

C. Bio

La com. des Bio

Le magazine interne des laboratoires
du centre hospitalier Emile Durkheim d'Épinal et du centre hospitalier de Remiremont

PRESENTATION DU LABORATOIRE

page 3

LES HEMOCULTURES

pages 4-8

POINTS SUR LES BILANS D'HEMOSTASE

pages 9-11

DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DE LA MALADIE DE LYME

Pages 12-13

LES REDONDANCES et RECHERCHES DES VIRUS « RESPRATOIRES »

Page 14



EDITO

Bonjour,

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 l'équipe des biologistes (avec leurs spécialités respectives) ainsi que les intervenants que vous croisez pour les services qui disposent d'automates de biologie délocalisés.

Nous profitons de cette gazette pour vous décrire la démarche en hémostase et les nouveautés à venir.

Nous avons aussi souhaité dans notre gazette, faire un point sur la prise en charge des hémocultures qui est l'objet de nombreuses questions. Ceci permet d'expliquer le délai de rendu des résultats qui peut sembler long.

Un point est aussi réalisé pour améliorer la juste prescription que ce soit pour la sérologie de Lyme, pour la prescription de la recherche des virus respiratoires ou encore la gestion des examens redondants.

Bonne lecture

Dr Anthony LEON
Biologiste-responsable Laboratoire GCS Epinal-Remiremont

SOMMAIRE :

PRESENTATION DU LABORATOIRE	p 3
LES HEMOCULTURES	p 4-8
POINT SUR LES BILANS D'HEMOSTASE	p 9-11
DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DE LA MALADIE DE LYME	P12-13
LES REDONDANCES et LES RECHERCHES DE VIRUS RESPIRATOIRES	P14

PRESENTATION DU LABORATOIRE

Présentation des biologistes

Biologiste	Spécialité	Autres fonctions clés
Dr Delphine DELIGNE	Immunohématologie, biochimie	Responsable du site de Remiremont Responsable des dépôts de délivrance/urgence des PSL
Dr Véronique DUVAL	Microbiologie, immunohématologie	Responsable du site d'Epinal Référente pré-analytique (manuel de prélèvement)
Dr Anthony LEON	Biochimie, immunologie, hémostase	Biologiste responsable du GCS Epinal-Remiremont. Responsable assurance qualité
Dr Manon MOUGINOT	Biochimie, hématocytologie	Référente pré-analytique (manuel de prélèvement)
Dr Anh PHAM	Hématocytologie	
Dr Madjé TSIKPLONOU	Hématocytologie, hémostase	Référente informatique
Dr Hélène WATRY	Microbiologie Sérologie infectieuse	

L'équipe et les examens de biologie médicale délocalisés

Site de Remiremont (service d'obstétrique)

- Techniciens référents :
 - Christine JAILLANT
 - Amélie MUNIER
- Biologiste référente :
 - Delphine DELIGNE



Site d'Epinal (service d'obstétrique et urgence pédiatrique)

- Techniciens référents :
 - Lucie WALACH
 - Marie VILLEMEN
- Biologiste référent :
 - Anthony LEON
- Cadre du laboratoire :
 - Angélique LE ROUX

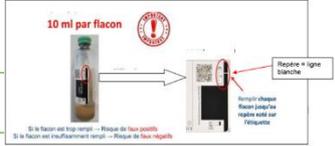
LES HEMOCULTURES



- **Quelles demandes ?**
 - Hémocultures adultes : combien de séries ?
 - Hémocultures pédiatriques



- Flacons correctement étiquetés : une étiquette mal positionnée ne permet pas une bonne prise en charge du flacon par l'automate (obstruction de la zone de lecture, etc.)
- Volume correct de sang prélevé



- Enregistrement des demandes dans notre SIL avec saisie des renseignements, des sites de prélèvements, etc.
- Enregistrement d'une non-conformité en cas de demande non conforme : antibiothérapie non indiquée, pas de nom de préleveur, étiquettes mal positionnées, etc.



