

**Université Pierre et Marie Curie**  
Sorbonne Universités

MEMOIRE  
POUR L'OBTENTION DU DIPLOME UNIVERSITAIRE  
« ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE  
DE BIOLOGIE MEDICALE »

**Analyse du parcours pré-analytique des hémocultures**

Poivey Tiphaine  
2014-2015

Note aux lecteurs :

« Les mémoires des stagiaires du Diplôme Universitaire « Assurance Qualité au laboratoire de biologie médicale » sont des travaux réalisés pendant l'année de formation.

Les opinions exprimées n'engagent que les auteurs.

Les travaux ne peuvent faire l'objet d'une publication en tout, ou partie, sans l'accord de l'auteur et du responsable du DU concerné. »

**Auteur : Tiphaine POIVEY**

**Technicienne de laboratoire en Biologie Médicale (TLM), Référent Qualité du  
service de Microbiologie**

**L'hôpital Gustave Roussy Cancer Campus Grand Paris, Villejuif**



# Remerciements

Remerciements à l'ensemble des enseignants et des intervenants du D.U pour m'avoir permis de suivre leur enseignement et de m'avoir transmis leur savoir.

Remerciements à l'hôpital Gustave Roussy de m'avoir permis de suivre cette formation.

Remerciements à Laurence Drouard Biologiste en biochimie et Responsable Assurance Qualité pour son soutien, ses idées et ses conseils.

Remerciements à Elisabeth Chachaty Biologiste et Chef de Service de microbiologie de m'avoir orientée vers la voie de la qualité et d'avoir proposée cette formation.

Remerciements à Elisabeth Chauveau Coordinatrice des Référents Qualité pour ses conseils.

Remerciements à mes collègues du service de microbiologie : Delphine Vegro, Martine Borde, Pierre-Yves Laurent, Irène Perrin, Audrey Gras, Laurie Villemer, Brigitte Capocci et Aline Orgue.

Remerciements à mes collègues de CoreBiopath pour leur participation : Nathalie Coen Urel et Marine Le Tiec techniciennes d'accueil.

Remerciements à Fanny Sancy et Gwenaëlle Le Pichouron secrétaires Biopath pour leur aide.

Remerciements aux auteurs des précédents mémoires de ce D.U dont la lecture a été une source enrichissante pour ce travail.

Remerciements à mes proches et à mon conjoint qui m'ont soutenue.

# Sommaire

<b>1. Introduction</b> .....	<b>3</b>
1.1 L'accréditation : La réforme de la biologie médicale.....	3
1.2 Présentation de l'hôpital Gustave Roussy et de son département de biologie et pathologie médicales .....	3
1.3 La qualité à l'hôpital Gustave Roussy (GR) .....	5
1.4 Sujet du mémoire.....	6
1.4.1 Objectif.....	6
1.4.2 Qu'est-ce qu'une hémoculture ?.....	7
1.4.3 Principe de détection.....	8
1.4.4 Recommandations.....	9
1.4.5 Présentation de l'analyse des risques.....	10
<b>2. Présentation de l'étude</b> .....	<b>10</b>
2.1 Le volume de sang prélevé dans les flacons d'hémoculture.....	11
2.1.1 Méthode .....	11
2.1.2 Recommandations.....	12
2.1.3 Résultats.....	13
2.1.4 Echange avec le personnel de soin .....	14
2.1.5 Perspective d'amélioration, actions à mettre en œuvre .....	15
2.2 Le délai d'acheminement des flacons au laboratoire .....	16
2.2.1 Délai entre la réalisation du prélèvement et sa réception à l'accueil des prélèvements. ....	16
2.2.2 Délais entre la réception des échantillons à Core Biopath et l'insertion dans l'automate .....	21
2.3 Analyse des demandes d'examens .....	23
2.3.1 Qualité du remplissage du bon de demande d'examen par les services de soins.....	23
2.3.2 La qualité de la saisie du bon de demande d'examen dans le système de gestion de laboratoire (SGL).....	28
<b>3. Conclusion</b> .....	<b>29</b>

## Glossaire

ACP : Anatomie et cytologie pathologiques

CLCC : Centre de Lutte Contre le Cancer

CLIN : Centre de Lutte contre les Infections Nosocomiales

COFRAC : Comité Français d'Accréditation : Unique instance d'accréditation chargée de délivrer des accréditations aux organismes intervenant dans l'évaluation de la conformité en France.

GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses

GR : Gustave Roussy

HAS : Haute Autorité de Santé

LBM : Laboratoire de Biologie Médiale

mL : Millilitre

NC : Non-Conformité

NCPA : Non-Conformité Pré-Analytique

RAQ : Responsable Assurance Qualité

REMIC : Référentiel en microbiologie médicale

SGL : Système de Gestion de Laboratoire

TLM : Technicien de Laboratoire Médical

## 1. Introduction

### 1.1 L'accréditation : La réforme de la biologie médicale

De 1994 à 2010, les laboratoires étaient régis par le Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA) qui réglementait les pratiques professionnelles des laboratoires d'analyses. Ce fut la première approche de la qualité.

De 2010 à 2013, il y a eu la grande réforme de la biologie médicale : une qualité approuvée par une accréditation obligatoire délivrée par un organisme, unique instance nationale d'accréditation, le Cofrac.

Actuellement, les Laboratoires de Biologie Médicale (LBM) doivent être impérativement accrédités pour 50% de leur volume d'activité avec au moins un examen accrédité par famille en 2016, 80% en 2018 et 100% en 2020. Pour cela, ils doivent répondre aux exigences de la norme européenne ISO 15189.

C'est ainsi que le Département de Biologie et de Pathologie médicales de Gustave Roussy s'est engagé dans une démarche d'accréditation.

### 1.2 Présentation de l'hôpital Gustave Roussy et de son département de biologie et pathologie médicales

Gustave Roussy Cancer Campus Grand Paris est un Centre de Lutte Contre le Cancer (CLCC) situé à Villejuif dans le Val de Marne. C'est le premier centre européen de lutte contre le cancer par son volume d'activité (356 lits et 88 places en hôpital de jour). Ses missions sont : le soin, la recherche et l'enseignement. Dans le domaine du soin, GR a pour objectif le diagnostic, le traitement et le suivi des patients adultes et pédiatriques atteints de tumeurs solides ou d'hémopathies malignes. Une de ses missions essentielles est le transfert de l'innovation diagnostique et thérapeutique de la recherche vers les patients.

Les activités cliniques sont donc très diversifiées : oncologie médicale, chirurgie, radiothérapie, prise en charge des urgences oncologiques et soins palliatifs. Ces activités sont organisées en comités spécialisés dans la prise en charge de tumeurs d'un organe ou d'un système ; elles s'appuient sur un plateau médico-technique complet (radiologie, imagerie nucléaire,...) incluant le département de biologie et pathologie médicales.

Se référer à l'[Annexe 1 : Organigramme de l'hôpital](#)

Le département de biologie et pathologie médicales (Biopath) regroupe l'ensemble des laboratoires de biologie médicale ainsi que la structure d'anatomie et cytologie pathologique (ACP). De ce fait, Biopath est composé de sept services :

- Anatomie et cytologie pathologique
- Biochimie
- Pharmacologie
- Pathologie moléculaire
- Génétique
- Hématologie-Cytologie
- Microbiologie
- Core Biopath : une structure unique pour l'accueil des prélèvements.

Se référer à l'[Annexe 2 : Organigramme de Biopath](#)

Biopath est organisé autour de trois plateformes techniques situées sur le site principal : une plateforme de biologie médicale, une plateforme de biologie moléculaire et une plateforme technique de pathologie morphologique.

Biopath regroupe les ressources permettant de gérer quotidiennement les examens de biologie médicale, d'anatomie et cytologie pathologique prescrits par les comités et les départements de soins. Il réalise également des examens émanant des prescriptions extérieures à GR. La moyenne de dossiers créés pour les examens de microbiologie, biochimie, hématologie et génétique est de 728 dossiers par jour.

Le 21 avril 2015, GR a fusionné avec le centre hospitalier de pneumologie de Chevilly-Larue. Biopath fonctionne alors sur deux sites (Villejuif (siège social et site principal) / Chevilly Larue). Biopath est également laboratoire sous-traitant pour l'ensemble des examens prescrits par les praticiens de l'hôpital Paul Guiraud.

Le site de Chevilly ne contient qu'une plateforme de biologie médicale. Ce regroupement de moyens techniques et humains en plateforme permet d'optimiser la gestion des ressources techniques et les flux des échantillons au sein de Biopath.

Quatre services ont une activité utilisant les ressources de la plateforme biologique :

- Les services de biochimie, d'hématologie-immunologie et de microbiologie médicale prennent en charge les examens de biologie médicale associés du patient.

- Le service pharmacologie réalise les dosages de nombreux médicaments anticancéreux.

Deux services ont une activité utilisant les ressources de la plateforme de biologie moléculaire :

- Le service de génétique constitutionnelle réalise des tests concernant les prédispositions génétiques à la maladie cancéreuse.
- Le service de pathologie moléculaire réalise des tests destinés à l'étude des caractéristiques moléculaires somatiques (altérations chromosomiques et géniques) acquises par les cellules tumorales.

La permanence des soins est organisée sur le site de Villejuif pour les deux sites.

C'est au sein du service de microbiologie que l'étude du sujet du mémoire a été réalisée.

### **1.3 La qualité à l'hôpital Gustave Roussy (GR)**

GR a obtenu en 2012 le renouvellement de sa certification HAS.

Au sein du Département Biopath :

- Création d'une cellule qualité en 2012. Elle est composée de différents corps de métiers : secrétaires, techniciens de laboratoire médical (TLM) et biologistes.

Se référer à l'[Annexe 3 : Organigramme Fonctionnel](#)

- Dans le cadre de l'accréditation Cofrac, le département Biopath a fait le choix de s'inscrire dans la voie B (partenariat avec BioQualité).

- BioQualité a délivré sa Qualification au département Biopath en 2013. Cette dernière est valable jusqu'au 20 janvier 2016.

- En mai 2013, pour répondre aux exigences du Cofrac, le département a déposé deux dossiers de vérification de méthode (famille de l'Hémostase : le TCA (Temps de Céphaline Activée), famille de la Sérologie infectieuse : le TPHA (Treponema Pallidum Hemagglutination Assay)). A l'issue de l'étude de ces deux dossiers, en septembre 2013 le Cofrac a validé la vérification d'entrée dans la démarche d'accréditation pour l'activité biologique du département.

- En avril 2015, ont été envoyé au Cofrac le questionnaire de renseignements (SH-FORM05) et le questionnaire d'auto-évaluation pour la préparation de l'évaluation sur site selon la norme ISO 15189 (SH-FORM 03).

- Le département a fait le choix de demander l'accréditation pour un ensemble d'examens qui représente **78,1%** du volume de son activité par rapport au volume annuel d'activité totale du plateau technique de biologie médicale.

- En juillet 2015 le département a reçu de la part du Cofrac la confirmation de réception du dossier de demande d'accréditation initiale et à ce jour celui-ci est en attente de leur décision concernant la recevabilité administrative du dossier.

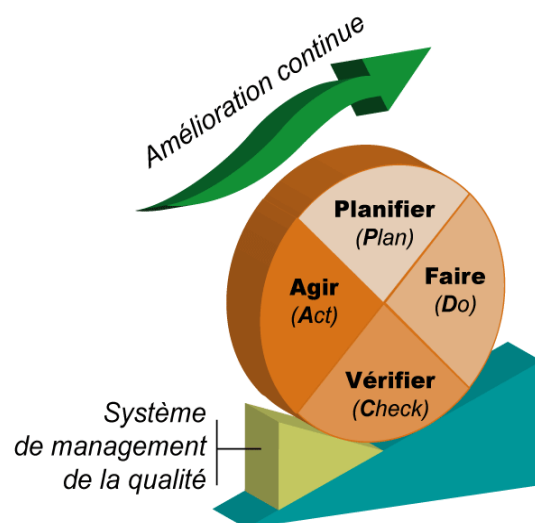
## 1.4 Sujet du mémoire

### 1.4.1 Objectif

Le sujet du mémoire porte sur l'étude pré-analytique du parcours des hémocultures au sein de notre structure hospitalière.

Dans le cadre de l'accréditation du laboratoire par le Cofrac, celui-ci souhaite lors d'une extension d'accréditation ajouter les hémocultures à la portée d'accréditation. C'est donc dans l'objectif de la préparation du futur dossier de vérification de méthode que la phase pré-analytique a été analysée. Afin de travailler sur ce sujet, la roue de Deming a été utilisée:

1. Planification de l'étude
2. Collecte des données
3. Interprétation des données et comparaison par rapport aux sociétés savantes et aux attentes du laboratoire
4. Le suivi, axes d'améliorations



### 1.4.2 Qu'est-ce qu'une hémoculture ?

Une hémoculture est un examen sanguin essentiel pour le diagnostic des bactériémies ou des fongémies dues au passage dans le sang de bactéries ou de champignons. Elle consiste en un prélèvement de sang veineux, qui est mis en culture dans un flacon contenant un milieu de culture approprié afin d'y détecter la présence éventuelle de bactéries, de levures ou plus rarement de champignons filamenteux. L'objectif de ce prélèvement est d'identifier le micro-organisme responsable de l'infection, de localiser le foyer infectieux, de réaliser un antibiogramme afin de mettre le patient sous antibiothérapie adaptée.

Le sang est normalement stérile. La présence de micro-organismes dans le sang témoigne d'une infection grave qui peut rapidement engager le pronostic vital du patient. Ces micro-organismes peuvent provenir d'un foyer d'infection tissulaire à partir duquel ils passent dans le sang (pyélonéphrite, cholécystite, pneumonie, site opératoire...). Les dispositifs intravasculaires (cathéter veineux, chambre implantable), dont sont porteurs une majorité des patients pris en charge à GR, peuvent également être la porte d'entrée de bactériémies ou de fongémies.

On ne connaît pas avec précision le nombre de micro-organismes présents dans le sang circulant au cours des bactériémies ou des fongémies, il est cependant estimé que la concentration microbienne peut être inférieure à 1 unité formant colonie/ml de sang chez une grande partie des patients infectés. La sensibilité diagnostique des hémocultures est par conséquent en grande partie conditionnée par le volume de sang mis en culture. Celui-ci résulte d'une part du volume de sang prélevé dans chaque flacon et d'autre part du nombre d'hémocultures réalisées.

Le sang est recueilli dans une paire de flacons aérobie et anaérobie de façon à permettre la croissance d'un éventail aussi large que possible de micro-organismes, qu'ils s'agissent de bactéries ou de levures.

Les hémocultures doivent être prélevées si possible avant la mise en route du traitement anti-infectieux. Plusieurs prélèvements sont réalisés, à quelques heures d'intervalle, de préférence au moment d'un pic d'hyperthermie, d'hypothermie ou lors de frissons, signes d'une décharge bactériémique. Les hémocultures sont prélevées par ponction veineuse directe sur une veine périphérique et chez les patients porteurs de dispositifs intravasculaires, sur le cathéter ou la chambre sous cutanée. Les recommandations locales de GR sont de réalisées dans le même temps, un prélèvement d'hémocultures sur une veine périphérique et un autre sur le dispositif intravasculaire chez les patients qui en sont porteurs. Ces hémocultures couplées ont démontré leur intérêt dans le diagnostic des

bactériémies dont la porte d'entrée est une infection développée à partir d'un dispositif intravasculaire.

Différentes conditions sont à respecter afin que ce prélèvement soit de qualité et qu'il puisse être analysé dans de bonnes conditions :

- Choix du moment du prélèvement (pic fébrile, hypothermie, frisson, avant antibiothérapie).
- Respect des procédures lors du prélèvement (asepsie de la peau, désinfection du capuchon du flacon d'hémoculture...) afin d'éviter les contaminants et de travailler en toute sécurité.
- Obtention d'une quantité de sang suffisante.
- Réalisation d'un nombre de prélèvements suffisant.
- Sélection des milieux de cultures adaptés :
  - Prélèvement sur deux milieux de culture différents (en aérobiose et en anaérobiose).
  - Utilisation de bouillons de culture appropriés.
- Respect des bonnes conditions d'acheminement des échantillons au laboratoire.
- Réalisation des investigations spécifiques (recherche de microorganismes à croissance lente et/ou difficile).

Le protocole de prélèvement a été validé par le CLIN en accord avec les représentants de la direction des soins et le laboratoire de microbiologie.

### **1.4.3 Principe de détection**

Le laboratoire utilise l'automate BacTALERT3D® et des flacons en aérobiose (FA) de couleur vert et en anaérobiose de couleur orange (FN) commercialisés par bioMérieux®. Ces flacons contiennent du charbon destiné à adsorber les antibiotiques éventuellement présents dans le sang du malade au moment du prélèvement car ils pourraient inhiber la croissance bactérienne.

