

OUTILS DIAGNOSTIQUES : BONNES PRATIQUES, DU PRELEVEMENT A L'ACHEMINEMENT AU LABORATOIRE ...

GENERALITES

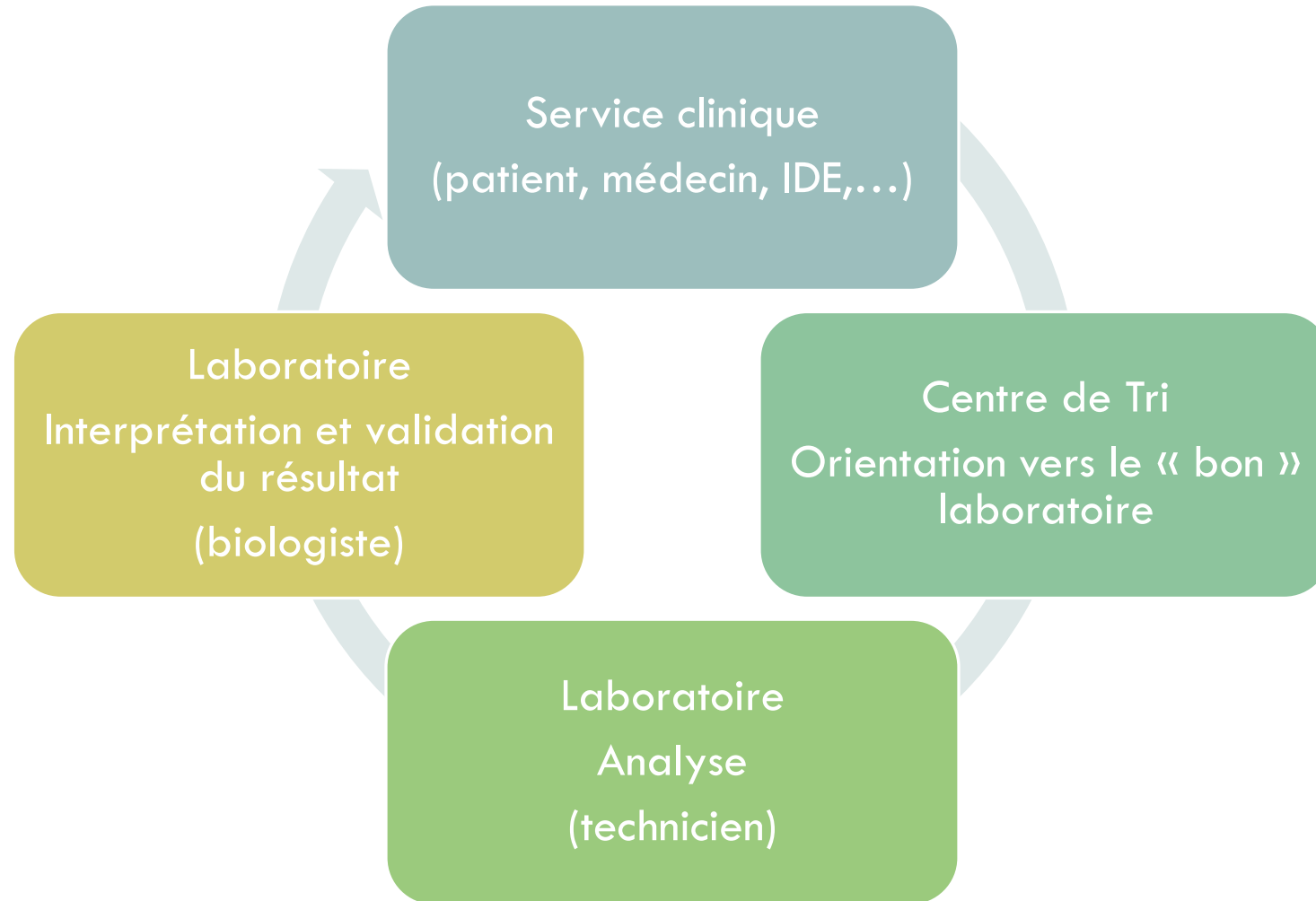
PLAN

Qu'est ce qu'on recherche aux laboratoires de microbiologie ?