Importance de bien préciser sur votre demande si recherche de levures ou contexte d'endocardite

- Les flacons sont mis à incuber dans l'automate "Virtuo®"
- Température incubation : 35 ± 2°C
- Agitation régulière
- Lecture des flacons toutes les 10 minutes
- Durée d'incubation
 - 5 jours
 - 10 jours : endocardite
 - 14 jours : recherche de levure

- Pas de croissance bactérienne détectée à la fin de la durée d'incubation
- Le flacon est déchargé automatiquement par l'automate et placé dans la poubelle des déchets microbiologiques

HEMOCULTURES : 10ml. de sang flacons adulte/ 1 à 4 ml. de sang flacon pédiatrique

(HEMU/2/2) Hémocultures classiques (1 flacon vert + orange) (HRED) Hémoculture pédiatrique (1 flacon jaune)

Renseignements. T° :° C Endocardite ? Recherche fongique/levures ? → Indications nécessitant une incubation prolongée

Site de prélèvement

Sang veineux périphérique (SVP) Sang artériel (SA) VVC (VVC) PAC (PAC) KT veineux (KTV) KT artériel (KTA)

- Alarme sonore associée avec indication sur l'écran de l'automate pour prévenir de la détection d'un flacon positif
- Le technicien demande à ce que soit déchargé le flacon
- Prise en charge du flacon pour diagnostic microbiologique

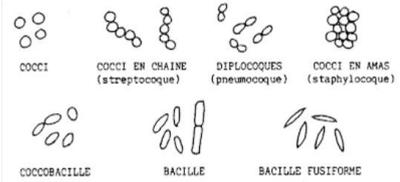


LES HEMOCULTURES :

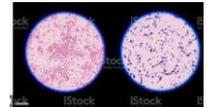
Prise en charge d'un flacon positif – J1

Examen direct

- Réalisation d'un frottis à partir du flacon
- Coloration du frottis à la coloration de Gram
- Lecture du Gram
 - Cocci à Gram + : amas (staphylocoque) ou chaînettes (Strepto)...
 - Bacilles à Gram négatif (Entérobactérie, Pyo ...)
 - Bacilles à Gram positif : corynébactéries, Bacillus
 - Levures

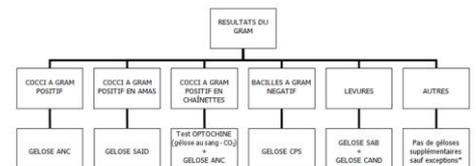


- Résultat téléphoné au service et mis dans le serveur de résultat



Subcultures

- Réalisation de subcultures sur milieux gélosés adaptés
- Choix des milieux sera fonction de ce qui a été observés à l'examen direct
- Pour les BGN (entérobactéries) et cocci amas : réalisation d'un antibiogramme en milieu gélosé directement à partir du flacon (voir partie sur les antibiogrammes)
- Mise en incubation : atmosphère et T° adaptée pendant 18H à 48H



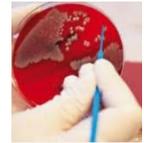
* Si gram polymicrobien : réaliser les géloses complémentaires pour chaque type de germes observés
 * Dans des cas particuliers, d'autres géloses peuvent être envisagées
 > Suspicion staphylocoque : VCA
 > Suspicion Corynebactérie : gélose CAMP

LES HEMOCULTURES

Prise en charge d'un flacon positif – J2

Identification
de la bactérie

- Etude des subcultures en milieu gélosé
Monomicrobien, polymicrobien
- Identification des colonies en spectrométrie de masse
Identification en adéquation avec examen direct ?
- Résultats disponibles sur le serveur de résultats



Interprétation
du dossier

- L'interprétation tiendra compte de :
 - Du germe isolé
 - Du nombre de flacon(s) positif(s)/nombre de flacons prélevés
 - Du site de prélèvement : importance de bien remplir cette donnée sur les demandes
 - Autres prélèvements bactériologiques positifs au même germe ? : (plaie, urines...)
- → En fonction de ces critères, on conclura à une contamination ou à une possible infection avec réalisation d'un antibiogramme



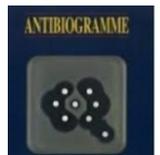
Contamination ?
Infection ?
Rendu d'un
antibiogramme ?