Se référer à l'[Annexes 4 et 5 : Fiches techniques des flacons bioMérieux®](#)



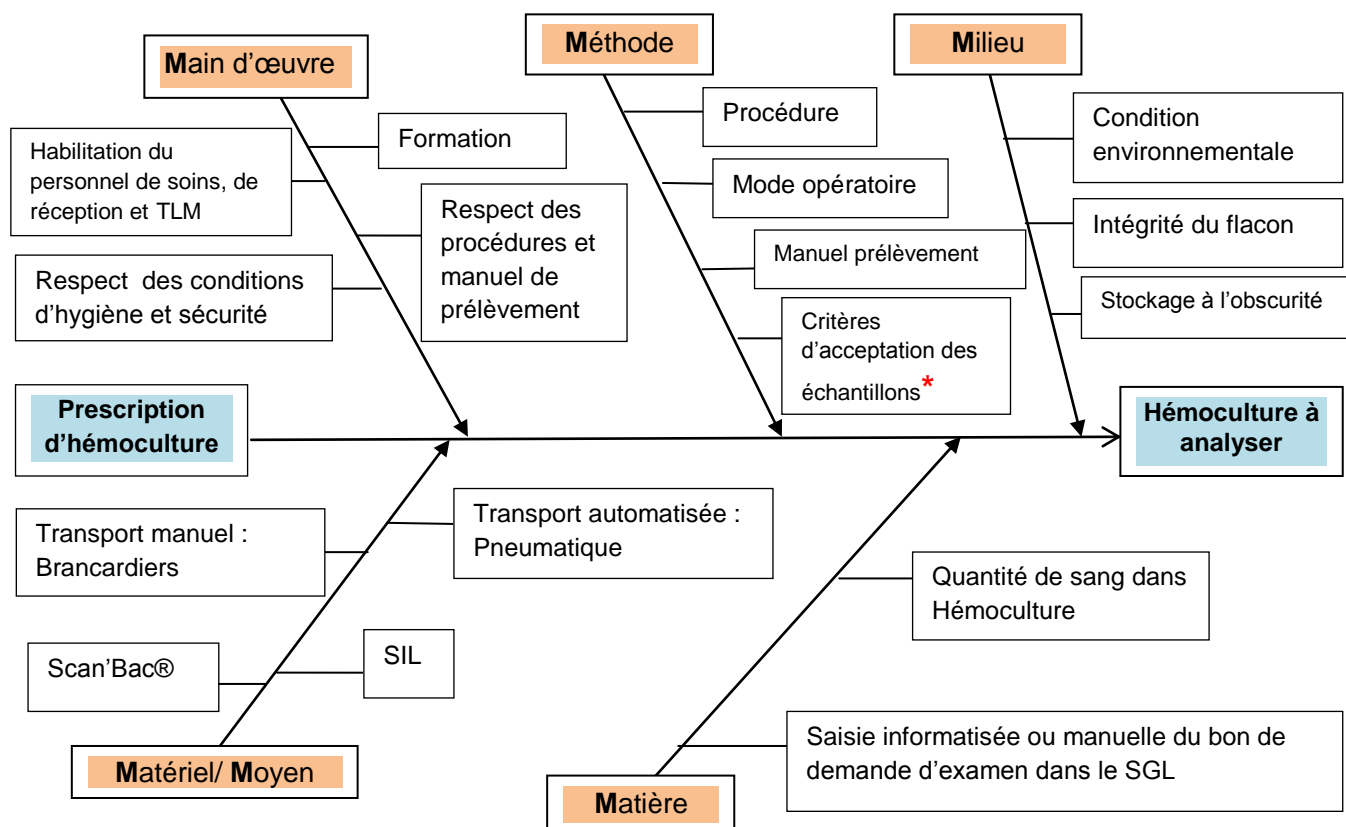
Chaque flacon est introduit dans une cellule au sein de l'automate, incubé pendant 5 jours. Le principe de détection de la croissance bactérienne est basé sur la production de CO<sub>2</sub> émis par les micro-organismes au cours de leur multiplication. Le CO<sub>2</sub> produit acidifie le milieu de culture ce qui entraîne une diminution de pH. Cette diminution de pH est détectée par l'automate grâce au changement de couleur d'une membrane contenant un indicateur de pH située au fond du flacon. Un flacon est déclaré positif selon un algorithme de mesure spécifique à l'automate.

#### **1.4.4 Recommandations**

Selon les recommandations de la Société Française de Microbiologie (REMIC), la phase pré-analytique des hémocultures est très importante. Le volume de sang ainsi que le délai d'acheminement de l'échantillon sont à respecter afin de ne pas rendre un résultat faussement négatif : « *un volume de sang insuffisant est associé à une perte de chance diagnostique* ».

## 1.4.5 Présentation de l'analyse des risques

Analyse de risques effectuée par la méthode des 5M (diagramme d'Ishikawa) :



\*Les critères d'acceptation des échantillons comprennent :

- Le délai d'acheminement des flacons d'hémocultures
- La qualité du remplissage du bon de demande d'examen des hémocultures

## 2. Présentation de l'étude

L'étude de l'analyse du parcours pré-analytique des échantillons d'hémocultures est divisée en plusieurs étapes, ceci dans le but :

- de mesurer le volume de sang prélevé.
- d'estimer le délai d'acheminement des flacons au laboratoire décomposé en deux temps :
  - délai entre la réalisation du prélèvement et sa réception à l'accueil des prélèvements.

- délai entre la réception à l'accueil des prélèvements et son insertion dans l'automate au laboratoire.

- d'analyser les demandes d'examens décomposées en deux temps :

- la qualité du remplissage du bon de demande d'examen par les services de soins.
- la qualité de la saisie des informations du bon de demande dans le système de gestion de laboratoire (SGL).

Dans l'étude de ces différentes parties, le personnel a été impliqué afin de trouver des solutions d'amélioration suite aux difficultés que celui-ci peut rencontrer.

L'étude basée sur la mesure du volume de sang prélevé et l'estimation du délai d'acheminement des flacons a été réalisée sur une semaine (hors période de vacances scolaires).

L'étude basée sur la qualité du remplissage des bons de demande d'examen et de leur saisie informatisée a été réalisée pour des demandes prescrites le jour et la nuit.

## 2.1 Le volume de sang prélevé dans les flacons d'hémoculture

### 2.1.1 Méthode

L'étude du volume de sang prélevé dans le flacon est réalisée par pesée, avant ouverture du flacon en cas de positivité et après 5 jours d'incubation dans l'automate pour les flacons négatifs. L'échantillonnage est de 103 dossiers patients.

Le matériel utilisé est une balance électronique vérifiée annuellement par un organisme extérieur.

En partant du principe qu'un gramme correspond en moyenne à un millilitre de sang.

Le volume de sang présent dans le flacon est calculé à partir du poids total du flacon rempli de sang moins le poids moyen de flacons ne contenant pas de sang.

Pour ce faire, il a été pesé dix flacons aérobies de deux lots différents ne contenant pas de sang. Le poids moyen d'un flacon **aérobie est de 58,7 grammes**. Pour le flacon anaérobie, pesée de dix flacons sur un lot (car pas de lots différents à disposition) ne contenant pas de sang. Le poids moyen d'un flacon **anaérobie est de 69,3 grammes**.

Afin de faciliter l'interprétation des résultats, les services de soins de l'hôpital sont regroupés par secteurs d'activité :

- Médecine
- Chirurgie
- Pédiatrie
- Hématologie
- Réanimation

Les résultats ont également été analysés selon le site de prélèvement :

- ❖ Cathéters veineux et chambres implantables
- ❖ Veine Périphérique

### **2.1.2 Recommandations**

- Selon les recommandations du REMIC : *« c'est la quantité totale de sang mise en culture lors d'un épisode clinique qui est de loin le paramètre le plus influent sur la sensibilité de l'examen »...**« il existe une relation directe entre le volume de sang inoculé dans les flacons d'hémocultures et le rendement de la technique »...**« la densité des bactéries présentes dans le sang est généralement très faible chez l'adulte, et est plus importante chez l'enfant ».*

- D'après le fournisseur bioMérieux®, il est recommandé de prélever un volume de sang de 10 mL. Un volume de sang supérieur à 10 mL *« n'assure pas un rapport optimal entre sang et milieu »*. Le fournisseur précise également que *« Même si des volumes d'échantillon inférieurs peuvent être utilisés, l'isolement peut être amélioré en utilisant un volume d'échantillon proche des 10 mL recommandés »*. Nous pouvons supposer qu'avec un volume inférieur à la recommandation, le laboratoire peut-être susceptible de rendre un résultat faussement négatif (cf recommandations du REMIC citées précédemment).

Se référer aux [Annexes 4 et 5 : Fiches techniques des flacons bioMérieux®](#)

### 2.1.3 Résultats

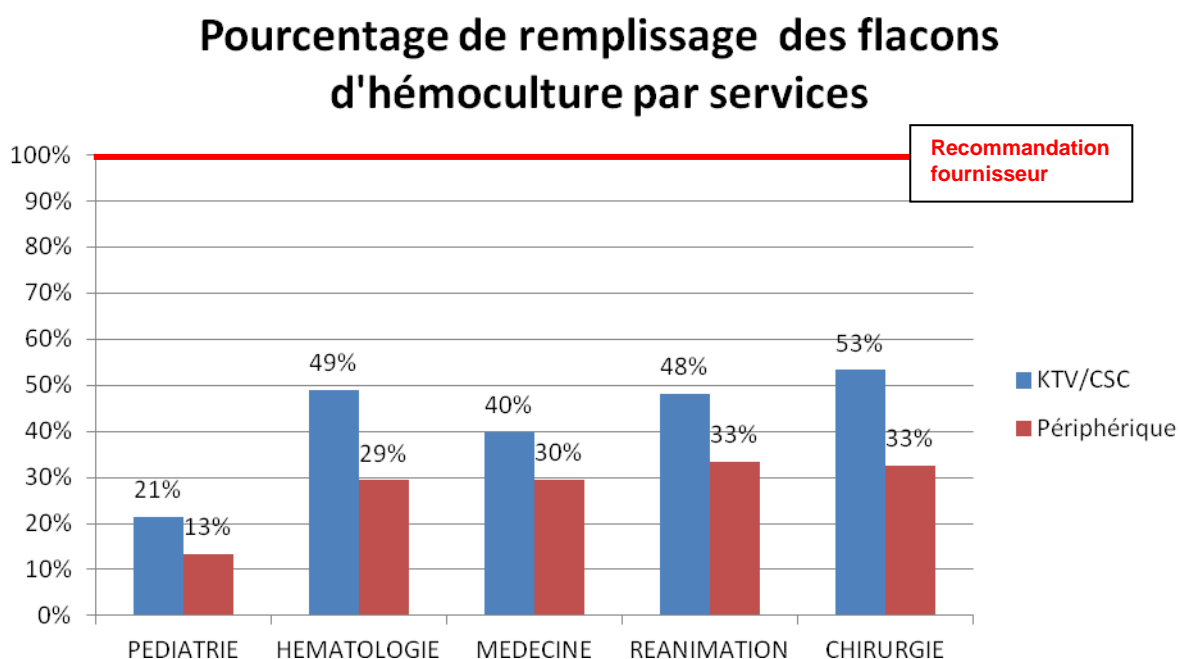
- Recueil des données :

Services de soins	Volume de sang moyen prélevé en mL (écart-type)	
	KTV/CSC*	Périphérique
PEDIATRIE	2,13 (1,6)	1,34 (1,8)
HEMATOLOGIE	4,90 (3,4)	2,94 (1,6)
MEDECINE	3,97 (2,5)	2,96 (3,7)
REANIMATION	4,80 (3,6)	3,34 (1,6)
CHIRURGIE	5,33 (3,3)	3,26 (3,4)

\*KTV : cathéter veineux  
CSC : chambre implantable

Rappel : le volume recommandé est de 10 mL

- Représentation graphique des données et conclusion :



D'après les résultats obtenus, l'ensemble des services de l'hôpital ne respectent pas les recommandations du fournisseur.

Pour le service de pédiatrie, le volume de sang prélevé est bien inférieur aux spécifications et à celui observé dans les autres secteurs d'hospitalisation qui ne prennent en charge que des adultes. Ceci est probablement la conséquence de la difficulté de prélever des volumes de sang important chez l'enfant.

Les flacons prélevés sur KTV/CSC sont plus remplis que ceux prélevés en périphérie.

Une hypothèse peut être proposée : les veines sont plus fragiles et peuvent se collaber ce qui ne peut pas arriver avec un KT ou une chambre implantable. Il ne faut pas oublier qu'au sein de cette structure hospitalière, les patients cancéreux ont des veines très fragilisées par les différents traitements chimiothérapeutiques dont certains ont une toxicité avérée.

#### **2.1.4 Echange avec le personnel de soin**

Au cours d'une réunion de concertation avec la cadre hygiéniste de GR, deux biologistes du service de microbiologie, les infirmières référentes en hygiène hospitalière des différents secteurs de soins et moi-même en tant que TLM (référent qualité du service de microbiologie), un échange a été réalisé sur les résultats obtenus au cours de cette étude. Les informations suivantes ont été rapportées par le personnel de soins :

- « Quelques gouttes de sang suffisent à la réalisation d'une hémoculture », notion générale (peut-être enseignée pendant la formation d'infirmière). Cette information circule dans l'ensemble de l'hôpital.
- Difficulté à lire la graduation sur le flacon (graduation présente afin d'aider le personnel soignant vis-à-vis du volume de sang à prélever) :
  - ❖ car la réalisation du prélèvement des hémocultures peut nécessiter d'incliner les flacons
  - ❖ le milieu déjà présent dans le flacon est noir en raison de la présence de charbon et ne permet pas d'estimer visuellement la quantité de sang prélevée.
- Au sein de la structure hospitalière les « patients sont très difficiles à prélever » du fait des traitements qui altèrent l'état de leurs veines.
- Appréhension du personnel soignant quant au volume de sang à prélever par rapport à la taille du flacon d'hémoculture (notion d'épargne sanguine).

- Absence de vide prédéfini dans le flacon ce qui ne permet pas d'informer le personnel soignant lorsque le volume de sang nécessaire est atteint.

Suite à ces échanges, des informations ont été apportées et cela a permis de contredire certaines idées reçues et de prendre connaissance des différentes difficultés rencontrées par le personnel de soins.

### **2.1.5 Perspective d'amélioration, actions à mettre en œuvre**

De retour dans le service de microbiologie, il a été déclaré une non-conformité pré-analytique dans le système de gestion des non conformités. Une fiche action a été mise en place. Celle-ci est composée des éléments suivants :

- Sensibilisation du personnel par courrier en interne adressé aux cadres.
- Sollicitation auprès de notre fournisseur bioMérieux® d'une formation dispensée au personnel de soins.
- Changement des flacons: mise à disposition de nouveaux flacons avec, à la place du charbon, de la résine ce qui permet d'apprécier visuellement la quantité de sang prélevée et de mieux visualiser la graduation présente sur le flacon.
- Possibilité de mettre en place des flacons spéciaux pour le service de pédiatrie: le fournisseur bioMérieux® commercialise des flacons pour un volume d'échantillon disponible minimale. Ils permettent l'isolement d'anaérobies facultatifs et aérobies (bactéries et levures) à partir du sang pour un volume recommandé de 4 mL.  
Se référer à l'[Annexe 6 : Fiche technique du flacon pour un volume de sang de 4mL bioMérieux®](#)  
Cependant, il n'existe pas d'étude permettant de vérifier que ces flacons ont les mêmes performances diagnostic chez des patients pédiatriques d'onco-hématologie.
- Mise à jour de la procédure rédigée conjointement par le CLIN, la direction des soins et le service de microbiologie sur les modalités de recueil d'une hémoculture. (Procédure disponible dans le manuel de prélèvement).
- Vérification de l'efficacité de la fiche d'action dans 6 mois par un nouvel échantillonnage.

## **2.2 Le délai d'acheminement des flacons au laboratoire :**

Le délai est étudié en deux temps :

- Le délai entre la réalisation du prélèvement et sa réception à l'accueil des prélèvements (Core Biopath).
- Le délai entre la réception de l'échantillon à Core Biopath et son insertion dans l'automate au laboratoire de microbiologie.

Organisation du laboratoire :

Le laboratoire de microbiologie est ouvert 7jours/7, du lundi au vendredi de 8h00 à 17h30, le samedi de 8h00 à 16h30 et le dimanche et Jours fériés de 8h00 à 12h00. En dehors de ces heures d'ouverture, les hémocultures sont insérées dans l'automate BacTALERT3D® tous les jours jusqu'à 23h30 par le personnel de garde.

Le BacTALERT3D® est situé dans le laboratoire de microbiologie.

Les hémocultures prélevées après 23h30 restent dans le service de soins et sont acheminées au laboratoire par un brancardier qui les récupère dans les différents services hospitaliers avant de les déposer à Core Biopath. Les hémocultures sont enregistrées à partir de 8h par le personnel de l'accueil des prélèvements.

### **2.2.1 Délai entre la réalisation du prélèvement et sa réception à l'accueil des prélèvements**

Ce délai correspond au temps passé entre la réalisation du prélèvement et la réception de celui-ci par le personnel de Core Biopath.

Deux tranches horaires ont été étudiées :

- De 08h00 à 23h30 : Période pendant laquelle les flacons sont pris en charge par le personnel du laboratoire et incubés dans l'automate BacTALERT3D®.
- De 23h30 à 08h00 : Période pendant laquelle les hémocultures sont conservées dans les services hospitaliers à température ambiante, période de temps pendant laquelle les flacons ne sont pas incubés.

### **2.2.1.1 Méthode**

L'étude est basée sur le délai écoulé entre l'heure de réalisation du prélèvement par le personnel de soins et l'heure d'horodatage de la feuille de prescription par l'accueil des prélèvements.