Quelques points importants

- Les écouvillons
- Le catalogue des examens
- Les délais d'envoi
- Les renseignements cliniques

PARCOURS DU PRÉLÈVEMENT



LA MICROBIOLOGIE « MANUELLE »



© Philippe Renaud pour l'INRS



© Philippe Renaud pour l'INRS



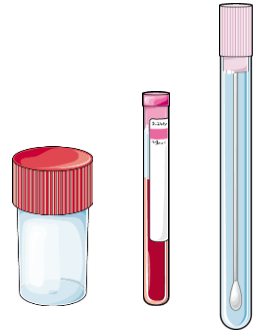
© Vincent Gémiller pour l'INRS



LA MICROBIOLOGIE (SEMI)AUTOMATISÉE



QU'EST CE QU'ON CHERCHE AUX LABORATOIRES DE MICROBIOLOGIE ?



Recherche « directe »



Coloration, culture
ADN, ARN (PCR)
Protéine (antigène)



Fièvre ?

Trouble
neurologique ?

Eruption
cutanée ?

Douleur ?

Trouble digestif ?

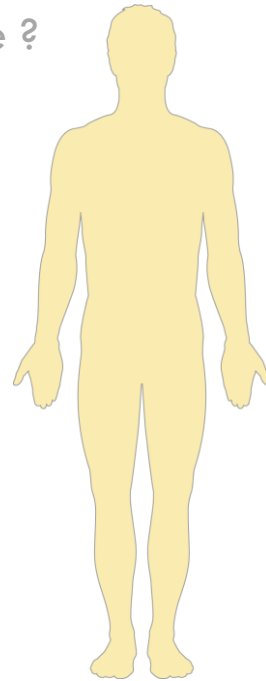
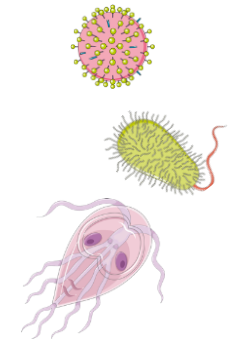
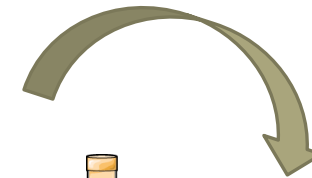
Autre
symptôme...

Pathogène ?

Virus
Bactérie
Mycobactérie
Champignon
Parasite

Recherche « indirecte »

Anticorps du patient (sérologie)

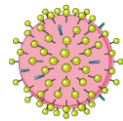


LA MICROBIOLOGIE : LES PATHOGÈNES

La microbiologie = plusieurs (sur)spécialités

Virus

BK virus



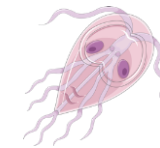
Bactéries



Mycobactéries

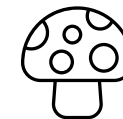
Mycobacterium tuberculosis
= **BK** (**B**acille de **K**och)

Parasites



Champignons

= **mycologie**



QUELQUES POINTS IMPORTANTS

LES ÉCOUVILLONS



Fabricants différents → couleurs, gamme, produits différents

Milieu de transport différents

« conservateurs », antibiotique, antimycotique, « spécial PCR »

Type et forme de « coton » et de tige différents

viscose, dacron / bois, plastique



LES ÉCOUVILLONS



UTM® Performance

Copan UTM® is **CE-IVD** and **510(k) cleared**, and is **compliant** with **CLSI M40-A2** standards. UTM® **preserves the viability** of all the target organisms tested **for 48 hours** at both room and refrigerated temperature.

UTM® unique formulation includes **antibiotics** and **antimycotics** to prevent overgrowth of bacterial and fungal flora without affecting viruses, chlamydia, mycoplasma, or ureaplasma viability.

→ Comment savoir lequel utiliser ?



CATALOGUE DES EXAMENS

= manuel de prélèvement = bibliothèque des examens

Etabli par le laboratoire

Précise le matériel compatible pour l'analyse demandée

CATALOGUE DES EXAMENS

BACTÉRIES MULTIRÉSISTANTES (BMR) : RECHERCHE - PRÉLÈVEMENT RECTAL/ANAL

Révisé le 08/03/2022 17:16:25

EXAMEN


CONSERVATION ET TRANSPORT (INFORMATIONS POUR LE PRELEVEUR)

CONDITIONS DE PRÉLÈVEMENT


ANALYTIQUE / POST ANALYTIQUE

LIENS / DOCUMENTS

 **EXAMEN**

Libellé de l'examen	BACTÉRIES MULTIRÉSISTANTES (BMR) : RECHERCHE - PRÉLÈVEMENT RECTAL/ANAL
Code APHP	5001500022
Groupe Hospitalier	AP-HP. SORBONNE UNIVERSITÉ
Hôpital	HÔPITAL DE LA PITIÉ-SALPÊTRIÈRE
Laboratoire/Service exécutant	PITIÉ-SALPÊTRIÈRE - UF BACTÉRIOLOGIE ET HYGIÈNE HOSPITALIÈRE 

