremont



Tests disponibles au laboratoire

- Choix de ne réaliser plus que 2 tests
- Test simplex : SARSCov2
- Test Triplex : SARSCov2, Grippe (A et B) et VRS

DOSSIER

Quels tests sont réalisés ?

11

- Si demande de grippe et/ou VRS : test triplex
- Si demande de SARSCov2
 - Patient symptomatique : test triplex
 - Patient asymptomatique : test simplex
- Il est conseillé de faire la prescription sur la feuille de demande de SARSCov2 afin de disposer des renseignements cliniques et d'ajouter « Recherche de Grippe + VRS en toute lettre »
 → *BORDEREAU PRELEVEMENT COVID 19 GCS/C/C1/ENR19*

Importance de renseigner si le patient est symptomatique ou non

Quels prélèvements ?

- 1 seul prélèvement permet la recherche des 4 virus : VRS, Grippe A, Grippe B et SARSCov2
- Plusieurs milieux sont compatibles pour les prélèvements naso-pharyngés :
 - Milieu UTM (Universal Transport Medium)
 - Milieu VTM (Viral Transport Medium)
 - E-Swab rose, E-swab orange (écouvillon plus fin donc plus adapté au prélèvement naso-pharyngé)
- Prélèvement d'aspiration nasale ou lavage nasal pour la pédiatrie

VTM



UTM



E-Swab rose



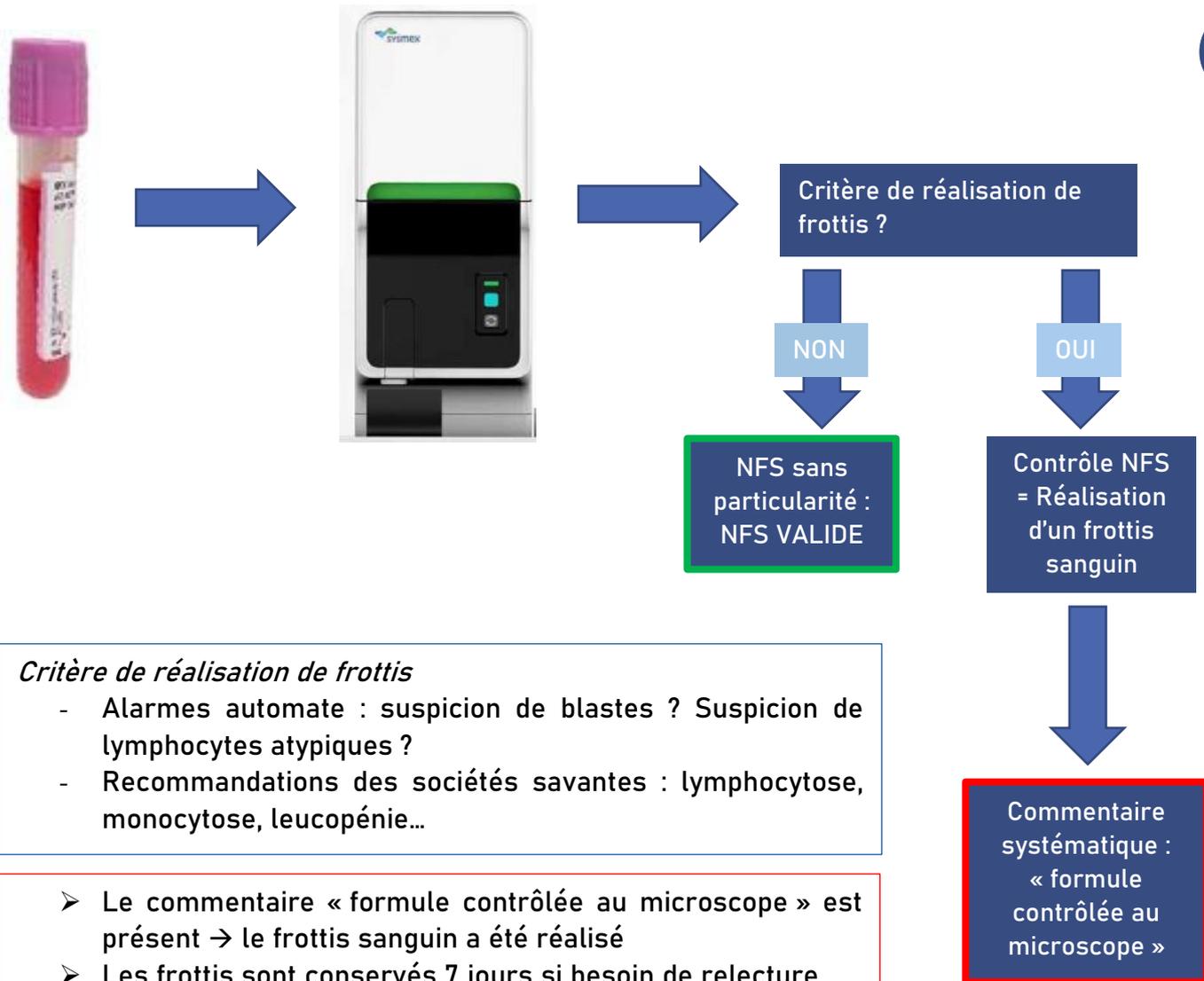
E-Swab orange

Écouvillon plus fin



Démarche pour le rendu des numérations de formules sanguines

12



Critère de réalisation de frottis

- Alarmes automate : suspicion de blastes ? Suspicion de lymphocytes atypiques ?
- Recommandations des sociétés savantes : lymphocytose, monocytose, leucopénie...

- Le commentaire « formule contrôlée au microscope » est présent → le frottis sanguin a été réalisé
- Les frottis sont conservés 7 jours si besoin de relecture
- Les lames sont systématiquement revues par les biologistes en cas d'hémopathies connues ou de suspicion d'hémopathie

En cas de demande de frottis sanguin, comme pour les myélogrammes, il est important de préciser l'indication

13

Suspicion d'anémie hémolytique ?

→ Recherche de schizocytes, sphérocytes...

Suspicion de lymphome ?

→ Recherche de lymphocytes atypiques

Suspicion de leucémie aiguë Pancytopénie ?

→ Recherche de blastes

L'indication et le contexte clinique orientent fortement la lecture de la lame : risque de passer à côté de l'anomalie sans l'information