LES HEMOCULTURES

Prise en charge d'un flacon positif - Rendu des antibiogrammes J2/J3 ou plus

Antibiogramme
rendu à J2

- Pour certaines bactéries, l'antibiogramme pourra être rendu à J2 car il est réalisé à partir du bouillon d'hémoculture :
- Hémoculture positive à entérobactérie (*E. coli*, *Klebsiella*...)
- Hémoculture positive à Staphylocoque



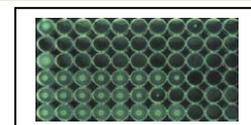
Antibiogramme
rendu à J3

- Pour toutes les autres bactéries, l'antibiogramme est réalisé à partir des colonies obtenues en subculture ce qui augmente le délai de rendu de 18/24H



Antibiogramme
rendu à J+3 et plus

- Bactéries anaérobies : nécessité d'incuber l'antibiogramme pendant 24/48H contre 18/24H pour les bactéries aérobies
- Bactéries multi-résistantes : l'étude complète de l'antibiogramme peut demander plus de délai afin de caractériser le phénotype de résistance à l'aide de tests complémentaires. Les résultats sont disponibles au fur et à mesure des tests.
- Levures : les antifongogrammes sont réalisés en systématique, ceux-ci sont sous traités au CHU de Nancy.



LES HEMOCULTURES

POINT SUR LA REALISATION D'HEMOCULTURE

Prélèvements multiples 😞

Prélèvement unique 😊

	Prélèvements multiples	Prélèvement unique
Nombre de ponction	2 à 3	1
Nombre total de flacons mis en culture	4 à 6	4 à 6
Sensibilité	Equivalente à nombres de flacons égal et remplissage égal	
Taux de contamination	Modéré	Faible (divisé par 2 ou 3)
Fréquence de l'hémoculture solitaire (une seule paire de 2 flacons prélevée au cours de l'épisode infectieux)	Elevée	Faible
Avantages		- Confort du patient - Confort et gain de temps pour le soignant - Interprétation plus aisée des résultats

Caractéristiques, avantages et inconvénients des protocoles de prélèvements d'hémocultures

(REMIC 6.1-2018)



Prélever **4 à 6 flacons d'hémocultures par tranche de 24H** en prélèvement unique (une seule ponction) de préférence ou en prélèvements multiples (2 à 3 ponctions).

Au-delà de 6 flacons la sensibilité n'est pas meilleure.

Le prélèvement unique tend à devenir le mode de prélèvement à privilégier (hors contexte particulier : endocardite, pédiatrie, hémocultures comparées).

POINT SUR LES HEMOCULTURES COMPAREES

Pourquoi et quelle interprétation ? Comment ?

- La démarche consiste à la fois à rechercher une bactériémie et à déterminer si le dispositif intra-vasculaire est le foyer. Les hémocultures doivent être prélevées et incubées au même moment pour les 2 sites de prélèvement : VVP et matériel (VVP, PAC).

Le dispositif est considéré comme source de la bactériémie lorsque :

→ Le même micro-organisme est isolé dans l'échantillon périphérique et l'échantillon provenant du dispositif

ET

→ L'échantillon provenant du dispositif se positive au moins 120 min (2H) avant l'échantillon périphérique

Faire 2 prélèvements séparés de moins de 10 minutes

- l'un en voie veineuse périphérique
- l'autre au niveau du dispositif intra-vasculaire sans purger



Bien noter le site de prélèvement sur les flacons

LES HEMOCULTURES

MANUEL DE PRELEVEMENT

- N'hésitez pas à consulter la page dédiée aux hémocultures sur le manuel de prélèvement
 - <https://gcs-epinal-remiremont.manuelprelevement.fr/DetailNew.aspx?id=A821>

FICHE EXAMEN HEMOCULTURES
Révisé le: 02/02/2021 17:02:27

EXAMEN

Nom d'examen	HEMOCULTURES DIAGNOSTIC BACTERIEMIE DIAGNOSTIC FONGEMIE
Synonymes	LISTERIA LISTERIOSE SEPTICEMIE
Spécialité	BACTÉRIOLOGIE
Laboratoire exécutant	GCS - LABORATOIRES EPINAL-REMIREMONT - SITE EPINAL L'hémoculture consiste à mettre en culture du sang circulant qui est normalement stérile, afin de pouvoir rapidement détecter et identifier l'agent infectieux responsable d'une bactériémie.