 **CONDITIONS DE PRÉLÈVEMENT**

Nature de prélèvement	Prélèvement rectal/anal
Contenant	 x1 Écouvillon en milieu de transport - bouchon rose
Couleur du sachet de transport	 Sachet transparent
Conditions particulières	Noter le site de prélèvement sur l'emballage de l'écouvillon

 **CONSERVATION ET TRANSPORT (INFORMATIONS POUR LE PRELEVEUR)**

Délai/température d'acheminement du prélèvement au laboratoire	Acheminement dans un délai < 24h entre 15-25°C
---	--

DÉLAI D'ENVOI

Précisé dans le catalogue des examens

Analyses urgentes pour le patient

Analyses urgentes pour le micro-organisme

plus ou moins résistant dans l'environnement

malgré les milieux de transport

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

Laboratoire = à l'aveugle

But = vous aider à faire un diagnostic

Symptômes

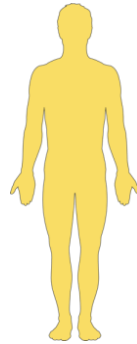
Trouble neurologique ?

Douleur ?

Trouble digestif ?

Eruption cutanée ?

Fièvre ?



Voyages

Lieu ?

Date ?



Contexte

Grossesse ?

Greffe ?

Vaccin ?

Pathogène suspecté ?