L'échantillonnage est de 103 dossiers patients (ce qui correspond à 103 flacons d'hémocultures) pour des demandes prescrites le jour et la nuit.

### **2.2.1.2 Recommandations et critères d'acceptation définis par le laboratoire**

- La norme ISO 15189 (version 2012) impose que la date et l'heure du prélèvement de l'échantillon primaire soient inscrites sur la prescription (chapitre 5.4.3 f) « Informations de prescription ») ainsi que la date et l'heure de la réception de l'échantillon (chapitre 5.4.3 g) « Informations de prescription »).

La norme demande à ce que le laboratoire « *dispose d'une procédure documentée pour s'assurer que les échantillons sont transportés : en respectant un délai approprié, une température spécifiée, qui garantissent de l'échantillon* » (5.4.5 a) b) c).

Au sein de la plateforme de biologie, il existe deux documents qui décrivent les modalités de prélèvements : il s'agit du Manuel de Prélèvement et d'un autre document qui décrit les critères de conformité des demandes d'échantillons (D-RP-INS003 « Vérification de la conformité des demandes et échantillons »)

- Le fournisseur bioMérieux®, recommande de transférer le plus rapidement possible les flacons d'hémoculture inoculés au laboratoire. Cependant si ceux-ci n'ont pas été incubés dans l'automate prévu à cet effet (le fournisseur a conscience que ce délai n'est pas toujours respecté), il faut « *conserver les flacons à température ambiante (20°C ; 25°C) au maximum 24 heures avant leur introduction dans l'automate* ».

A la demande de l'auteur de ce mémoire, bioMérieux® a envoyé un courrier spécifiant cette information. Ce document est inclus dans la procédure de Vérification de la conformité des échantillons.

- D'après le REMIC « *Les flacons doivent être acheminés au laboratoire dès que possible. L'acheminement est réalisé à température ambiante* ». Cependant, « *tout retard d'introduction des flacons dans l'automate entraine un délai de production de résultat allongé préjudiciable à la prise en charge des patients dont le risque vital est engagé* ».

### 2.2.1.3 Résultats

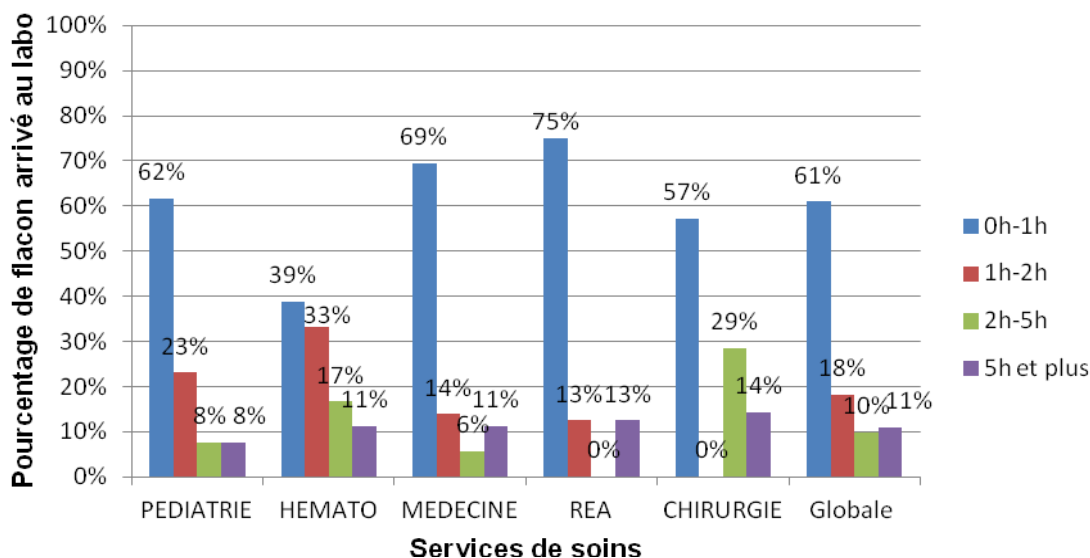
- Recueil des données brutes de 08h à 23h30:

Délai d'acheminement à Core Biopath	Nombre de flacon reçu par service de 8h à 23h30				
	0h-1h	1h-2h	2h-5h	5h et plus	Total
PEDIATRIE	8	3	1	1	13
HEMATOLOGIE	7	6	3	2	18
MEDECINE	25	5	2	4	36
REANIMATION	6	1	0	1	8
CHIRURGIE	4	0	2	1	7
Globale	50	15	8	9	82

Délai d'acheminement à Core Biopath	Nombre de flacon reçu par service de 8h à 23h30 en pourcentage			
	0h-1h	1h-2h	2h-5h	5h et plus
PEDIATRIE	62%	23%	8%	8%
HEMATOLOGIE	39%	33%	17%	11%
MEDECINE	69%	14%	6%	11%
REANIMATION	75%	13%	0%	13%
CHIRURGIE	57%	0%	29%	14%
Globale	<b>61%</b>	<b>18%</b>	10%	11%

- Représentation graphique des données :

## Délais d'acheminement des flacons à l'accueil des prélèvements CoreBiopath de 8h00 à 23h30



- Conclusion sur le délai d'acheminement des flacons à l'accueil des prélèvements Core Biopath de 08h à 23h30 :

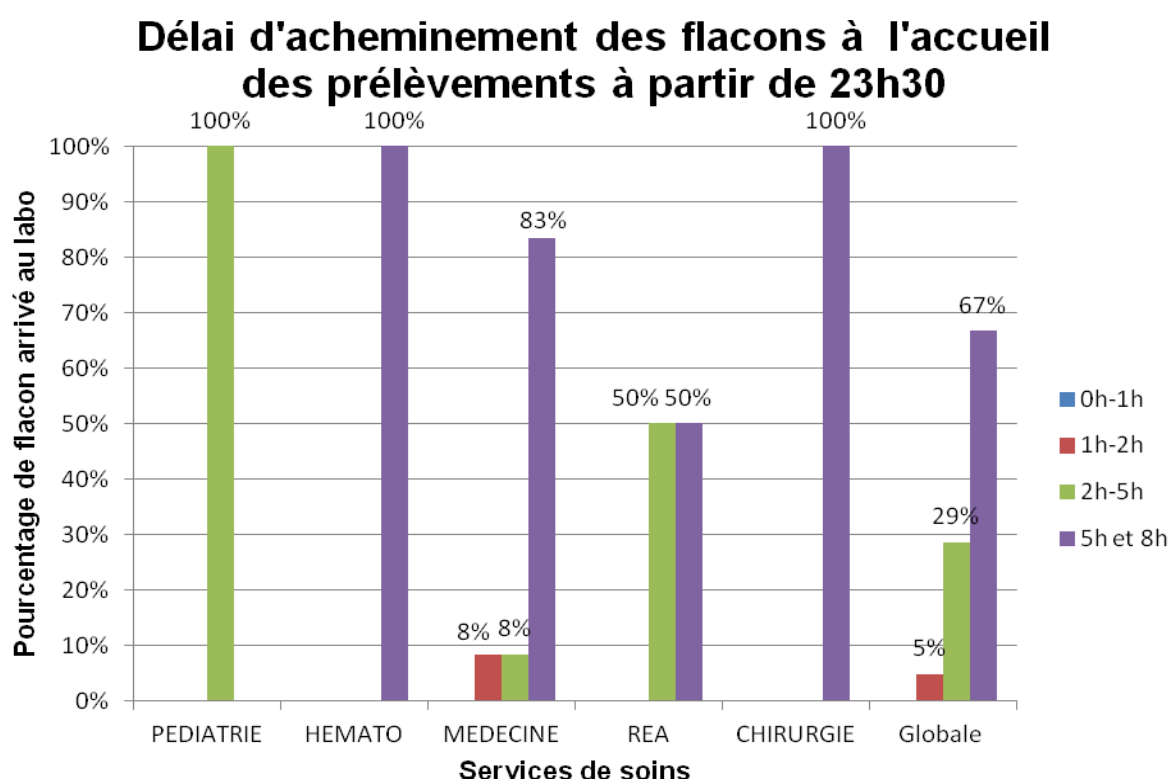
Dans 80% des cas le délai d'acheminement des flacons est entre 0 et 2 heures ce qui est conforme aux attentes du laboratoire.

- Recueil des données brutes pour la période de 23h30 à 8h00 :

Délai d'acheminement au centre de tri	Nombre de flacon reçu par service à partir de 23h30				Total
	0h-1h	1h-2h	2h-5h	5h et 8h	
PEDIATRIE	0	0	4	0	4
HEMATOLOGIE	0	0	0	2	2
MEDECINE	0	1	1	10	12
REANIMATION	0	0	1	1	2
CHIRURGIE	0	0	0	1	1
Globale	0	1	6	14	21

Délai d'acheminement au centre de tri	Nombre flacon reçu par service à partir de 23h30 en pourcentage			
	0h-1h	1h-2h	2h-5h	5h et 8h
PEDIATRIE	0%	0%	100%	0%
HEMATOLOGIE	0%	0%	0%	100%
MEDECINE	0%	8%	8%	83%
REANIMATION	0%	0%	50%	50%
CHIRURGIE	0%	0%	0%	100%
Globale	0%	5%	29%	67%

- Représentation graphique des données :



- Conclusion sur le délai d'acheminement des flacons à l'accueil des prélèvements Core Biopaht à partir de 23h30 :

Dans plus de 90% des cas, les services de soins respectent le délai d'envoi de flacons d'hémocultures à l'accueil des prélèvements.

#### **2.2.1.4 Echange avec le personnel de soins**

Lors de la même réunion que précédemment, un échange a été réalisé avec le personnel de soins sur ces résultats :

- Le personnel a fait part de sa difficulté à envoyer des hémocultures par le système pneumatique en raison de l'impossibilité de mettre plus de 4 flacons dans les cartouches.
- Les représentants du laboratoire ont rappelé la consigne de ne pas envoyer au laboratoire les hémocultures après 23h30.

#### **2.2.1.5 Perspective d'amélioration, action à mettre en œuvre**

Les cartouches contenant les hémocultures ne peuvent pas être modifiées, cependant le laboratoire peut réfléchir à une meilleure prise en charge des patients 24h/24 7jours/7 :

- Etendre de 23h30 jusqu'à 8h00 la plage horaire de la prise en charge des flacons dans l'automate par le personnel de garde du laboratoire.
- Installer un module de l'automate BacTALERT3D® à l'accueil des prélèvements afin d'éviter au personnel de nuit des allers/retours fréquents au laboratoire de microbiologie et de faciliter ainsi l'introduction rapide des flacons dans l'automate.

### **2.2.2 Délais entre la réception des échantillons à Core Biopath et l'insertion dans l'automate**

Ce délai correspond au temps passé entre la réception de l'échantillon à l'accueil des prélèvements et l'insertion de celui-ci dans le BacTALERT® situé au laboratoire de Microbiologie.

#### **2.2.2.1 Méthode**

L'étude est basée sur le délai écoulé entre l'heure d'horodatage de la feuille de demande et l'heure d'insertion des flacons dans l'automate sur un échantillonnage de 84 dossiers patients (ce qui correspond à 84 flacons d'hémocultures) pour des demandes prescrites le jour et la nuit.

### 2.2.2.2 Recommandations

Elles sont identiques au délai précédent.

### 2.2.2.3 Résultats

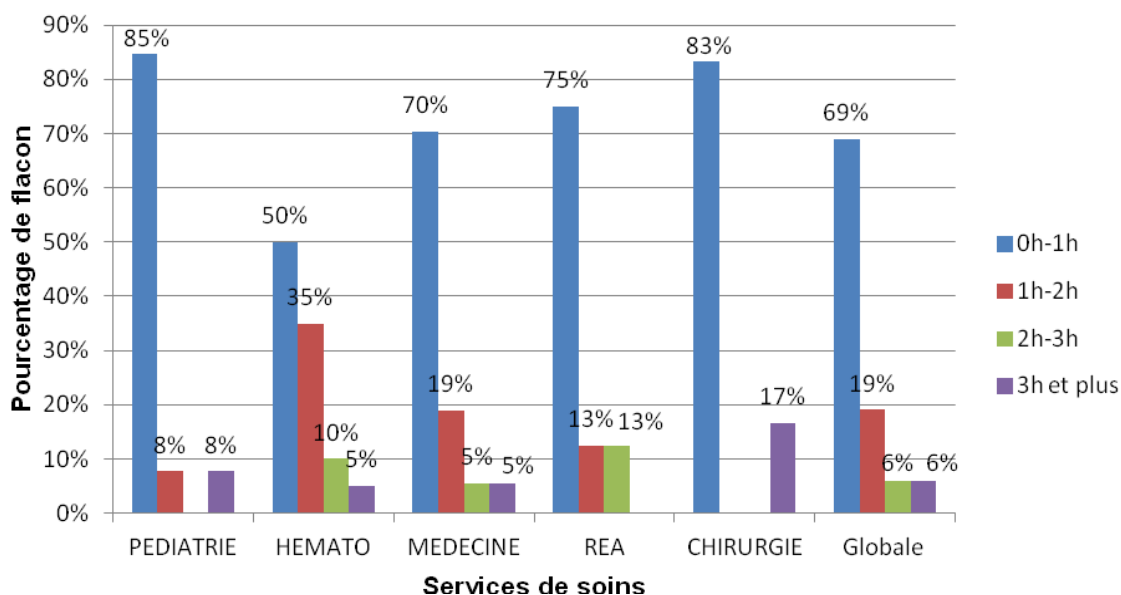
- Recueil des données brutes de 8h00 à 23h30 :

Délai d'acheminement jusqu'à l'automate	Nombre de flacon reçu par service entre 8h00 et 23h30				
	0h-1h	1h-2h	2h-3h	3h et plus	Total
PEDIATRIE	11	1	0	1	13
HEMATOLOGIE	10	7	2	1	20
MEDECINE	26	7	2	2	37
REANIMATION	6	1	1	0	8
CHIRURGIE	5	0	0	1	6
Globale	58	16	5	5	84

Délai d'acheminement jusqu'à l'automate	Nombre de flacon reçu par service entre 8h00 et 23h30 en pourcentage			
	0h-1h	1h-2h	2h-3h	3h et plus
PEDIATRIE	85%	8%	0%	8%
HEMATOLOGIE	50%	35%	10%	5%
MEDECINE	70%	19%	5%	5%
REANIMATION	75%	13%	13%	0%
CHIRURGIE	83%	0%	0%	17%
Globale	<b>69%</b>	<b>19%</b>	6%	6%

- Représentation graphique des données :

## Délai d'acheminement des flacons jusqu'à l'automate de 08h à 23h30



- Conclusion sur le délai d'acheminement des flacons jusqu'à l'automate de 08h à 23h30 :

Dans 90% des cas, les flacons sont introduits dans l'automate dans les deux heures qui suivent la réception de l'échantillon à l'accueil des prélèvements, ce qui est conforme aux attentes du laboratoire.

### 2.2.2.4 Amélioration, action à mettre en œuvre

Résultat conforme aux attentes du laboratoire donc aucune action d'amélioration est envisagée.

## 2.3 Analyse des demandes d'examens

### 2.3.1 Qualité du remplissage du bon de demande d'examen par les services de soins

Présentation :

Sur la feuille de demande d'examen d'hémoculture, plusieurs informations doivent être obligatoirement renseignées afin de rendre la prescription conforme :

- l'étiquette d'identification du patient
- les étiquettes code-barres des flacons prélevés
- la date/heure/nature du prélèvement
- l'identité du prescripteur et du préleveur

Se référer à l'[Annexe 7 : Feuille de demande d'Hémoculture](#)

Core Biopath est équipé d'un Scan'Bac® : c'est un outil qui permet de scanner le bon de demande d'examen correctement rempli. Les informations du bon de demande sont alors enregistrées directement dans le SGL.

Il est possible toutefois de saisir manuellement la feuille de demande d'examen : lorsque cette dernière est mal remplie, lorsque les codes-barres des flacons sont mal collés...

Lors de l'enregistrement (phase pré-analytique), si des informations sont manquantes sur le bon de demande d'examen, en fonction du degré d'impact sur la réalisation et la prise en charge de l'examen, une ou plusieurs non-conformité(s) sont saisie(s) dans le dossier informatique du prélèvement.

Le laboratoire a défini deux types de non-conformités pré-analytiques (NCPA):

- ❖ Une non-conformité bloquante : l'analyse ne peut pas être réalisée sauf en cas de dérogation du biologiste
- ❖ Une non-conformité non bloquante : l'analyse peut être réalisée après régularisation.

Une évaluation de NCPA est réalisée par le référent qualité. La synthèse est effectuée en revue de direction.

Cette étude de la qualité du remplissage du bon de demande d'examen par les services de soins est basée sur les NCPA. Les NCPA sont communes à l'ensemble des laboratoires de biologie du département selon une procédure commune de saisie dans le SGL.

### **2.3.1.1 Méthode**

Afin d'étudier les NC spécifiques aux hémocultures, il a été recensé sur un échantillonnage de 50 feuilles de demandes d'examens, le nombre de bons non conformes réceptionnés et la nature des non conformités relevées. A titre indicatif, les 50 feuilles de demandes représentent 25% de l'activité hebdomadaire des hémocultures.