ANALYTIQUE

Délai de rendu des résultats

7 jours pour les hémocultures négatives
10 jours pour des contextes particuliers, nécessitant une incubation plus longue, exemple suspicion d'endocardite

Variables (entre 48h et 7 jours) pour les hémocultures positives, en fonction de la ou des bactéries isolé(s), du délai de positivité.
Lorsque les hémocultures sont positives, le laboratoire contacte le service pour donner les premiers résultats.

Incubation des flacons dans un automate (système automatisé) avec détection puri-quotidienne d'une éventuelle croissance microbienne.

La durée d'incubation standard est de 7 jours avant de rendre une hémoculture négative.

POINT SUR LES BILANS D'HEMOSTASE

Changement de pratique dans la réalisation des bilans d'hémostase

- Arrêt des TCA
 - Réalisation des TCK uniquement
- TCK sensible aux déficits en facteurs mais **faible sensibilité à l'héparine**

BILAN DE THROMBOPHILIE

Indications : recommandations du Groupe Français d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose actualisé en 2022

- Episode thrombotique (TVP, EP) dont le 1^{er} épisode est survenu **avant l'âge de 60 ans** sans facteurs déclenchant
 - La présence d'un facteur biologique de risque ne semble pas avoir d'impact sur le risque d'événements thromboemboliques au-delà de 60 ans
- 3 fausses couches spontanées avant 10SA consécutives ou une mort fœtale in utero inexpliquée avant 34SA
 - Et femmes avec un projet conceptionnel en cas d'histoire familiale de thrombophilie
- Thromboses veineuses à localisations particulières quel que soit l'âge

Remplir le bon de demande spécifique

	CHAPITRE : GCS/C/L MANUEL DE PRELEVEMENT	
GCS Laboratoire Spécial : Remplissement	DEMANDE BILAN DE THROMBOPHILIE	REFERENCE : GCS/C/L/ENR18 VERSION 2
Date d'application : 2021-05-18		

Prénom

Nom

Date de Naissance

Pour rappel les indications sont limitées, il n'est pas nécessaire de faire ce bilan en urgence. Les indications sont résumées sur le manuel de prélèvement : <https://gcs-gpmai.remiremont-manuelprelevement.fr/>
Avant réalisation, la demande sera validée par un biologiste pour évaluer sa pertinence.

Indication du bilan :

Histoire clinique :

- Phlébite des membres inférieurs
- Embolie pulmonaire
- Premier événement de MTEV avant 60 ans (âge lors de l'évènement :)
- Thromboses veineuses à localisation autre que membres inférieurs. Lieu :
- Thromboses artérielles. Lieu :

- Grossesse
- Complication obstétricales, pertes fœtales, pathologie vasculaire placentaire (PE sévère, écoupsie, HRP, MFIU, RCIU sévère)

Traitement médicamenteux :

- Traitement anticoagulant :
- Contraceptif oraux
- Acide folique

Comorbidité, facteurs cliniques déclenchant :

- Facteur(s) déclenchant(s) majeur(s)
Piètre, fracture des membres inférieurs, anesthésie générale de plus de 30 minutes, allègement de plus de 3 jours, cancer actif dans les 2 ans (hémopathie, cancer solide)
- Facteur(s) déclenchant(s) mineur(s)
Grossesse, post partum, pilule, oestrogène, voyage > 6h.
- LES
- Facteur(s) de risque thrombotique(s) associé(s) : MICI, Behcet, obésité, varices, Syndrome néphrotique, Accident ischémique, SCA, insuffisance respiratoire, médicaments (héparine, pilule, oestrogène, tralopride, lévalodolamide, anti-épileptique), tabagisme.
- Obésité, diabète

- ❖ Résume les tubes à prélever
- ❖ Aide à la prescription : liste des tests complémentaires habituels
- ❖ Aide à l'interprétation biologique : de nombreux facteurs cliniques et traitements interfèrent avec les tests

Examens recommandés

- Thrombophilie constitutionnelle : dosage ATIII, PC, PS, recherche mutation FII et FV Leiden
 - Non recommandé en cas de thrombose artérielle
- Thrombophilie acquise (recherche SAPL) : ACC, Anticorps anti cardiolipine, Anticorps anti-bêta-2-glycoprotéine
 - Seuls examens recommandés en cas de thrombose artérielle
 - A demander également en cas de MFIU ou FCS