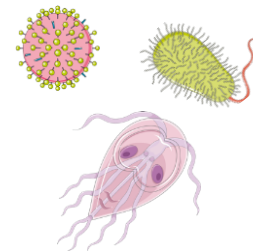
Virus

Bactérie

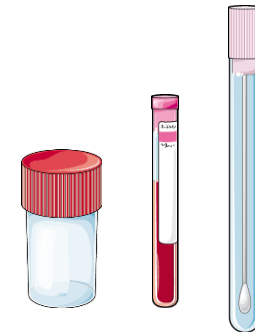
Mycobactérie

Champignon

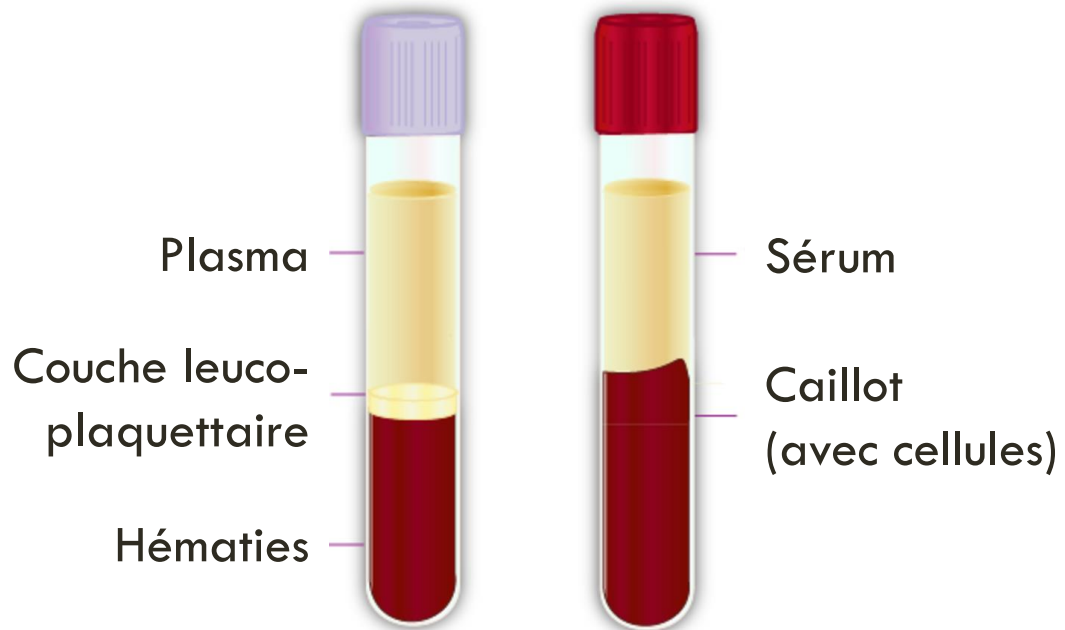
Parasite



Prélèvement le plus adapté



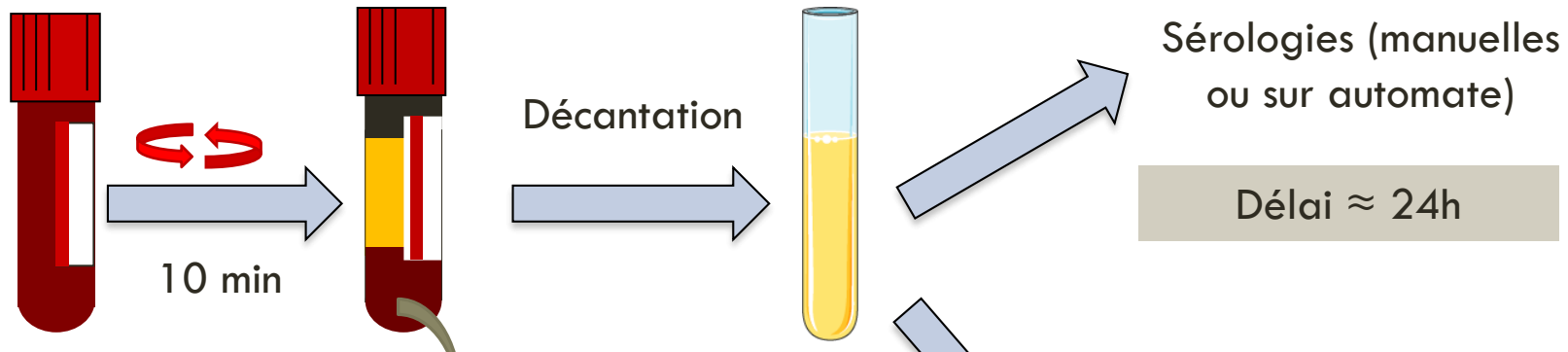
PLASMA VERSUS SÉRUM



Sérum = Plasma – fibrinogène et certains facteurs de coagulation

	Biologie Moléculaire (charges virales, PCR, séquençage)	Sérologies
Tube	EDTA	Sec
Délai pour arriver au laboratoire	< 24 h	< 96 h

SÉRUM



10 min

Décantation

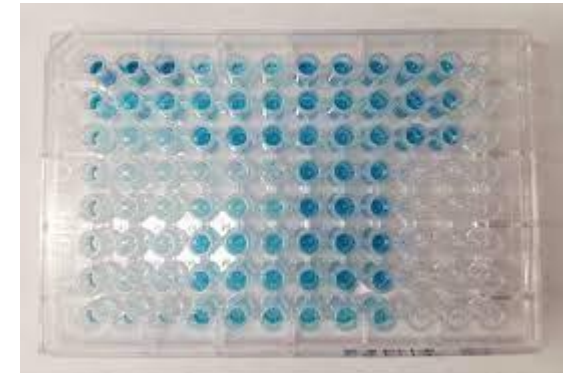
Sérologies (manuelles
ou sur automate)

Délai \approx 24h

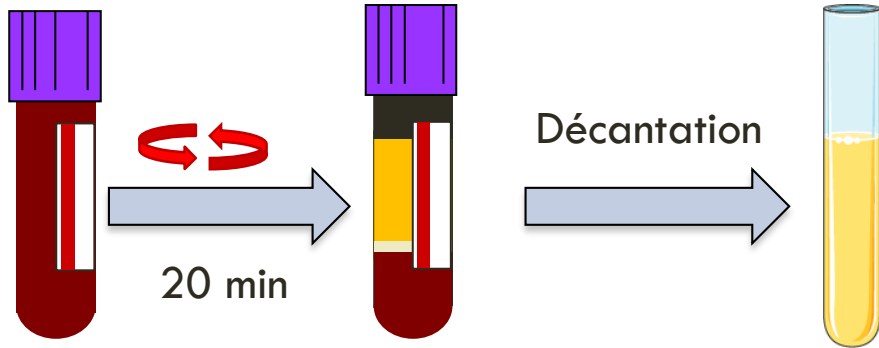
PCR rarement faites sur sérum :
risque de sous-quantification

Cellules
inutilisables

Risque de faux
négatifs !



PLASMA

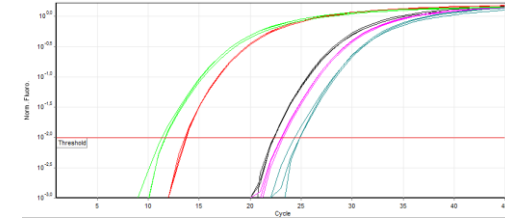


Jamais de tube hépariné pour la biologie moléculaire car inhibiteur de la polymérase (enzyme d'amplification de la PCR)



Extraction des acides nucléiques (ARN et/ou ADN)

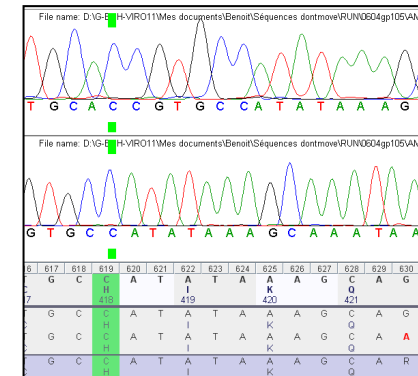
PCR qualitative (Neg. ou pos.)