L'analyse de ces feuilles est réalisée avant qu'elles ne soient enregistrées par le personnel de Core Biopath. En effet, si le personnel soignant n'a pas coché les cases correspondantes à la date et à l'heure (et qu'elles figurent sur le bon de demande), le personnel chargé de l'enregistrement des prescriptions renseigne les informations manquantes afin que le bon de demande puisse être scanné.

L'étude porte sur des demandes du jour et de la nuit.

### 2.3.1.2 Recommandations

La norme ISO 15189 (version 2012), stipule que « *le laboratoire **doit** mettre en place une procédure documentée permettant d'identifier et de gérer les non-conformités relatives au processus pré-analytique* » (chapitre 4.9).

Afin de répondre à l'exigence de la norme, le laboratoire dispose de documents suivants :

- D-RP-PR002 « Prise en charge d'une demande d'examen »
- D-RP-MO003 « Enregistrement d'une non-conformité pré-analytique dans GLIMS »
- D-RP-INS003 « Vérification des demandes et échantillons »

### 2.3.1.3 Résultats

- Recueil des données brutes:

Intitulé de la NC	Prescription				Identification du patient	Transport
	Absence identification patient	Service non renseigné	Identification préleveur non renseigné	Température non renseignée	Absence identification du spécimen	Hémocultures+ autres spécimens
Nombre de dossier non conforme	1	2	1	1	2	1
Type de NC	<b>Bloquante</b>	Non Bloquante	Non Bloquante	Non Bloquante	<b>Bloquante</b>	Non Bloquante

- Interprétation des données:

- 3 dossiers sur 50 comportent une NC Bloquante ce qui représente 6%.
- 6 dossiers sur 50 comportent une NC Non Bloquante ce qui représente 10%.

Il est difficile de comparer ces résultats aux données obtenues d'un point de vue global pour le département de biologie médicale.

En effet, les non conformités du département tiennent compte de l'ensemble des NC relevées pour les activités de biochimie, hématologie, bactériologie (soit 17570 dossiers mensuels pour l'année 2014). A titre indicatif, les NCPA bloquantes du département sont inférieures à 1% et les NCPA non bloquantes du département sont de l'ordre de 3,5 %.

Or, il a été observé sur la simple analyse des hémocultures, les chiffres sont bien plus importants.

Au cours des réunions citées précédemment, lorsque le chiffre de 6% de NC bloquantes a été évoqué au personnel soignant celui-ci a fait part de sa difficulté à rendre conforme un bon de demande d'hémoculture étant donné la quantité d'informations à transcrire et la quantité d'étiquettes à coller sur le bon.

En effet, pour un bon de demande d'hémoculture, le personnel soignant doit coller :

- Des étiquettes « patients » sur le bon et sur chaque flacon d'hémocultures.
- Les étiquettes code-barres correspondant à chaque flacon sur le bon de demande.

Ainsi, pour un patient ayant 4 flacons d'hémocultures prélevés, cela représente 9 étiquettes à coller.

Le département en collaboration avec la direction des soins et la direction des systèmes d'information met en place une prescription connectée. Il est souhaitable que ce nouvel outil de prescription (déploiement prévu pour la fin de l'année 2015) permette au personnel soignant de diminuer le nombre d'étiquettes à coller sur les différents supports. Ainsi il pourra peut-être être observé une diminution des NC bloquantes, qui sont préjudiciables pour la prise en charge du patient puisque tout échantillon non identifié est rejeté.

La mise en place de ce nouvel outil n'empêche pas en attendant une nouvelle sensibilisation auprès du personnel de soins.

D'autre part, l'étude permet également d'étudier la complexité de remplissage du bon de demande des hémocultures pour le personnel soignant. Au moment du changement de SGL et du déploiement du Scan'Bac® (il y a 4 ans), le laboratoire a créé la trame de la feuille de demande d'examen. A la suite de cette création, le laboratoire s'est aperçu que des informations nécessaires à la bonne prise en charge des flacons ne figuraient pas sur le bon (exemple : date, heure du prélèvement manquante) car le personnel de soins ne pouvait pas écrire certaines de ces informations. En effet sur la première version, il ne pouvait uniquement cocher que des petites cases correspondantes au mois, jour, heures et minutes.

Une nouvelle version de la feuille de demande permet maintenant au personnel de soins de renseigner plus facilement les feuilles de demandes.

Ainsi, à titre informatif, il a été relevé sur les 50 dossiers étudiés, les informations qui n'étaient pas cochées dans les cases correspondantes mais qui étaient renseignées sur le bon de demande. En aucun cas, ce non « cochage » ne peut être considéré comme une non-conformité à partir du moment où la date et l'heure du prélèvement sont renseignées sur le bon de demande d'examen. C'est le personnel à l'enregistrement qui coche les informations écrites afin de pouvoir scanner la feuille de demande dans le Scan'Bac®. Cette retranscription allonge un peu le délai d'enregistrement de la demande dans le SGL et le risque d'erreur de retranscription est toujours possible.

Renseigné mais cases correspondantes non cochées sur le bon de demande d'examen						
Case température du patient non cochée	Case date du prélèvement non cochée	Case heure du prélèvement non cochée	AM-PM non cochée	Case devant codes-barres non cochées	Code-barres mal collés	Total
2	13	13	16	23	4	<b>71</b> sur 50 dossiers

Sur les 50 dossiers étudiés, 71 informations n'ont pas été cochées : ce qui représente 24% des dossiers repris.

#### **2.3.1.4 Amélioration, action à mettre en œuvre**

- Il est prévu de réaliser une sensibilisation du personnel par courrier en interne aux cadres sur les bonnes règles de remplissage du bon de demande d'hémocultures.
- Refaire un audit des feuilles de demandes dans 6 mois.
- Mise en place de la prescription connectée.

## **2.3.2 La qualité de la saisie du bon de demande d'examen dans le système de gestion de laboratoire (SGL)**

### **2.3.2.1 Méthode**

Cette étude a été réalisée sur un échantillonnage de 50 feuilles de demandes d'examens (les mêmes feuilles que précédemment).

L'enregistrement peut avoir été effectué de deux manières différentes :

- ❖ Manuellement par le personnel de CoreBiopath
- ❖ Automatisée avec le Scan'Bac®

### **2.3.2.2 Résultats**

Deux types de non conformités ont été mis en évidence sur les 50 dossiers étudiés :

- Deux erreurs de retranscription d'un horaire ou d'une date inscrite sur le bon de demande soit 4%.
- Une erreur de reconnaissance « scanner » soit 2% (les codes-barres des flacons n'ont pas été enregistrés par le Scan'Bac® car les étiquettes sont légèrement décalées).

### **2.3.2.3 Perspective d'amélioration, action à mettre en œuvre**

- Sensibilisation du personnel de Core Biopath sur l'importance d'une bonne retranscription des données inscrites en clair sur le bon de demandes. Cette sensibilisation sera effectuée au cours de la prochaine de réunion de service.
- Un audit de retranscription des bons de demandes sera effectué dans 3 mois.

### 3. Conclusion

Ce sujet de mémoire sur l'étude pré-analytique du parcours des hémocultures au sein de notre structure hospitalière, a permis de constater :

- ❖ Un non-respect des préconisations fournisseurs quant au volume de sang à prélever.
- ❖ Un respect des délais d'acheminement des flacons d'hémocultures à l'accueil des prélèvements.
- ❖ Un respect des délais d'insertion des flacons d'hémocultures dans l'automate BacTALERT3D®.
- ❖ Un taux des bons de demandes non conformes respectivement de 10% pour les NC non bloquantes et de 6% pour les NC bloquantes.
- ❖ Un taux de reprise des bons de demande avant son insertion dans le Scan'Bac® de l'ordre de 24%. En rappelant que cette reprise n'est pas considérée comme une non-conformité.

Les dysfonctionnements énoncés ci-dessus font l'objet d'une fiche de non-conformité car d'après la norme, « *le laboratoire doit prendre des actions correctives pour éliminer la ou les causes profondes de non conformités rencontrées* » dans une perspective d'amélioration continue. Au sein de la structure hospitalière ce qui découle d'une non-conformité est une fiche d'action. La non-conformité est suivie par le référent qualité et le responsable d'activité. Le bilan des NC étant assuré mensuellement par l'ensemble des acteurs de la cellule qualité.

Dans le cadre des dysfonctionnements observés, une campagne de sensibilisation du personnel de soins sera réalisée par le RAQ, le chef de service de microbiologie et l'auteur de ce mémoire lors des réunions organisées avec les cadres de soins. A cette occasion, il sera étudié avec leur collaboration la nécessité d'organiser des formations spécifiques dans les services hospitaliers.

Le laboratoire propose de vérifier dans un délai de 6 mois si les actions de sensibilisation ont été efficaces (volume de sang prélevé et diminution du nombre de NC bloquante et non bloquante).

En effet, l'objectif est d'améliorer la qualité du prélèvement de l'hémoculture en vue d'une meilleure prise en charge globale des patients.

## Sources

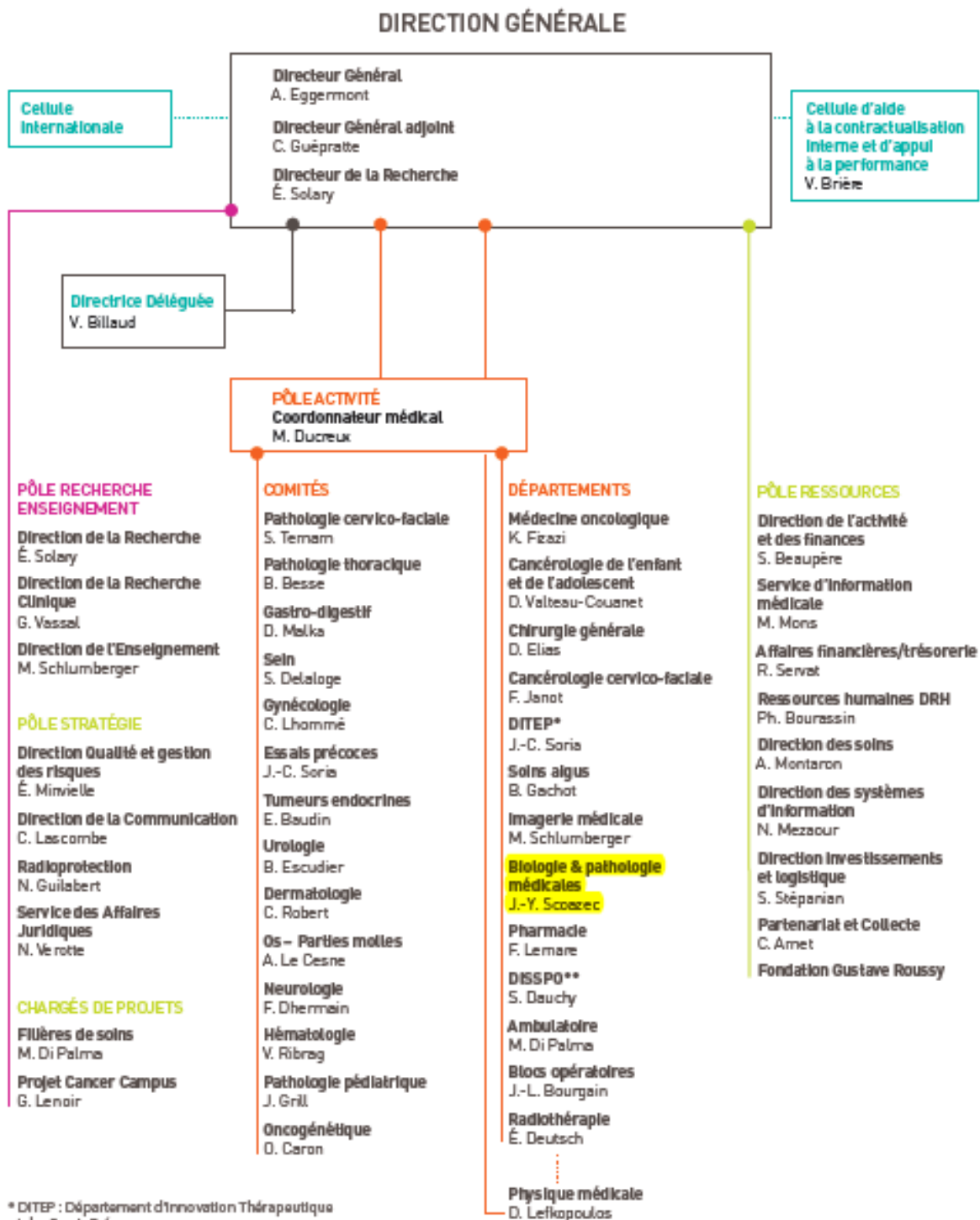
Norme NF ISO 15189 version 2012 Laboratoire de biologie médicale, Exigences concernant la qualité et la compétence

REMIC : Référentiel en Microbiologie Médical version 2014 et 2015.

Notices du fournisseur bioMérieux®

# Annexe 1 : Organigramme de l'hôpital Gustave

## ORGANIGRAMME DE GUSTAVE ROUSSY

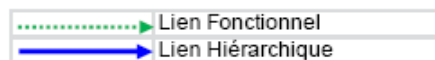
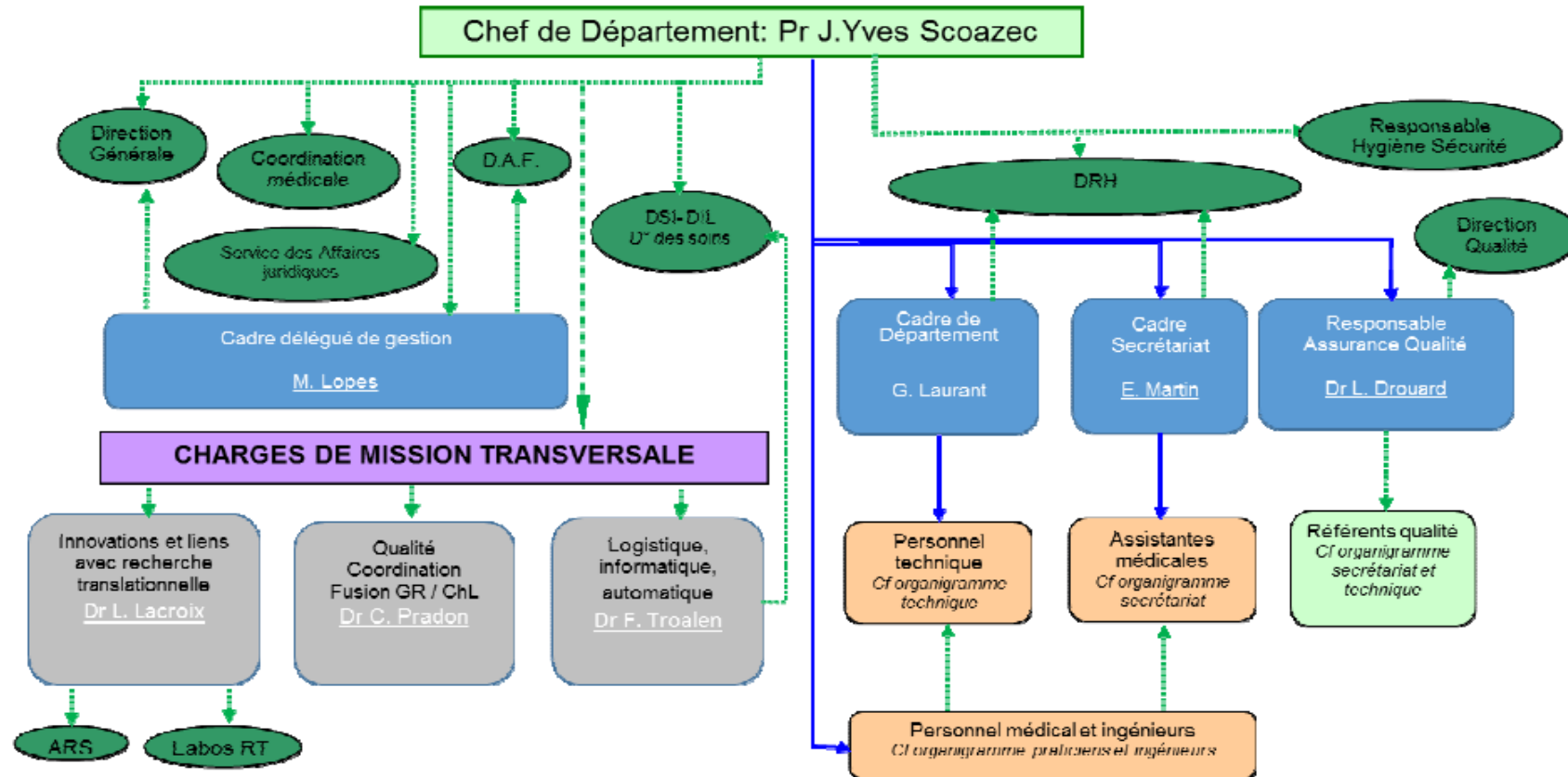


\* DITEP : Département d'Innovation Thérapeutique et des Essais Précoces.

\*\* DISSPO : Département Interdisciplinaire des Soins de Support aux Patients en Onco-hématologie.