Réalisés au laboratoire d'Epinal (une fois par semaine)

- ATIII : interférences sous Pradaxa® ou sous œstro-progestatifs, chez la femme enceinte et dans les 3 mois après l'accouchement
- Protéine C et Protéine S: interférences sous AOD, sous AVK ou sous œstro-progestatifs, chez la femme enceinte et dans les 3 mois après l'accouchement
- Recherche d'anticoagulant circulant : interférences sous AOD, sous HNF ou sous AVK si INR > 3, si TP perturbé



Prélever le bilan avant la mise sous anticoagulant

Le prélèvement peut être réalisé en résiduel de l'injection d'HBPM

Arrêter les AOD au moins 5j avant

Demander également un bilan d'hémostase classique : TP, TCA, fibrinogène
ACC à renouveler 12 semaines après en cas de positivité pour confirmation

Externalisés au CHRU de Lille

- Mutation FII et FV Leiden
- Anticorps anticardiolipine
- Anticorps anti-bêta-2-glycoprotéine

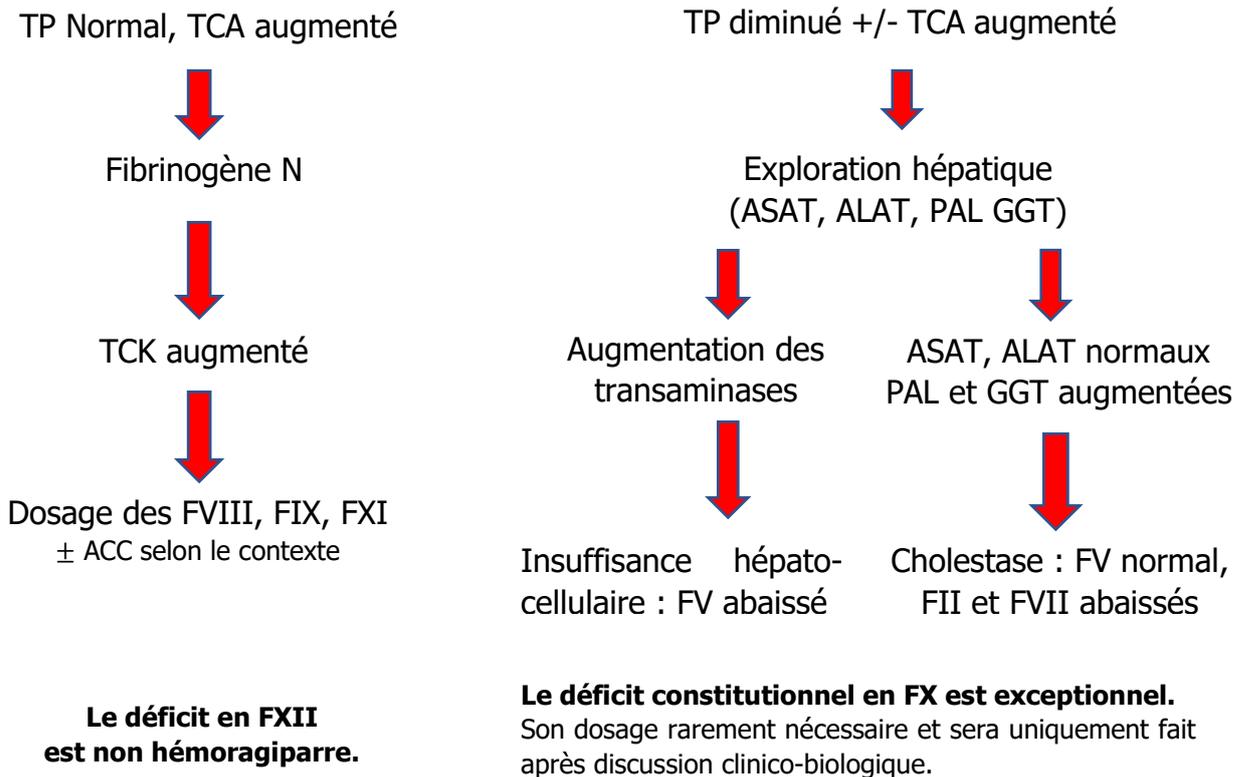


Feuille de consentement pour examen génétique

Ac à renouveler 12 semaines après en cas de positivité pour confirmation

L'EXPLORATION DU BILAN D'HEMOSTASE PERTURBE

(en l'absence de traitement anticoagulant)