PCR quantitative (charge microbienne; copies/mL) ou semi-quantitative (Ct)

Délai ≈ 24h

Séquençage



Délai > 15 jours

Délai ≈ 24h

SANG TOTAL



Pas de décantation

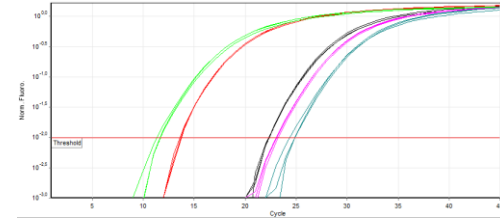


Extraction des
acides nucléiques
(ARN et/ou ADN)



PCR quantitative
(charge microbienne;
copies/mL) **ou semi-**
quantitative (Ct)

Délai \approx 24h



Jamais de tube hépariné pour la biologie moléculaire car inhibiteur de la polymérase (enzyme d'amplification de la PCR)



Choix entre plasma et sang total dépend du type de pathogène recherché :

- Si présence dans les cellules sanguines, PCR sur sang total
 - Ex: CMV, EBV, paludisme
- Si pathogène uniquement présent dans plasma, détection sera plus efficace sur plasma que sur sang total (détection à des valeurs plus basses)
 - Ex : VHB, VHC, Aspergillus
- Seuils utilisés pour le suivi des patients est défini sur utilisation du plasma ou du sang total

URINES



Pour Chlam/Gono



Pour virologie

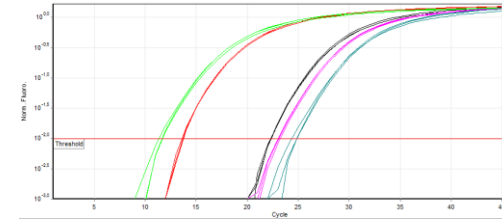
Un même liquide peut devoir être envoyé dans de multiples contenants !
⚠ Pas de code couleur international pour les milieux de transport (à l'inverse des tubes de sang) → se renseigner auprès des laboratoires !



Pour E.C.B.U.



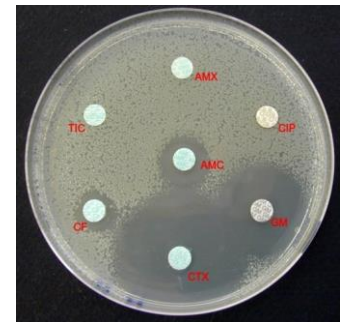
Extraction des acides nucléiques (ARN et/ou ADN)



PCR quantitative ou qualitative

Délai ≈ 48h

Examen cytobactériologique des urines (ECBU)
Ensemencement + examen direct



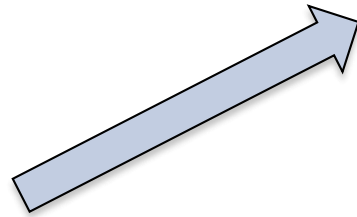
Culture +/- antibiogramme

Délai ≈ 48h

PRÉLÈVEMENTS NASO-PHARYNGÉS



Pas possible sur écouvillon sec !
Différents milieux de transports
possibles pour la virologie.

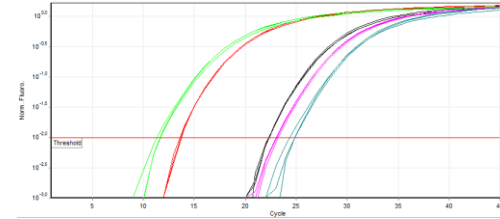


Extraction des
acides nucléiques
(ARN et/ou ADN)



**PCR quantitative
ou qualitative**

Délai \approx 24h



PCR spécifique rapide
(1 à 3 virus différents)

Délai : 15 à 90 min



PCR multiplexe
($>$ 20 pathogènes)

Délai \approx 1 à 3h



CONSERVATION

Les prélèvements sont tous conservés dans les laboratoires

- Quelques jours pour urines, liquides
- Plusieurs mois pour plasmas et sérums (congelés)
- Obligation légale pour les sérums = 1 an

Possible de rajouter des analyses a posteriori

- Se renseigner auprès des laboratoires