Organigramme Fonctionnel

Validation AQ	Nom	Date	Signature
	Fanny SANCY	13/05/2013	FSY



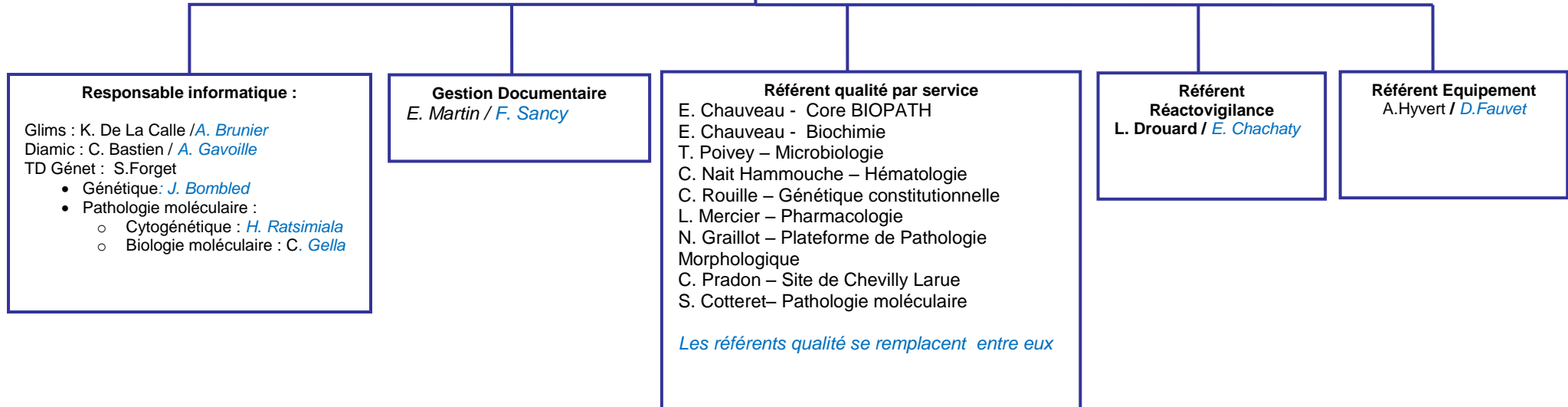
Annexe 2 : Organigramme de Biopath

Organigramme Qualité

Validation AQ	Nom	Date	Signature
	Fanny SANCY	08/07/2015	FSY


**Chef de Département**  
J. Y. Scoazec

**Responsable Assurance Qualité**  
L. Drouard / *G. Laurant*



Annexe 3 : Organigramme qualité de Biopath

REF 259791

9304034 B – 2012/06 **BacT/ALERT® FA****SECTION MISE À JOUR**

Se reporter au glossaire des symboles en fin de notice.

**APPLICATION**

Les flacons de culture BacT/ALERT® FA s'utilisent avec le système de détection microbienne BacT/ALERT® dans le cadre de procédures qualitatives de détection et d'isolement de microorganismes (bactéries et champignons) anaérobies facultatifs et aérobies dans le sang et d'autres liquides biologiques normalement stériles.

**RÉSUMÉ ET EXPLICATION**

Le système de détection microbienne BacT/ALERT permet de détecter la présence de microorganismes dans des échantillons de sang ou d'autres liquides biologiques normalement stériles prélevés sur des patients suspectés de présenter une bactériémie ou une fongémie. Le système et les flacons de culture BacT/ALERT associent un système de détection microbienne à un milieu de culture qui offrent des conditions nutritionnelles et environnementales optimales aux organismes habituellement rencontrés en cas d'infection du sang ou d'autres liquides biologiques normalement stériles. Le flacon inoculé est placé dans l'instrument où il est incubé et suivi en continu pour y détecter la présence de microorganismes qui se développeront dans les flacons BacT/ALERT FA.

**PRINCIPE DU TEST**

Le système de détection microbienne BacT/ALERT repose sur un détecteur colorimétrique et la lumière réfléchie pour suivre la présence et la quantité de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) dissoute dans le milieu de culture. Si des microorganismes sont présents dans l'échantillon testé, du CO<sub>2</sub> est produit à mesure que les germes métabolisent les substrats dans le milieu de culture. Lorsque la croissance des microorganismes produit du CO<sub>2</sub>, la couleur du détecteur perméable aux gaz installé au fond de chaque flacon de culture passe du bleu-vert au jaune.<sup>1</sup> La couleur plus claire entraîne une augmentation des unités de réflectance suivies par le système. La réflectance des flacons est contrôlée et enregistrée par l'instrument toutes les 10 minutes.

**RÉACTIFS**Pour diagnostic *in vitro*.

**MISE EN GARDE :** Manipuler les échantillons et les flacons de culture inoculés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Tous les flacons de culture inoculés, les aiguilles de prélèvement d'échantillons et les systèmes de prélèvement du sang doivent être décontaminés conformément aux procédures en vigueur dans l'établissement.<sup>2</sup>

**BacT/ALERT® FA** (code de couleur vert clair) – Les flacons de culture à usage unique BacT/ALERT FA contiennent 22 ml de milieu complexe et 8 ml d'une suspension de charbon d'une densité moyenne de 1,0155 g/ml. La composition des milieux est la suivante : hydrolysate de caséine-soja (2,0 % m/v), matières solides d'infusion de cerveau et de cœur (0,1 % m/v), polyanéthol-sulfonate de sodium (PSS) (0,05 % m/v), pyridoxine de HCl (0,001 % m/v), ménadione (0,0000725 % m/v), hémine (0,000725 % m/v), L-cystéine (0,03 % m/v) et autres acides aminés complexes et hydrates de carbone dans de l'eau purifiée. Les flacons contiennent une atmosphère de CO<sub>2</sub> dans l'oxygène, sous vide. La composition des milieux peut être ajustée pour répondre à des exigences spécifiques en termes de performances.

**MISE EN GARDE :** Les flacons de culture BacT/ALERT sont fabriqués à partir de polycarbonate. Certains désinfectants ne sont pas compatibles avec des matériaux en polycarbonate et risquent d'entraîner la détérioration du flacon. Vérifier la compatibilité du désinfectant avec le polycarbonate avant de l'utiliser sur les flacons de culture BacT/ALERT.

**MISE EN GARDE :** Il est possible que certains microorganismes rares et exigeants ne se développent pas ou se développent lentement dans le milieu du flacon de culture BacT/ALERT FA. Si des organismes rares et exigeants nécessitant des conditions de culture et des milieux spécialisés sont suspectés, il faut envisager d'autres méthodes d'isolement ou prolonger la durée d'incubation.

**MISE EN GARDE :** Il est possible que les flacons de culture BacT/ALERT FA utilisés pour des échantillons non sanguins (liquides biologiques normalement stériles) nécessitent des suppléments à base de sang ou autres, tels que du sang de cheval défibriné stérile (5 % v/v) pour permettre la croissance, notamment pour l'isolement d'organismes exigeants tels que *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* et *Neisseria gonorrhoeae*.<sup>3</sup>

**MISE EN GARDE :** Plus rarement, il est possible que des organismes se développent dans le milieu des flacons de culture BacT/ALERT FA, mais ne produisent pas suffisamment de CO<sub>2</sub> pour être déterminés positifs. La présence d'antibiotiques actifs dans un échantillon est un facteur qui peut aboutir à cette situation.

**Autre matériel nécessaire**

Systèmes de détection microbienne BacT/ALERT®  
Dispositif de prélèvement sanguin  
Aiguilles de ventilation/unités de repiquage stériles  
Gants jetables

Récipients pour déchets à risque biologique, adaptés aux matériaux potentiellement contaminés par des agents infectieux.

**Matériel disponible auprès de bioMérieux**

Capot de protection BacT/ALERT® pour prélèvement de sang

Systèmes de détection microbienne BacT/ALERT®

Aiguilles de repiquage stériles

**Conservation**

Les flacons de culture BacT/ALERT FA sont prêts à l'emploi. Conserver à température ambiante (entre 15 et 30 °C), à l'abri de la lumière directe du soleil. Une date de péremption figure sur l'étiquette de chaque flacon. Ne pas utiliser les flacons de culture après la date de péremption indiquée. Un précipité peut se former si les flacons sont soumis à une température inférieure à 15 °C. Ce précipité disparaît lorsque les flacons sont amenés à température ambiante. Porter les flacons à température ambiante avant utilisation.

**Signes d'instabilité chimique ou physique**

Avant l'emploi, vérifier l'absence de dégâts ou de signes de détérioration des flacons de culture BacT/ALERT FA (décoloration). Les flacons montrant des traces de dommage, de fuite ou de détérioration doivent être mis au rebut. Dans un flacon non agité, le milieu doit être clair, mais peut présenter une légère opalescence ou contenir une trace de précipité due à la présence de l'anticoagulant PSS. Ne pas confondre opalescence et turbidité. Ne pas utiliser de flacon contenant un milieu présentant une turbidité, un détecteur jaune ou une pression gazeuse excessive, car cela témoigne d'une possible contamination.

**APPAREILS**

Avant l'emploi, consulter le manuel d'utilisation du système de détection microbienne BacT/ALERT approprié.

**PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS**

**REMARQUE :** Les flacons de culture BacT/ALERT FA doivent être utilisés par du personnel de soins spécialement formé. La méthode de prélèvement est extrêmement importante pour les échantillons destinés à l'hémoculture. Consulter Cumitech 1C<sup>®</sup> pour la méthode de prélèvement adéquate.

**REMARQUE :** Prendre soin de ne pas contaminer l'échantillon patient lors de la préparation et l'inoculation des flacons. Il est indispensable de bien désinfecter la peau pour réduire le risque de contamination.

**REMARQUE :** Même si cela n'est pas recommandé par bioMérieux, le sang peut être prélevé directement dans les tubes de prélèvement contenant du PSS. Les tubes contenant d'autres anticoagulants ne doivent jamais être utilisés pour l'hémoculture.

**REMARQUE :** bioMérieux recommande de placer les flacons de culture inoculés dans le système de détection microbienne BacT/ALERT dès que possible après le prélèvement. Les flacons de culture inoculés dont l'entrée est différée doivent être maintenus à température ambiante jusqu'à leur chargement dans l'instrument.

**Préparation du flacon**

1. Étiqueter le flacon de culture en indiquant les informations patient. Les icônes de l'étiquette du flacon (⊕, #, ⊖) peuvent être définies par l'utilisateur.

2. Retirer la capsule en plastique du flacon de culture. Avant l'inoculation, désinfecter le septum du flacon de culture à l'aide d'un tampon imprégné d'alcool ou équivalent. Laisser sécher à l'air libre.
3. Nettoyer le site de ponction veineuse choisi selon la procédure approuvée par l'établissement.

**Procédure d'inoculation par prélèvement direct**

**REMARQUE :** Si plusieurs types de flacons d'hémoculture BacT/ALERT sont inoculés en utilisant un dispositif de prélèvement de sang à ailettes et un adaptateur de prélèvement direct, inoculer d'abord le flacon pour culture aérobie, puis celui pour culture anaérobie afin de ne pas transférer d'oxygène contenu dans la tubulure vers le flacon pour culture anaérobie.

**REMARQUE :** Surveiller attentivement le prélèvement direct à tout moment pour garantir l'obtention d'un flux suffisant et éviter le reflux du contenu du flacon dans la tubulure de l'adaptateur. En raison de la présence d'additifs chimiques dans le flacon de culture, il est important d'empêcher les reflux éventuels et les réactions indésirables qui s'ensuivent en exécutant toutes les étapes ci-dessous.

- a. Tenir le flacon de culture en position verticale (bouchon vers le haut) et plus bas que le bras du patient.
- b. Prélever le sang en utilisant un dispositif de prélèvement de sang à ailettes et le capot de protection pour prélèvement de sang BacT/ALERT en suivant la procédure approuvée par l'établissement et inoculer directement dans le flacon de culture au chevet du patient. Même si des volumes d'échantillon inférieurs peuvent être utilisés, l'isolement peut être amélioré en utilisant un volume d'échantillon proche des 10 ml recommandés. Pour éviter une surinoculation, surveiller le volume sanguin introduit dans le flacon de culture en s'aidant des repères de graduation de 5 ml sur l'étiquette du flacon.
- c. Relâcher le garrot dès que le sang commence à s'écouler dans le flacon de culture ou dans les 2 minutes suivant son application.
- d. Ne pas laisser le contenu du flacon de culture toucher le bouchon ou l'extrémité de l'aiguille lors de la procédure de prélèvement.

Un flacon de culture contaminé peut contenir une pression positive et, s'il est utilisé pour un prélèvement direct, cette pression risque d'entraîner un reflux dans la veine du patient. Il est possible que la contamination du flacon de culture ne soit pas visible à l'œil nu. Surveiller de près la procédure de prélèvement afin d'éviter tout reflux. Ne pas utiliser de flacon contenant un milieu présentant une turbidité, un détecteur jaune ou une pression gazeuse excessive, car cela témoigne d'une possible contamination.

**Procédure d'inoculation par seringue**

**REMARQUE :** Si plusieurs types de flacons d'hémoculture BacT/ALERT sont inoculés en utilisant une seringue, inoculer d'abord le flacon pour culture anaérobie, puis celui pour culture aérobie afin de ne pas transférer d'oxygène prisonnier dans la seringue

vers le flacon pour culture anaérobie. L'étiquette du flacon comporte des graduations pour faciliter l'estimation du volume d'échantillon.

- a. Effectuer la ponction veineuse et le transfert de sang vers le flacon de culture BacT/ALERT conformément aux procédures en vigueur au sein de l'établissement.

**MISE EN GARDE :** Ne jamais forcer sur le piston de seringue pendant l'inoculation car cela pourrait provoquer des éclaboussures de l'échantillon. Retirer la seringue lorsque le volume de remplissage est atteint car le vide prélèvera automatiquement plus que le maximum recommandé. Percer le bouchon du flacon verticalement afin d'éviter de relâcher le vide ; un flacon sans vide ne doit pas être inoculé.

4. Transférer immédiatement les flacons de culture inoculés au laboratoire microbiologique.

#### PROCEDURE DE TEST AVEC UN FLACON DE CULTURE BacT/ALERT FA

##### Remarques préliminaires et précautions

1. Utiliser des gants jetables et manipuler avec soin les flacons inoculés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Consulter immédiatement un médecin en cas d'ingestion de produits contaminés ou de contact avec une plaie ouverte, une lésion ou une autre écorchure cutanée.
2. Si un produit contaminé s'est répandu accidentellement, nettoyer immédiatement avec une solution d'hypochlorite de sodium à 5 % diluée au 1:10. Mettre au rebut le matériel de nettoyage en utilisant une méthode adéquate.
3. Tous les flacons de culture inoculés, les aiguilles de prélèvement d'échantillons et les systèmes de prélèvement du sang doivent être décontaminés conformément aux procédures en vigueur dans l'établissement.<sup>2</sup>
4. Ces flacons doivent être utilisés par des techniciens de laboratoire spécialement formés.

##### Remarques et précautions

1. Veiller attentivement à ne pas provoquer la contamination de l'échantillon du patient pendant la ponction veineuse et l'inoculation dans le flacon de culture car une contamination entraînerait une détermination positive de l'échantillon alors qu'aucun isolat cliniquement pertinent n'est en fait présent.
2. Les prélèvements sanguins doivent être effectués avant le début d'une antibiothérapie. Si cela s'avère impossible, prélever l'échantillon sanguin immédiatement avant l'administration de la dose suivante d'antibiotique.
3. Si des flacons de culture inoculés n'ont pas été immédiatement réceptionnés par le laboratoire ou ont été incubés avant d'être chargés dans l'instrument BacT/ALERT, les inspecter pour rechercher des signes de croissance microbienne. Si une croissance microbienne est décelée, considérer que les flacons sont positifs et ne pas les charger dans le système de détection microbienne BacT/ALERT pour le suivi.

##### Procédure de laboratoire

**MISE EN GARDE :** Des précautions s'imposent lors du repiquage des flacons de culture positifs car ceux-ci peuvent présenter un trop-plein ou contenir des organismes dégageant une quantité importante de gaz. Le contenu des flacons de culture positifs peut être soumis à une pression interne accrue. Ventiler temporairement les flacons de culture positifs avant la coloration ou l'élimination pour libérer le gaz produit par le métabolisme microbien.

1. Inspecter visuellement les flacons avant de les tester. Ne pas utiliser des flacons présentant des traces d'endommagement, de fuite ou de détérioration. Considérer les flacons qui présentent une hémolyse, une turbidité, une pression gazeuse excessive, des détecteurs jaunes et/ou des signes de croissance comme positifs. Étaler et repiquer. Ne pas incuber, sauf si l'étalement est négatif.
2. bioMérieux recommande fortement que tous les flacons soient scannés avant de les charger dans l'instrument BacT/ALERT. Scanner le code-barres du flacon garantit que l'algorithme utilisé avec chaque flacon est correct.
3. Lorsque les flacons de culture ont été chargés dans l'instrument, incuber pendant cinq à sept jours, ou jusqu'à ce qu'ils aient été déterminés positifs.
4. Étaler et repiquer tous les flacons positifs. Si l'étalement est négatif, ce qui indique la possibilité d'un faux positif, recharger le flacon dans l'instrument jusqu'à l'obtention d'une croissance du repiquage ou un reclassement déterminé positif. Étaler et repiquer les flacons initialement déterminés faux positifs, puis reclassés positifs.
5. Les flacons négatifs peuvent être vérifiés par étalement et/ou repiquage avant d'être éliminés en tant que flacons négatifs.
6. Les procédures de chargement et de déchargement des flacons de culture dans le système BacT/ALERT sont décrites dans le manuel d'utilisation.
7. Ne pas réutiliser les flacons de culture BacT/ALERT. Éliminer les flacons de culture BacT/ALERT inoculés conformément au protocole du laboratoire. L'autoclavage et/ou l'incinération des flacons BacT/ALERT inoculés est adéquat.<sup>2</sup>
8. L'utilisation de dispositifs de carottage (c'est-à-dire d'une aiguille à embout arrondi) pour percer le bouchon peut provoquer une fuite du flacon.