Dosage de facteurs (hors facteur V)

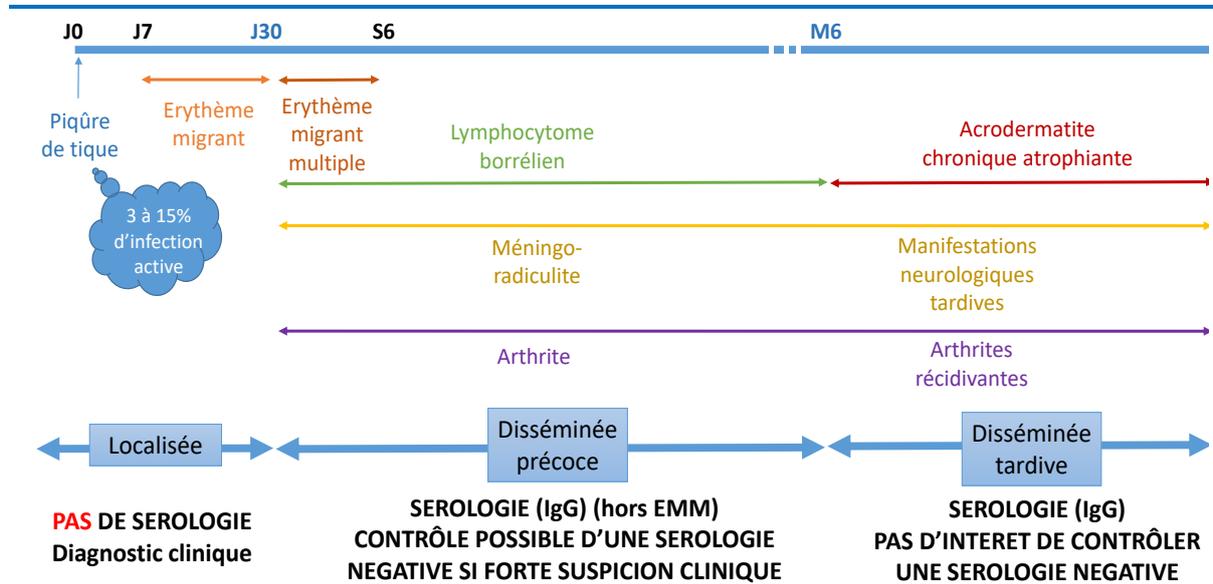
Réalisés au laboratoire d'Epinal une fois par semaine

Si urgence :

- Pré-opératoire
- Hémorragie inexplicée
- TCA très allongé inexplicé
- Etc...

➔ **Appeler les biologistes : possibilité de réalisation sur site ou envoi au CHRU de Nancy**

DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DE LA MALADIE DE LYME



DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DE LA MALADIE DE LYME

PAS DE SEROLOGIE

- Si asymptomatique
- Pour une piqûre de tique (seuls 3 à 15% des sujets développent une infection active)
- Si érythème migrant et érythème migrant multiple (diagnostic clinique)

SEROLOGIE DE CONTRÔLE

- Uniquement si suspicion clinique d'infection disséminée précoce
- Bonne sensibilité de la sérologie à partir de 6 semaines
 - Pas d'intérêt en phase tardive (excellente VPN)

ARRÊT DES IgM LYME

En adéquation avec les pratiques du CNR des borrélioses (Strasbourg)

- Performances diagnostiques insuffisantes des IgM (mauvaise sensibilité et spécificité)
- La présence d'IgM
 - Induit un risque de mauvaise orientation diagnostique par excès
 - N'est pas un marqueur d'infection active.
 - N'a pas d'intérêt dans les suspicions de borréliose tardive.