##### CONTRÔLE QUALITÉ

Un certificat de conformité est disponible pour chaque lot de flacons de culture. S'il le souhaite, le laboratoire peut effectuer un test de contrôle de qualité des flacons de culture BacT/ALERT FA. Consulter le manuel d'utilisation de BacT/ALERT et le document M22-A3 du CLSI®.<sup>6</sup>

##### Instrument

Un coffret d'étalons de réflectance BacT/ALERT est fourni avec chaque instrument pour les procédures de CQ et d'étalonnage. Tout contrôle de qualité doit s'inscrire dans le cadre d'une maintenance normale du système. Consulter le manuel d'utilisation de l'instrument BacT/ALERT pour plus d'informations.

## RÉSULTATS

La positivité ou négativité des flacons de culture est déterminée par un logiciel de prise de décision intégré au système de détection microbienne BacT/ALERT. Aucune intervention n'est requise jusqu'à ce que l'instrument BacT/ALERT signale un flacon de culture positif ou négatif.

## LIMITES DU TEST

En pratique, les nombreux paramètres variables intervenant dans les tests d'hémoculture ne permettent pas d'affirmer avec certitude que les résultats obtenus sont dus uniquement aux qualités propres d'un milieu de culture ou d'un système de détection.

1. Un volume d'échantillon de 10 ml est recommandé. Les volumes supérieurs à 10 ml n'assurent pas un rapport optimal entre sang et milieu.
2. Il est possible que des prélèvements cliniques déterminés positifs avec BacT/ALERT contiennent des organismes positifs à l'étalement qui ne se développent pas sur des milieux de repiquage de routine. Si tel est le cas, les échantillons doivent être repiqués sur des milieux spécifiques. De même, il est possible que des échantillons positifs avec BacT/ALERT contiennent des organismes qui ne sont pas détectés par des méthodes d'étalement de routine et nécessitent des étalements et des milieux de repiquage spécifiques pour la détection et l'isolement.
3. La présence du charbon actif apparaît sous la forme d'un précipité noir sur l'étalement, dont l'interprétation peut être difficile dans un premier temps. L'expérience rend l'interprétation plus facile.
4. Certaines souches de *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae* et *Peptostreptococcus anaerobius* peuvent être

sensibles à l'anticoagulant PSS, avec pour conséquence une moindre croissance ou une faible production de CO<sub>2</sub> par ces souches si la quantité de sang inoculée dans les flacons de culture est insuffisante.

5. Plus rarement, en présence d'un nombre très élevé de leucocytes dans l'échantillon, le BacT/ALERT peut entraîner un flacon de culture positif. Dans ce cas, les résultats de repiquage et d'étalement peuvent être négatifs.
6. Les organismes sont souvent peu nombreux et peuvent apparaître par intermittence dans le sang. Il convient par conséquent d'effectuer plusieurs prélèvements de sang consécutifs par patient.
7. Retirer rapidement les flacons de culture positifs dès qu'ils sont signalés par BacT/ALERT pour ne pas risquer d'obtenir des cultures non viables par autolyse ou pour d'autres raisons. Certaines souches de *Streptococcus pneumoniae* peuvent être particulièrement sujettes à l'autolyse si les flacons ne sont pas déchargés rapidement après avoir été signalés positifs.
8. Il arrive qu'un étalement à partir d'un flacon négatif soumis à la coloration de Gram contienne un petit nombre de microorganismes non viables dérivés des composants du milieu de culture, des colorants utilisés, de l'huile d'immersion ou des lames de verre. Les résultats sont donc des faux positifs dans ce cas.
9. Un algorithme par défaut est attribué à des flacons chargés anonymement. Dans certains cas, selon le type de flacon, cet algorithme par défaut n'est pas approprié au type de flacon. L'utilisation d'un algorithme incorrect pourrait aboutir à un résultat faux positif. Par conséquent, il est important de scanner chaque flacon avec le code-barres approprié au flacon.

## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES DU TEST

Des études internes d'ensemencement ont été effectuées en utilisant les organismes suivants à des concentrations ≤ 10 UFC/flacon et ≤ 100 UFC/flacon et du sang humain prélevé chez des donneurs adultes sains.

Microorganisme	Inoculum (UFC/flacon)	Temps de détection (heures) <sup>a</sup> BacT/ALERT FA (Plastique)
<b>Gram-positifs</b>		
( <i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>Streptococcus</i> du groupe C, <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. sanguis</i> )	≤ 100	13,3 – 35,1
	≤ 10	14,4 – 61,2
<b>Gram-négatifs</b>		
( <i>E. coli</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. maltophilia</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>A. faecalis</i> , <i>K. pneumoniae</i> )	≤ 100	10,8 – 35,2
	≤ 10	12,0 – 43,9
<b>Levure</b>		
( <i>C. albicans</i> , <i>T. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i> )	≤ 100	17,3 – 74,4
	≤ 10	20,9 – 82,8

<sup>a</sup> Chaque germe a été testé en triplicate et les moyennes ont été calculées. Les valeurs indiquées correspondent à une plage de ces moyennes.

REMARQUE : La liste des germes rares et exigeants isolés avec les flacons de culture BacT/ALERT est disponible sur demande auprès de bioMérieux.<sup>7</sup>

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *J Clin Micro* 1990;28(7),1608-1612.
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
3. Koneman, E. et al., *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. 2006, pgs. 446,590.
4. CLSI. *Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline*. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
5. Baron, E. J., M. P. Weinstein, W. M. Dunne, Jr., P. Yagupsky, D. F. Welch, and D. M. Wilson. 2005. *Cumitech 1C, Blood Cultures IV*. Coordinating ed. E. J. Baron. ASM Press, Washington, D. C.
6. CLSI/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard—Third Edition*. CLSI/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.
7. Rare Organism Club, bioMérieux, Inc.

## CONDITIONNEMENT

bioMérieux








BacT/ALERT® FA

100 par boîte

**REF** 259791

Pour toute assistance technique aux États-Unis, contacter le Service clientèle de bioMérieux au 1-800-682-2666. En dehors des États-Unis, contacter un représentant local de bioMérieux.

## TABLEAU DES SYMBOLES

Symbole	Signification
<b>REF</b>	Référence dans le catalogue
	Fabricant
	Limites de température
	Date limite d'utilisation
<b>LOT</b>	N° de lot
	Consulter le mode d'emploi
	Contenu suffisant pour <n> tests
<b>ECREP</b>	Mandataire dans la Communauté européenne
	Ne pas réutiliser
	Sans latex
<b>IVD</b>	Dispositif médical de diagnostic in vitro

Notice fournie dans le coffret ou téléchargeable sur [www.biomerieux.com/techlib](http://www.biomerieux.com/techlib)

bioMérieux, le logo bleu et BacT/ALERT sont des marques de commerce utilisées, en attente d'homologation et/ou déposées de bioMérieux, de l'une de ses filiales ou de l'une de ses entreprises.

CLSI est une marque déposée de Clinical Laboratory and Standards Institute.

©BIOMÉRIEUX 2000, 2002, 2003, 2007, 2008, 2010, 2012




**bioMérieux, Inc.**  
100 Rodolphe Street  
Durham, North Carolina 27712 USA  
[www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com)



**bioMérieux SA**  
Chemin de l'Orme  
69280 Marcy-l'Étoile - France  
RCS LYON 673 620 399  
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00  
Fax 33 (0)4 78 87 20 90

REF 259793

9300222 A - 2010/10 **BacT/ALERT® FN****IVD****SECTION MISE À JOUR**

Se reporter au glossaire des symboles en fin de notice.

**APPLICATION**

Les flacons de culture BacT/ALERT® FN s'utilisent avec le système de détection microbienne BacT/ALERT® dans le cadre de procédures qualitatives améliorées de détection et d'isolement de microorganismes anaérobies dans le sang et d'autres liquides biologiques normalement stériles.

**RÉSUMÉ ET EXPLICATION**

Le système de détection microbienne BacT/ALERT permet de déceler la présence de microorganismes dans des échantillons de sang, ou d'autres liquides biologiques normalement stériles, prélevés sur des patients suspectés de présenter une bactériémie. Le système et les flacons de culture BacT/ALERT associent un système de détection microbienne à un milieu de culture qui offrent des conditions nutritionnelles et environnementales optimales aux organismes habituellement rencontrés en cas d'infection du sang ou d'autres liquides biologiques normalement stériles. Le flacon inoculé est placé dans l'instrument où il est incubé et suivi en continu pour y détecter la présence de microorganismes qui se développeront dans les flacons BacT/ALERT FN.

**PRINCIPE DU TEST**

Le système de détection microbienne BacT/ALERT repose sur un détecteur colorimétrique et la lumière réfléchiée pour suivre la présence et la quantité de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) dissoute dans le milieu de culture. Si des microorganismes sont présents dans l'échantillon testé, du dioxyde de carbone est produit à mesure que les organismes métabolisent les substrats dans le milieu de culture. Lorsque la croissance des microorganismes produit du CO<sub>2</sub>, la couleur du détecteur perméable aux gaz installé au fond de chaque flacon de culture passe du bleu-vert au jaune.<sup>1</sup> La couleur plus claire entraîne une augmentation des unités de réflectance contrôlées par le système. La réflectance des flacons est contrôlée et enregistrée par l'instrument toutes les 10 minutes.

**RÉACTIFS**Réservé au diagnostic *in vitro*.

**ATTENTION :** Manipuler les échantillons et les flacons de culture inoculés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Tous les flacons de culture inoculés, les aiguilles de prélèvement d'échantillons et les systèmes de prélèvement du sang doivent être décontaminés conformément aux procédures en vigueur dans l'établissement.<sup>2</sup>

BacT/ALERT® FN (code de couleur orange) – Les flacons de culture à usage unique BacT/ALERT FN contiennent 32 ml de milieu complexe et 8 ml d'une suspension de charbon d'une densité moyenne de

1,0215 g/ml. La composition des milieux est la suivante : hydrolysate de caséine-soja (2,0 % m/v), matières solides d'infusion de cerveau et de cœur (0,1 % m/v), polyanéthol-sulfonate de sodium (PSS) (0,044 % m/v), pyridoxine de HCl (0,001 % m/v), ménadione (0,0000625 % m/v), hémine (0,000625 % m/v), L-cystéine (0,025 % m/v) et autres acides aminés complexes et hydrates de carbone dans de l'eau purifiée. Les flacons abritent une atmosphère d'azote, sous vide. La composition des milieux peut être ajustée pour répondre à des exigences spécifiques en termes de performances.

**ATTENTION :** Les flacons de culture BacT/ALERT sont fabriqués à partir de polycarbonate. Certains désinfectants ne sont pas compatibles avec des surfaces qui contiennent du polycarbonate et risquent d'entraîner la détérioration du flacon. Vérifier la compatibilité du désinfectant avec le polycarbonate avant de l'utiliser sur les surfaces des flacons de culture BacT/ALERT.

**ATTENTION :** Il est possible que certains microorganismes rares et exigeants ne se développent pas ou se développent lentement dans le milieu du flacon de culture BacT/ALERT FN. Si des organismes rares et exigeants nécessitant des conditions de culture et des milieux spécialisés sont suspectés, il faut envisager d'autres méthodes d'isolement ou prolonger la durée d'incubation.

**ATTENTION :** Il est possible que les flacons de culture BacT/ALERT FN utilisés pour des échantillons non sanguins (liquides biologiques normalement stériles) nécessitent des suppléments à base de sang ou autres, tels que du sang de cheval défibriné stérile (5 % v/v) pour permettre la croissance.<sup>3</sup>

**ATTENTION :** Plus rarement, il est possible que des organismes se développent dans le milieu des flacons de culture BacT/ALERT FN, mais ne produisent pas suffisamment de dioxyde de carbone pour être déterminés positifs. La présence d'antibiotiques actifs dans un échantillon est un facteur qui peut aboutir à cette situation.

**Autre matériel nécessaire**

Systèmes de détection microbienne BacT/ALERT®  
Dispositif de prélèvement sanguin  
Aiguilles de ventilation/unités de repiquage stériles  
Gants jetables  
Récipients pour déchets à risque biologique, adaptés aux matériaux potentiellement contaminés par des agents infectieux

**Matériel disponible auprès de bioMérieux**

Adaptateur BacT/ALERT® pour prélèvement de sang  
Systèmes de détection microbienne BacT/ALERT®  
Aiguilles de ventilation/unités de repiquage stériles

### Conservation

Les flacons de culture BacT/ALERT FN sont prêts à l'emploi. Conserver à température ambiante (entre 15 et 30 °C), à l'abri de la lumière directe du soleil. Une date de péremption figure sur l'étiquette de chaque flacon. Ne pas utiliser les flacons de culture après le dernier jour du mois indiqué. Un précipité peut se former si les flacons sont soumis à une température inférieure à 15 °C. Ce précipité disparaît lorsque les flacons sont amenés à température ambiante. Porter les flacons à température ambiante avant utilisation.

### Signes d'instabilité chimique ou physique

Avant l'emploi, vérifier l'absence de dégâts ou de signes de détérioration des flacons de culture BacT/ALERT FN (décoloration). Les flacons montrant des traces de dommage, de fuite ou de détérioration doivent être mis au rebut. Dans un flacon non agité, le milieu doit être clair, mais peut présenter une légère opalescence ou contenir une trace de précipité due à la présence de l'anticoagulant PSS. Ne pas confondre opalescence et turbidité. Ne pas utiliser de flacon contenant un milieu présentant un trouble, un détecteur jaune ou une pression gazeuse excessive, car cela témoigne d'une possible contamination.

### APPAREILS

Avant l'emploi, consulter le manuel d'utilisation du système de détection microbienne BacT/ALERT approprié.

### PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

**REMARQUE :** Les flacons de culture BacT/ALERT FN doivent être utilisés par du personnel de soins spécialement formé. La méthode de prélèvement est extrêmement importante pour les échantillons destinés à l'hémoculture. Consulter Cumitech 1C<sup>5</sup> pour la méthode de prélèvement adéquate.

**REMARQUE :** Prendre soin de ne pas contaminer l'échantillon patient lors de la préparation et l'inoculation des flacons. Il est indispensable de bien désinfecter la peau pour réduire le risque de contamination.

**REMARQUE :** Même si cela n'est pas recommandé par bioMérieux, le sang peut être prélevé directement dans les tubes de prélèvement contenant du PSS. Les tubes contenant d'autres anticoagulants ne doivent jamais être utilisés pour l'hémoculture.

**REMARQUE :** bioMérieux recommande de placer les flacons de culture inoculés dans le système de détection microbienne BacT/ALERT dès que possible après le prélèvement. Les flacons de culture inoculés dont l'entrée est différée doivent être maintenus à température ambiante jusqu'à leur chargement dans l'instrument.

### Préparation du flacon

1. Étiqueter le flacon de culture en indiquant les informations patient. Les icônes de l'étiquette du flacon (⊕, #, ⊖) peuvent être définies par l'utilisateur.
2. Retirer la capsule en plastique du flacon de culture. Avant l'inoculation, désinfecter le capuchon du flacon de culture à l'aide d'un tampon imprégné d'alcool ou équivalent. Laisser sécher à l'air libre.

3. Nettoyer le site de ponction veineuse choisi selon la procédure approuvée par l'établissement.

### Procédure d'inoculation par prélèvement direct

**REMARQUE :** Si l'opérateur inocule plusieurs types de flacons d'hémoculture BacT/ALERT en utilisant un dispositif de prélèvement de sang à ailettes et un adaptateur de prélèvement direct, il doit inoculer d'abord le flacon pour culture aérobie, puis celui pour culture anaérobie afin de ne pas transférer d'oxygène prisonnier dans la tubulure vers le flacon pour culture anaérobie.

**REMARQUE :** Surveiller attentivement le prélèvement direct à tout moment pour garantir l'obtention d'un flux suffisant et éviter le passage du contenu du flacon dans la tubulure de l'adaptateur. En raison de la présence d'additifs chimiques dans le flacon de culture, il est important d'empêcher les reflux éventuels et les réactions indésirables qui s'ensuivent en exécutant toutes les étapes ci-dessous.

- a. Tenir le flacon de culture en position verticale (bouchon vers le haut) et plus bas que le bras du patient.
- b. Prélever le sang en utilisant un dispositif de prélèvement de sang à ailettes et l'adaptateur pour prélèvement de sang BacT/ALERT en suivant la procédure approuvée par l'établissement et inoculer directement dans le flacon de culture au chevet du patient. Même si des volumes d'échantillon inférieurs peuvent être utilisés, l'isolement est susceptible d'être amélioré en utilisant un volume d'échantillon proche des 10 ml recommandés. Pour éviter une surinoculation, surveiller le volume sanguin introduit dans le flacon de culture en s'aidant des repères de graduation de 5 ml sur l'étiquette du flacon.
- c. Relâcher le garrot dès que le sang commence à s'écouler dans le flacon de culture ou dans les 2 minutes suivant son application.
- d. Ne pas laisser le contenu du flacon de culture toucher le bouchon ou l'extrémité de l'aiguille lors de la procédure de prélèvement.