Au laboratoire : recherche d'IgG seules

→ Si positives : confirmation par Western blot au CNR

LA SEROLOGIE DANS LE LCR : Diagnostic de neuroborréliose

- Réalisée au CNR (Strasbourg)
 - Recherche d'une synthèse intrathécale
- Nécessité de prélever un sérum en parallèle

- Eléments d'orientation sur le LCR:



- Hypercellularité lymphocytaire
- Hyperprotéinorachie

Une fiche de renseignements cliniques est disponible sur le manuel de prélèvement

Centre National de Référence des Borrelia - Tel : 03 69 55 14 27
FIM - IUS - 1 rue Kaeberlé - 67085 Strasbourg

FICHE DE RENSEIGNEMENTS BORRÉLIOSE DE LYME
A joindre obligatoirement aux prélèvements

Médecin prescripteur :	Laboratoire :
Hôpital et service :	Biologiste :
Tel :	Tel :
Nature du prélèvement :	Date : / /
Examen demandé : Sérodiagnostic : <input type="checkbox"/>	PCR : <input type="checkbox"/>
Culture : <input type="checkbox"/>	
PATIENT: Nom : Prénom : Sexe : <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> H Date de naissance : / / Code postal du domicile : Profession :	
FACTEURS DE RISQUE : - Activités de loisirs : <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Si oui, nature : - Contacts avec des animaux ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Si oui, lesquels ? : - Exposition aux tiques (fréquentation de milieux forestiers) : <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui - Antécédents de piqûre de tique ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Si oui, unique ou <input type="checkbox"/> multiple ? - Antécédent d'érythème migrant : <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Si oui, constaté par un médecin <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non - Notion de piqûre de tique précédant l'épisode actuel : <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Si oui, date de cette piqûre : / / Duree de l'attachement : heures ou jours Sur quelle partie du corps : Département : / / Lieu de la piqûre (commune, forêt, vallée) :	
SYMPTOMATOLOGIE AU MOMENT DU DIAGNOSTIC : Date des premiers symptômes : / / Date du diagnostic : / / <input type="checkbox"/> Manifestations générales <input type="checkbox"/> Syndrome algues <input type="checkbox"/> Syndrome fibrile :°C <input type="checkbox"/> Apathie <input type="checkbox"/> Manifestations cutanées <input type="checkbox"/> Erythème migrant (> 5 cm) <input type="checkbox"/> Lymphocytome <input type="checkbox"/> Acrodermatite <input type="checkbox"/> Autre (à préciser) : Localisation : <input type="checkbox"/> Manifestations neurologiques <input type="checkbox"/> Atteinte méningée : <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Si oui, atteinte clinique <input type="checkbox"/> uniquement biologique <input type="checkbox"/> Atteinte périphérique : si oui, laquelle : <input type="checkbox"/> Paralyse faciale <input type="checkbox"/> Radiculite Localisation : <input type="checkbox"/> Atteinte d'une autre paire crânienne, si oui, laquelle : <input type="checkbox"/> Atteinte centrale : <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Si oui, laquelle : CYTOLOGIE DU LCR : <input type="checkbox"/> Non faite <input type="checkbox"/> Si oui, date : / / <input type="checkbox"/> Lymphocytose : mm ³ <input type="checkbox"/> Manifestations articulaires Articulation(s) touchée(s) : <input type="checkbox"/> Arthralgies seules <input type="checkbox"/> Arthrite aiguë <input type="checkbox"/> Arthrite chronique <input type="checkbox"/> Mono-arthrite <input type="checkbox"/> Oligo-arthrite <input type="checkbox"/> Polyarthrite <input type="checkbox"/> Autres manifestations (à préciser) : <input type="checkbox"/> Cardiaques <input type="checkbox"/> Oculaires :	
Traitement antibiotique : <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Nature et protocole : du / / au / /	