Un flacon de culture contaminé pourrait contenir une pression positive et, s'il est utilisé pour un prélèvement direct, provoquer un reflux dans la veine du patient. La contamination du flacon de culture n'est pas aisément visible. Surveiller le prélèvement direct avec attention pour éviter un reflux. Ne pas utiliser de flacon contenant un milieu présentant un trouble, un détecteur jaune ou une pression gazeuse excessive, car cela témoigne d'une possible contamination.

### Procédure d'inoculation par seringue

**REMARQUE :** Si l'opérateur inocule plusieurs types de flacons d'hémoculture BacT/ALERT en utilisant une seringue, il doit d'abord inoculer le flacon pour culture anaérobie, puis celui pour culture aérobie afin de ne pas transférer d'oxygène prisonnier dans la seringue vers le flacon pour culture anaérobie. L'étiquette du flacon comporte des graduations pour faciliter l'estimation du volume d'échantillon.

- a. Effectuer la ponction veineuse et le transfert de sang vers le flacon de culture BacT/ALERT conformément aux procédures en vigueur au sein de l'établissement.
4. Transférer immédiatement les flacons de culture inoculés au laboratoire microbiologique.

#### PROCÉDURE DE TEST AVEC UN FLACON DE CULTURE BacT/ALERT FN

##### Remarques préliminaires et précautions

1. Utiliser des gants jetables et manipuler avec soin les flacons inoculés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Consulter immédiatement un médecin en cas d'ingestion de produits contaminés ou de contact avec une plaie ouverte, une lésion ou une autre écorchure cutanée.
2. Si un produit contaminé s'est répandu accidentellement, nettoyer immédiatement avec une solution d'hypochlorite de sodium à 5 % diluée à 1:10. Mettre au rebut le matériel de nettoyage en utilisant une méthode adéquate.
3. Tous les flacons de culture inoculés, les aiguilles de prélèvement d'échantillons et les systèmes de prélèvement du sang doivent être décontaminés conformément aux procédures en vigueur dans l'établissement.<sup>2</sup>
4. Ces flacons doivent être utilisés par des techniciens de laboratoire spécialement formés.

##### Remarques et précautions

1. Veiller attentivement à ne pas provoquer la contamination de l'échantillon du patient pendant la ponction veineuse et l'inoculation dans le flacon de culture car une contamination entraînerait une détermination positive de l'échantillon alors qu'aucun isolat cliniquement pertinent n'est en fait présent.
2. Les prélèvements sanguins doivent être effectués avant le début d'une antibiothérapie. Si cela s'avère impossible, prélever l'échantillon sanguin immédiatement avant l'administration de la dose suivante d'antibiotique.
3. Si des flacons de culture inoculés n'ont pas été immédiatement réceptionnés par le laboratoire ou ont été incubés avant d'être chargés dans l'instrument BacT/ALERT, les inspecter pour rechercher des signes de croissance microbienne. Si une croissance microbienne est décelée, considérer que les flacons sont positifs et ne pas les charger dans le système de détection microbienne BacT/ALERT pour le suivi.

##### Procédure de laboratoire

**ATTENTION :** Des précautions s'imposent lors du repiquage des flacons de culture positifs car ceux-ci peuvent présenter un trop-plein ou contenir des organismes dégagant une quantité importante de gaz. Le contenu des flacons de culture positifs peut être soumis à une pression interne accrue. Ventiler temporairement les flacons de culture positifs avant la coloration ou l'élimination pour libérer le gaz produit par le métabolisme microbien.

1. Inspecter visuellement les flacons avant de les tester. Ne pas utiliser des flacons présentant des traces d'endommagement, de fuite ou de détérioration. Considérer positifs les flacons qui présentent une

hémolyse, un trouble, une pression gazeuse excessive, des détecteurs jaunes et/ou des signes de croissance. Étaler et repiquer. Ne pas incuber, sauf si l'étalement est négatif.

2. Lorsque les flacons de culture ont été chargés dans l'instrument, incubé pendant cinq à sept jours, ou jusqu'à ce qu'ils aient été déterminés positifs.
3. Étaler et repiquer tous les flacons positifs. Si l'étalement est négatif, ce qui indique la possibilité d'un faux positif, recharger le flacon dans l'instrument jusqu'à l'obtention d'une croissance du repiquage ou un reclassement en tant que positif. Étaler et repiquer les cultures initialement déterminées fausses positives puis reclassées positives.
4. Les cultures négatives peuvent être vérifiées par étalement et/ou repiquage avant leur élimination comme cultures négatives.
5. Les procédures de chargement et de déchargement des flacons de culture dans l'instrument BacT/ALERT sont décrites dans le manuel d'utilisation.
6. **Ne pas réutiliser les flacons de culture BacT/ALERT.** Éliminer les flacons de culture BacT/ALERT inoculés conformément au protocole du laboratoire. L'autoclavage et/ou l'incinération des flacons BacT/ALERT inoculés est adéquat.<sup>2</sup>
7. L'utilisation de dispositifs de carottage (c'est-à-dire d'une aiguille à embout arrondi) pour percer le bouchon peut provoquer une fuite du flacon.

#### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Un certificat de conformité est fourni avec chaque boîte de flacons de culture. S'il le souhaite, le laboratoire peut effectuer un test de contrôle de qualité des flacons de culture BacT/ALERT FN. Consulter le manuel d'utilisation de BacT/ALERT et le document M22-A3 du CLSI®.<sup>6</sup>

#### Instrument

Un coffret d'étalons de réflectance BacT/ALERT est fourni avec chaque instrument pour les procédures de CQ et d'étalonnage. Tout contrôle de qualité doit s'inscrire dans le cadre d'une maintenance normale du système. Consulter le manuel d'utilisation de l'instrument BacT/ALERT pour plus d'informations.

#### RÉSULTATS

La positivité ou négativité des flacons de culture est déterminée par un logiciel de prise de décision intégré au système de détection microbienne BacT/ALERT. Aucune intervention n'est requise jusqu'à ce que l'instrument BacT/ALERT signale un flacon de culture positif ou négatif.

#### LIMITES DU TEST

En pratique, les nombreux paramètres intervenant dans les tests d'hémoculture et de culture d'autres liquides biologiques normalement stériles ne permettent pas d'affirmer avec certitude que les résultats obtenus sont dus uniquement aux qualités propres d'un milieu de culture ou d'un système de détection.

1. Un volume d'échantillon de 10 ml est recommandé. Les volumes supérieurs à 10 ml n'assurent pas un rapport optimal entre sang et milieu.

- Il est possible que des échantillons patient déterminés positifs avec BacT/ALERT contiennent des organismes positifs à l'étalement qui ne se développent pas sur des milieux de repiquage de routine. Si tel est le cas, les échantillons doivent être repiqués sur des milieux spécifiques. De même, il est possible que des échantillons positifs avec BacT/ALERT contiennent des organismes qui ne sont pas détectés par des méthodes d'étalement de routine et nécessitent des étalements et des milieux de repiquage spécifiques pour la détection et l'isolement.
- La présence du charbon actif apparaît sous la forme d'un précipité noir sur l'étalement, dont l'interprétation peut être difficile dans un premier temps. L'expérience rend l'interprétation plus facile.
- Certaines souches de *Peptostreptococcus anaerobius* peuvent être sensibles à l'anticoagulant PSS, avec pour conséquence une moindre croissance ou une faible production de CO<sub>2</sub> par ces souches si la quantité de sang inoculé dans les flacons de culture est insuffisante.
- Plus rarement, en présence d'un nombre très élevé de leucocytes dans l'échantillon sanguin, le BacT/ALERT peut entraîner un flacon de culture positif. Dans ce cas, les résultats de repiquage et d'étalement peuvent être négatifs.
- Les organismes sont souvent peu nombreux et peuvent apparaître par intermittence dans le sang. Il convient par conséquent d'effectuer plusieurs prélèvements de sang consécutifs par patient.
- Retirer rapidement les flacons de culture positifs dès qu'ils sont signalés par BacT/ALERT pour ne pas risquer d'obtenir des cultures non viables par autolyse ou pour d'autres raisons. Certaines souches de *Streptococcus pneumoniae* peuvent être particulièrement sujettes à l'autolyse si les flacons ne sont pas déchargés rapidement après avoir été signalés positifs.
- Il arrive qu'un étalement à partir d'un flacon négatif soumis à la coloration de Gram contienne un petit nombre d'organismes non viables dérivés des composants du milieu de culture, des colorants utilisés, de l'huile d'immersion ou des lames de verre. Les résultats sont donc des faux positifs dans ce cas.

#### CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES DU TEST

Des études internes d'ensemencement ont été effectuées en utilisant les organismes suivants à des concentrations  $\leq 10$  UFC/flacon et  $\leq 100$  UFC/flacon et du sang humain prélevé chez des donneurs adultes sains.

Microorganisme	Inoculum (UFC/flacon)	Temps de détection (heures) <sup>a</sup> BacT/ALERT FN (Plastique)
<b>Anaérobies Gram-positifs</b> ( <i>C. perfringens</i> , <i>P. asaccharolyticus</i> , <i>P. micros</i> )	$\leq 100$ $\leq 10$	11,2 - 44,1 12,3 - 47,2
<b>Anaérobies Gram-négatifs</b> ( <i>F. nucleatum</i> , <i>B. fragilis</i> , <i>B. vulgatus</i> )	$\leq 100$ $\leq 10$	29,4 - 45,1 35,0 - 47,0
<b>Anaérobies facultatifs Gram-positifs</b> ( <i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> )	$\leq 100$ $\leq 10$	15,5 - 16,7 17,2 - 17,8
<b>Anaérobies facultatifs Gram-négatifs</b> ( <i>E. coli</i> )	$\leq 100$ $\leq 10$	11,3 12,8

<sup>a</sup> Chaque germe a été testé en triplicate et les moyennes ont été calculées. Les valeurs indiquées correspondent à une plage de ces moyennes, à l'exception de *E. coli*, qui était le seul organisme facultatif Gram-négatif testé.

**REMARQUE :** La liste des germes rares et exigeants isolés avec les flacons de culture BacT/ALERT est disponible sur demande auprès de bioMérieux.<sup>7</sup>

REF 259794

9300223 A - 2010/10 **FR****BacT/ALERT® PF****IVD****SECTION MISE À JOUR**

Se reporter au glossaire des symboles en fin de notice.

**APPLICATION**

Les flacons de culture BacT/ALERT® PF s'utilisent avec le système de détection microbienne BacT/ALERT® dans le cadre de procédures qualitatives améliorées pour la détection et l'isolement de microorganismes anaérobies facultatifs et aérobies (bactéries et levures) à partir du sang.

**RÉSUMÉ ET EXPLICATION**

Le système de détection microbienne BacT/ALERT sert à tester la présence de microorganismes dans le sang prélevé sur un patient suspecté de présenter une bactériémie ou une fongémie. Le système et les flacons de culture BacT/ALERT associent un système de détection microbienne à un milieu de culture qui offrent des conditions nutritionnelles et environnementales adaptées aux organismes habituellement rencontrés en cas d'infections du sang. Le flacon de culture BacT/ALERT PF a été mis au point pour fournir une méthode de détection rapide et sensible des microorganismes lorsque le volume de sang disponible est minime. Le flacon inoculé est placé dans l'instrument où il est incubé et suivi en continu pour y détecter la présence de microorganismes qui se développeront dans le flacon BacT/ALERT PF.

**PRINCIPE DU TEST**

Le système de détection microbienne BacT/ALERT repose sur un détecteur colorimétrique et la lumière réfléchiée pour suivre la présence et la quantité de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) dissoute dans le milieu de culture. Si des microorganismes sont présents dans l'échantillon testé, du dioxyde de carbone est produit à mesure que les organismes métabolisent les substrats dans le milieu de culture. Lorsque la croissance des microorganismes produit du CO<sub>2</sub>, la couleur du détecteur perméable aux gaz installé au fond de chaque flacon de culture passe du bleu-vert au jaune.<sup>1</sup> La couleur plus claire entraîne une augmentation des unités de réflectance contrôlées par le système. La réflectance des flacons est contrôlée et enregistrée par l'instrument toutes les 10 minutes.

**RÉACTIFS**Réservé au diagnostic *in vitro*.

**ATTENTION :** Manipuler les échantillons et les flacons de culture inoculés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Tous les flacons de culture inoculés, les aiguilles de prélèvement d'échantillons et les systèmes de prélèvement du sang doivent être décontaminés conformément aux procédures en vigueur dans l'établissement.<sup>2</sup>

**BacT/ALERT® PF** (code de couleur jaune) – Les flacons de culture à usage unique BacT/ALERT PF contiennent 16 ml de milieu complexe et 4 ml d'une suspension de charbon d'une densité moyenne de 1,0215 g/ml. La composition des milieux est la suivante : hydrolysat de caséine-soja (2,0 % m/v), matières solides d'infusion de cerveau et de cœur (0,1 % m/v), polyanéthol-sulfonate de sodium (PSS) (0,025 % m/v), pyridoxine de HCl (0,001 % m/v), ménadione (0,0000625 % m/v), hémine (0,000625 % m/v), L-cystéine (0,025 % m/v) et autres acides aminés complexes et hydrates de carbone dans de l'eau purifiée. Les flacons abritent une atmosphère de CO<sub>2</sub> dans l'oxygène et l'azote, sous vide. La composition des milieux peut être ajustée pour répondre à des exigences spécifiques en termes de performances.

**ATTENTION :** Les flacons de culture BacT/ALERT sont fabriqués à partir de polycarbonate. Certains désinfectants ne sont pas compatibles avec des surfaces qui contiennent du polycarbonate et risquent d'entraîner la détérioration du flacon. Vérifier la compatibilité du désinfectant avec le polycarbonate avant de l'utiliser sur les surfaces des flacons de culture BacT/ALERT.

**ATTENTION :** Il est possible que certains microorganismes rares et exigeants ne se développent pas ou se développent lentement dans le milieu du flacon de culture BacT/ALERT PF. Si des organismes rares et exigeants nécessitant des conditions et des milieux spécialisés sont suspectés, il faut envisager d'autres méthodes d'isolement ou prolonger la durée d'incubation.

**ATTENTION :** Plus rarement, il est possible que des organismes se développent dans le milieu des flacons de culture BacT/ALERT PF, mais ne produisent pas suffisamment de dioxyde de carbone pour être déterminés positifs. La présence d'antibiotiques actifs dans un échantillon est un facteur qui peut aboutir à cette situation.

**Autre matériel nécessaire**

Systèmes de détection microbienne BacT/ALERT®  
Dispositif de prélèvement sanguin  
Aiguilles de ventilation/unités de repiquage stériles  
Gants jetables  
Récipients pour déchets à risque biologique, adaptés aux matériaux potentiellement contaminés par des agents infectieux

**Matériel disponible auprès de bioMérieux**

Adaptateur BacT/ALERT® pour prélèvement de sang  
Systèmes de détection microbienne BacT/ALERT®  
Aiguilles de ventilation/unités de repiquage stériles

**Conservation**

Les flacons de culture BacT/ALERT sont prêts à l'emploi. Conserver à température ambiante (entre 15 et 30 °C), à l'abri de la lumière directe du soleil. Une date de péremption figure sur l'étiquette de chaque flacon. Ne pas utiliser les flacons de culture après le dernier jour du mois indiqué. Un précipité peut se former si les flacons sont soumis à une température inférieure à 15 °C. Ce précipité disparaît lorsque les flacons sont amenés à température ambiante. Porter les flacons à température ambiante avant utilisation.

**Signes d'instabilité chimique ou physique**

Avant l'emploi, vérifier l'absence de dégâts ou de signes de détérioration des flacons de culture BacT/ALERT (décoloration). Les flacons montrant des traces de dommage, de fuite ou de détérioration doivent être mis au rebut. Dans un flacon non agité, le milieu doit être clair, mais peut présenter une légère opalescence ou contenir une trace de précipité due à la présence de l'anticoagulant PSS. Ne pas confondre opalescence et turbidité. Ne pas utiliser de flacon contenant un milieu présentant un trouble, un détecteur jaune ou une pression gazeuse excessive, car cela témoigne d'une possible contamination.

**APPAREILS**

Avant l'emploi, consulter le manuel d'utilisation du système de détection microbienne BacT/ALERT approprié.

**PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS**

**REMARQUE :** Les flacons de culture BacT/ALERT PF doivent être utilisés par du personnel de soins spécialement formé. La méthode de prélèvement est extrêmement importante pour les échantillons destinés à l'hémoculture. Consulter Cumitech 1C<sup>5</sup> pour la méthode de prélèvement adéquate.

**REMARQUE :** Prendre soin de ne pas contaminer l'échantillon patient lors de la préparation et l'inoculation des flacons. Il est indispensable de bien désinfecter la peau pour réduire le risque de contamination.

**REMARQUE :** Même si cela n'est pas recommandé par bioMérieux, le sang peut être prélevé directement dans les tubes de prélèvement contenant du PSS. Les tubes contenant d'autres anticoagulants ne doivent jamais être utilisés pour l'hémoculture.

**REMARQUE :** bioMérieux recommande de placer les flacons de culture inoculés dans le système de détection microbienne BacT/ALERT dès que possible après le prélèvement. Les flacons de culture inoculés dont l'entrée est différée doivent être maintenus à température ambiante jusqu'à leur chargement dans l'instrument.

**Préparation du flacon**

1. Étiqueter le flacon de culture en indiquant les informations patient. Les icônes de l'étiquette du flacon (©, #, ⊙) peuvent être définies par l'utilisateur.
2. Retirer la capsule en plastique du flacon de culture. Avant l'inoculation, désinfecter le capuchon du flacon de culture à l'aide d'un tampon imprégné d'alcool ou équivalent. Laisser sécher à l'air libre.

3. Nettoyer le site de ponction veineuse choisi selon la procédure approuvée par l'établissement.

**Procédure d'inoculation par prélèvement direct**

**REMARQUE :** Si l'opérateur inocule plusieurs types de flacons d'hémoculture BacT/ALERT en utilisant un dispositif de prélèvement de sang à ailettes et un adaptateur de prélèvement direct, il doit inoculer d'abord le flacon pour culture aérobie, puis celui pour culture anaérobie afin de ne pas transférer d'oxygène prisonnier dans la tubulure vers le flacon pour culture anaérobie.

**REMARQUE :** Surveiller attentivement le prélèvement direct à tout moment pour garantir l'obtention d'un flux suffisant et éviter le passage du contenu du flacon dans la tubulure de l'adaptateur. En raison de la présence d'additifs chimiques dans le flacon de culture, il est important d'empêcher les reflux éventuels et les réactions indésirables qui s'ensuivent en exécutant toutes les étapes ci-dessous.

- a. Tenir le flacon de culture en position verticale (bouchon vers le haut) et plus bas que le bras du patient.
- b. Prélever le sang en utilisant un dispositif de prélèvement de sang à ailettes et l'adaptateur pour prélèvement de sang BacT/ALERT en suivant la procédure approuvée par l'établissement et inoculer directement dans le flacon de culture au chevet du patient. Même si des volumes d'échantillon inférieurs peuvent être utilisés, l'isolement est susceptible d'être amélioré en utilisant un volume d'échantillon proche des 4 ml recommandés. Pour éviter une surinoculation, surveiller le volume sanguin introduit dans le flacon de culture en s'aidant des repères de graduation de 4 ml sur l'étiquette du flacon.
- c. Relâcher le garrot dès que le sang commence à s'écouler dans le flacon de culture ou dans les 2 minutes suivant son application.
- d. Ne pas laisser le contenu du flacon de culture toucher le bouchon ou l'extrémité de l'aiguille lors de la procédure de prélèvement.

Un flacon de culture contaminé pourrait contenir une pression positive et, s'il est utilisé pour un prélèvement direct, provoquer un reflux dans la veine du patient. La contamination du flacon de culture n'est pas aisément visible. Surveiller le prélèvement direct avec attention pour éviter un reflux. Ne pas utiliser de flacon contenant un milieu présentant un trouble, un détecteur jaune ou une pression gazeuse excessive, car cela témoigne d'une possible contamination.

**Procédure d'inoculation par seringue**

**REMARQUE :** Si l'opérateur inocule plusieurs types de flacons d'hémoculture BacT/ALERT en utilisant une seringue, il doit d'abord inoculer le flacon pour culture anaérobie, puis celui pour culture aérobie afin de ne pas transférer d'oxygène prisonnier dans la seringue vers le flacon pour culture anaérobie. L'étiquette du flacon comporte des graduations pour faciliter l'estimation du volume d'échantillon.

- a. Effectuer la ponction veineuse et le transfert de sang vers le flacon de culture BacT/ALERT

conformément aux procédures en vigueur au sein de l'établissement.

4. Transférer immédiatement les flacons de culture inoculés au laboratoire microbiologique.

#### PROCÉDURE DE TEST AVEC UN FLACON DE CULTURE BacT/ALERT PF

##### Remarques préliminaires et précautions

1. Utiliser des gants jetables et manipuler avec soin les flacons inoculés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Consulter immédiatement un médecin en cas d'ingestion de produits contaminés ou de contact avec une plaie ouverte, une lésion ou une autre écorchure cutanée.
2. Si un produit contaminé s'est répandu accidentellement, nettoyer immédiatement avec une solution d'hypochlorite de sodium à 5 % diluée à 1:10. Mettre au rebut le matériel de nettoyage en utilisant une méthode adéquate.
3. Tous les flacons de culture inoculés, les aiguilles de prélèvement d'échantillons et les systèmes de prélèvement du sang doivent être décontaminés conformément aux procédures en vigueur dans l'établissement.<sup>2</sup>
4. Ces flacons doivent être utilisés par des techniciens de laboratoire spécialement formés.

##### Remarques et précautions

1. Veiller attentivement à ne pas provoquer la contamination de l'échantillon du patient pendant la ponction veineuse et l'inoculation dans le flacon de culture car une contamination entraînerait une détermination positive de l'échantillon alors qu'aucun isolat cliniquement pertinent n'est en fait présent.
2. Les prélèvements sanguins doivent être effectués avant le début d'une antibiothérapie. Si cela s'avère impossible, prélever l'échantillon sanguin immédiatement avant l'administration de la dose suivante d'antibiotique.
3. Si des flacons de culture inoculés n'ont pas été immédiatement réceptionnés par le laboratoire ou ont été incubés avant d'être chargés dans l'instrument BacT/ALERT, les inspecter pour rechercher des signes de croissance microbienne. Si une croissance microbienne est décelée, considérer que les flacons sont positifs et ne pas les charger dans le système de détection microbienne BacT/ALERT pour le suivi.

##### Procédure de laboratoire

**ATTENTION :** Des précautions s'imposent lors du repiquage des flacons de culture positifs car ceux-ci peuvent présenter un trop-plein ou contenir des organismes dégageant une quantité importante de gaz. Le contenu des flacons de culture positifs peut être soumis à une pression interne accrue. Ventiler temporairement les flacons de culture positifs avant la coloration ou l'élimination pour libérer le gaz produit par le métabolisme microbien.

1. Inspecter visuellement les flacons avant de les tester. Ne pas utiliser des flacons présentant des traces d'endommagement, de fuite ou de détérioration. Considérer positifs les flacons qui présentent une hémolyse, un trouble, une pression gazeuse excessive, des détecteurs jaunes et/ou des signes de croissance. Étaler et repiquer. Ne pas incuber, sauf si l'étalement est négatif.
2. Lorsque les flacons de culture ont été chargés dans l'instrument, incuber pendant cinq à sept jours, ou jusqu'à ce qu'ils aient été déterminés positifs.
3. Étaler et repiquer tous les flacons positifs. Si l'étalement est négatif, ce qui indique la possibilité d'un faux positif, recharger le flacon dans l'instrument jusqu'à l'obtention d'une croissance du repiquage ou un reclassement déterminé positif. Étaler et repiquer les flacons initialement déterminés faux positifs, puis reclassés positifs.
4. Les flacons négatifs peuvent être vérifiés par étalement et/ou repiquage avant d'être éliminés en tant que flacons négatifs.
5. Les procédures de chargement et de déchargement des flacons de culture dans l'instrument BacT/ALERT sont décrites dans le manuel d'utilisation.
6. **Ne pas réutiliser les flacons de culture BacT/ALERT.** Éliminer les flacons de culture BacT/ALERT inoculés conformément au protocole du laboratoire. L'autoclavage et/ou l'incinération des flacons BacT/ALERT inoculés est adéquat.<sup>2</sup>
7. L'utilisation de dispositifs de carottage (c'est-à-dire d'une aiguille à embout arrondi) pour percer le bouchon peut provoquer une fuite du flacon.

##### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Un certificat de conformité est fourni avec chaque boîte de flacons de culture. S'il le souhaite, le laboratoire peut effectuer un test de contrôle de qualité des flacons de culture BacT/ALERT PF. Consulter le manuel d'utilisation de BacT/ALERT et le document M22-A3 du CLSI®.<sup>5</sup>

##### Instrument

Un coffret d'étalons de réflectance BacT/ALERT est fourni avec chaque instrument pour les procédures de CQ et d'étalonnage. Tout contrôle de qualité doit s'inscrire dans le cadre d'une maintenance normale du système. Consulter le manuel d'utilisation de l'instrument BacT/ALERT pour plus d'informations.

##### RÉSULTATS

La positivité ou négativité des flacons de culture est déterminée par un logiciel de prise de décision intégré au système de détection microbienne BacT/ALERT. Aucune intervention n'est requise jusqu'à ce que l'instrument BacT/ALERT signale un flacon de culture positif ou négatif.

**LIMITES DU TEST**

En pratique, les nombreux paramètres intervenant dans les tests d'hémoculture ne permettent pas d'affirmer avec certitude que les résultats obtenus sont dus uniquement aux qualités propres d'un milieu de culture ou d'un système de détection.

1. Un volume sanguin de 4 ml est recommandé. Les volumes supérieurs à 4 ml n'assurent pas un rapport optimal entre sang et milieu.
2. Il est possible que des échantillons patient déterminés positifs avec BacT/ALERT contiennent des organismes positifs à l'étalement qui ne se développent pas sur des milieux de repiquage de routine. Si tel est le cas, les échantillons doivent être repiqués sur des milieux spécifiques. De même, il est possible que des échantillons positifs avec BacT/ALERT contiennent des organismes qui ne sont pas détectés par des méthodes d'étalement de routine et nécessitent des étalements et des milieux de repiquage spécifiques pour la détection et l'isolement.
3. La présence du charbon actif apparaît sous la forme d'un précipité noir sur l'étalement, dont l'interprétation peut être difficile dans un premier temps. L'expérience rend l'interprétation plus facile.
4. Certaines souches de *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae* et *Peptostreptococcus anaerobius* peuvent être sensibles à l'anticoagulant PSS, avec pour conséquence une

moindre croissance ou une faible production de CO<sub>2</sub> par ces souches si la quantité de sang inoculée dans les flacons de culture est insuffisante.

5. Plus rarement, la présence de leucocytes en très grand nombre dans l'échantillon sanguin peut entraîner un résultat positif avec BacT/ALERT. Dans ce cas, les résultats de repiquage et d'étalement seront négatifs.
6. Les organismes sont souvent peu nombreux et peuvent apparaître par intermittence dans le sang. Il convient par conséquent d'effectuer plusieurs prélèvements de sang consécutifs par patient.
7. Retirer rapidement les flacons de culture positifs dès qu'ils sont signalés par BacT/ALERT pour ne pas risquer d'obtenir des cultures non viables par autolyse ou pour d'autres raisons. Certaines souches de *Streptococcus pneumoniae* peuvent être particulièrement sujettes à l'autolyse si les flacons ne sont pas déchargés rapidement après avoir été signalés positifs.
8. Il arrive qu'un étalement à partir d'un flacon négatif soumis à la coloration de Gram contienne un petit nombre d'organismes non viables dérivés des composants du milieu de culture, des colorants utilisés, de l'huile d'immersion ou des lames de verre. Les résultats sont donc des faux positifs dans ce cas.

**CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES DU TEST**

Des études internes d'ensemencement ont été effectuées en utilisant les organismes suivants à des concentrations ≤ 10 UFC/flacon et ≤ 100 UFC/flacon et du sang humain prélevé chez des donneurs adultes sains.

Microorganisme	Inoculum (UFC/flacon)	Temps de détection (heures) <sup>a</sup> BacT/ALERT PF (Plastique)
<b>Gram-positifs</b> ( <i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. agalactiae</i> ,	≤ 100	13,6 - 34,5
<i>E. faecalis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>Streptococcus</i> Groupe C, <i>S. sanguis</i> , <i>L. monocytogenes</i> )	≤ 10	14,3 - 72,0
<b>Gram-négatifs</b> ( <i>E. coli</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. maltophilia</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>A. faecalis</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. marcescens</i> )	≤ 100	10,4 - 39,8
	≤ 10	12,0 - 43,1
<b>Levure</b> ( <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>T. glabrata</i> )	≤ 100	17,4 - 62,4
	≤ 10	20,5 - 70,4

<sup>a</sup> Chaque germe a été testé en triplicate et les moyennes ont été calculées. Les valeurs indiquées correspondent à une plage de ces moyennes.

**REMARQUE :** La liste des germes rares et exigeants isolés avec les flacons de culture BacT/ALERT est disponible sur demande auprès de bioMérieux.<sup>6</sup>

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/Alert: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *J Clin Micro* 1990;28(7),1608-1612.
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
3. CLSI. *Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline*. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
4. Baron, E. J., M. P. Weinstein, W. M. Dunne, Jr., P. Yagupsky, D. F. Welch, and D. M. Wilson. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed., E. J. Baron. ASM Press, Washington, D. C.
5. CLSI/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard—Third Edition*. CLSI/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.
6. Rare Organism Club, bioMérieux, Inc.

## CONDITIONNEMENT

bioMérieux

BacT/ALERT® PF

100/boîte

**REF** 259794

Pour toute assistance technique aux États-Unis, contacter le service clientèle de bioMérieux au +1-800-682-2666. En dehors des États-Unis, contacter le représentant bioMérieux local.

bioMérieux, le logo bleu et BacT/ALERT sont des marques de commerce utilisées, en attente d'homologation et/ou déposées de bioMérieux SA ou de l'une de ses filiales.

CLSI est une marque déposée de Clinical and Laboratory Standards Institute.

©BIOMÉRIEUX 2001, 2003, 2005, 2008, 2010



bioMérieux, Inc.

Box 15969  
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.

69280 Marcy-l'Etoile France  
<http://www.biomerieux.com>

Annexe 7 : Feuille de demande d'Hémoculture

<b>Identification du patient</b>	Identification du préleveur : Nom : ..... Prénom : ..... Qualité : ..... Tél : .....	<b>HEMOCULTURE</b>
<b>ETIQUETTE CODE-BARRE</b>		<b>Service de Microbiologie Médicale</b> Tél : 01 42 11 40 55 - 40 56 - 40 58 - Fax : 01 42 11 53 13

Lundi - Vendredi : 8 h - 17 h 30 - Samedi : 8 h - 16 h - Dimanche et jours fériés : 8 h - 12 h



<input type="checkbox"/> MER	<input type="checkbox"/> MON	<input type="checkbox"/> PLA	<input type="checkbox"/> PD1	<input type="checkbox"/> PD2	<input type="checkbox"/> SZA	<input type="checkbox"/> HDS	<input type="checkbox"/> HER	<input type="checkbox"/> GARD	<input type="checkbox"/> ARD
<input type="checkbox"/> TARN	<input type="checkbox"/> GERS	<input type="checkbox"/> RHO	<input type="checkbox"/> SITEP	<input type="checkbox"/> IEL	<input type="checkbox"/> LOIRET	<input type="checkbox"/> FIN	<input type="checkbox"/> MOR	<input type="checkbox"/> ROU	<input type="checkbox"/> USCM
<input type="checkbox"/> USCC	<input type="checkbox"/> SAR	<input type="checkbox"/> HJ. Med	<input type="checkbox"/> HJ. Péd	<input type="checkbox"/> Cté 050	<input type="checkbox"/> Cté 060	<input type="checkbox"/> Cté 090	<input type="checkbox"/> AUTRES		

Date de prélèvement : 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16  
17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 jour  
 \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 mois

Heure de prélèvement : 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12/24 heure(s) AM PM  
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 minute(s)  
 \_\_\_ h \_\_\_

Température Patient : 34 35 36 37 38 39 40 41 42  
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Renseignements cliniques :

\* Cocher IMPERATIVEMENT la case correspondant aux flacons prélevés.

ETIQUETTES CODE A BARRE DES FLACONS*	PERIPHERIQUE	KT VEINEUX	CHAMBRE SOUS - CUTANEE	KT ARTERIEL	KT DIALYSE ( Hémoclav )
<input type="checkbox"/> HEMOC AEROBIE <div style="border: 1px solid black; height: 20px; width: 100%; margin-top: 5px;"></div>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> HEMOC ANAEROBIE <div style="border: 1px solid black; height: 20px; width: 100%; margin-top: 5px;"></div>					
<input type="checkbox"/> HEMOC AEROBIE <div style="border: 1px solid black; height: 20px; width: 100%; margin-top: 5px;"></div>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> HEMOC ANAEROBIE <div style="border: 1px solid black; height: 20px; width: 100%; margin-top: 5px;"></div>					

## Résumé

Ce mémoire porte sur une étude du parcours pré-analytique des flacons d'hémocultures réalisés au sein de notre structure hospitalière. L'hôpital est un Centre de Lutte Contre le Cancer et nous avons des patients adultes et pédiatriques atteints de tumeurs solides et d'hémopathies malignes ce qui au vue de leurs pathologies peut provoquer des difficultés de prélèvement. Ainsi il a été successivement étudié dans ce mémoire la qualité de remplissage des flacons, le délai d'acheminement des flacons au laboratoire, la qualité du remplissage du bon de demande d'examen par le personnel de soin et la retranscription informatisée du bon de demande d'examen dans le SGL. Des dysfonctionnements ont été mis en avant et des solutions d'amélioration sont ainsi mises en place afin d'avoir une perspective d'amélioration continue de la qualité.

En effet, l'objectif est d'améliorer la qualité du prélèvement de l'hémoculture en vue d'une meilleure prise en charge globale des patients.