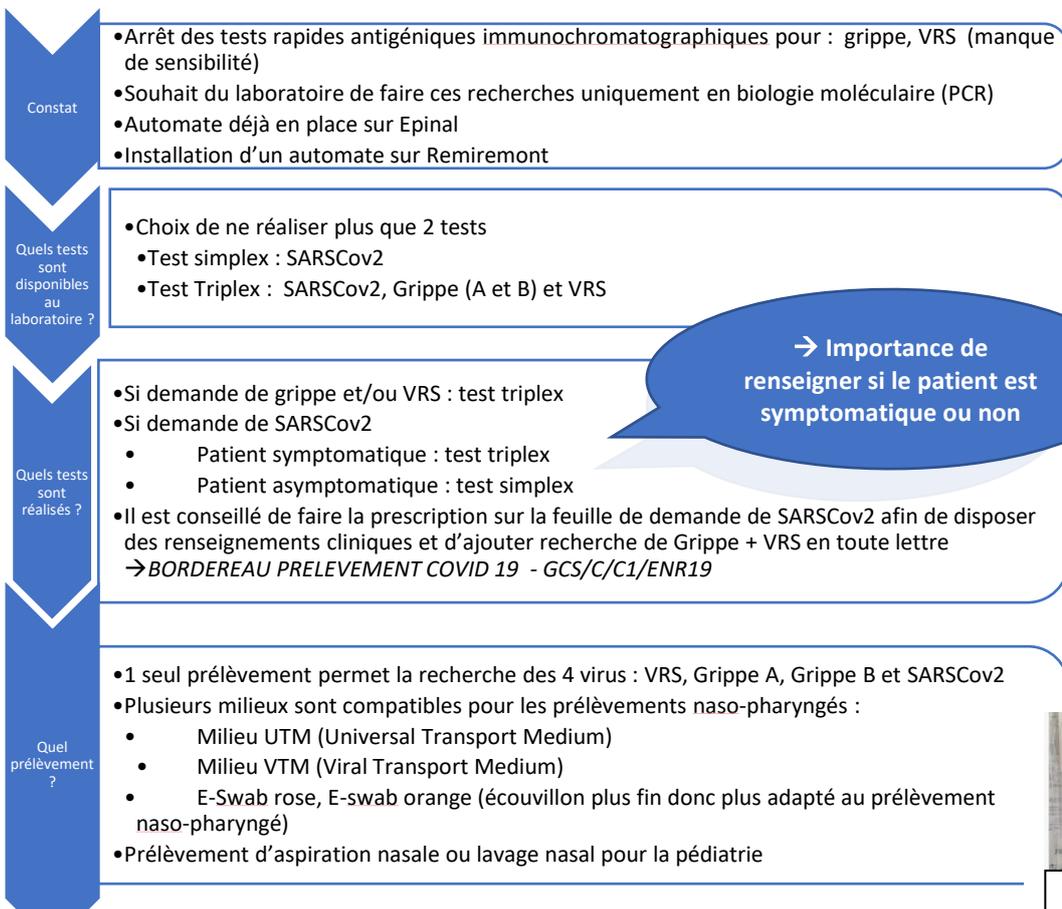
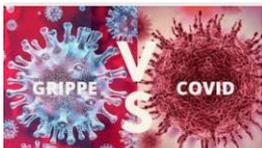
Il est obligatoire de remplir entièrement cette fiche et de la joindre aux prélèvements à transmettre au CNR Borrelia.
C'est la seule et unique fiche de renseignements cliniques à joindre au prélèvement au CNR et au biologiste ou à la chambre de prélèvement.
Plateau Technique de Microbiologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, 1 rue Kaeberlé, 67085 Strasbourg
Fax: 03 69 55 16 98 - E-mail : cnr.borrelia@unistra.fr

LES REDONDANCES

MISES EN PLACE

- De nombreux examens sont prescrits dans un délai proche sans justification médicale.
- Afin de remédier au coût important que cela implique, les biologistes ont défini des délais pour annuler systématiquement les demandes.
 - ces délais sont déterminés en fonction de la demi vie des marqueurs et des recommandations des sociétés savantes (indication des dosages, notamment ceux utilisés dans le suivi des pathologies chroniques)
- Les examens concernés sont entre autres : sérologie, biochimie des protéines (électrophorèse), exploration des anomalies lipidiques, HbA1c, ferritine, etc..
- Si besoin après dialogue clinico-biologique les examens peuvent être réalisés (soit sur un cas particulier, soit pour un service en fonction d'une spécificité propre).
- Nous allons étendre progressivement ces règles à d'autres paramètres.

RECHERCHE DE VIRUS « RESPIRATOIRES »



→ Importance de renseigner si le patient est symptomatique ou non



E-Swab orange
Écouvillon plus fin



VTM



UTM



E-Swab rose