



HAL
open science

Accréditation des hémocultures du centre hospitalier d'Abbeville : mise en place et suivi d'indicateur

Sarah Polvèche Raymond

► **To cite this version:**

Sarah Polvèche Raymond. Accréditation des hémocultures du centre hospitalier d'Abbeville : mise en place et suivi d'indicateur. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02884834

HAL Id: dumas-02884834

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02884834>

Submitted on 30 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Picardie Jules Verne
U.F.R. de PHARMACIE
Année Universitaire 2018/2019

THÈSE EN VUE DU
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Tient lieu de
MÉMOIRE POUR LE DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES DE BIOLOGIE MÉDICALE

Accréditation des hémocultures au laboratoire du centre
hospitalier d'Abbeville : mise en place et suivi d'indicateurs

Soutenue publiquement le 27 août 2019
Par Sarah RAYMOND née POLVECHE

Président du jury : Professeur Gilles DUVERLIE

Membres du jury : Professeur Sandrine CASTELAIN
Docteur Emilie PLUQUET
Docteur Christine SEGARD

Directrice de thèse : Docteur Marie LOUCHET - DUCOROY

Remerciements

À Monsieur le Professeur Gilles Duverlie, président du jury,

Pour avoir accepté la présidence du jury de cette thèse, soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À Madame le Docteur Marie Louchet-Ducoroy, directrice de thèse,

Je te remercie sincèrement de m'avoir épaulée pour ce travail de thèse. Merci pour ton implication, tes remarques toujours pertinentes et tes nombreuses relectures attentives. Merci aussi pour ces deux semestres passés avec toi, qui m'ont beaucoup appris. Sois assurée de ma reconnaissance et de mon amitié.

À Madame le Professeur Sandrine Castelain,

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail. Soyez assurée de ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

À Madame le Docteur Emilie Pluquet,

Je te remercie d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse. Merci aussi pour les deux semestres enrichissants passés à tes côtés. Sois assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À Madame le Docteur Christine Segard,

Je vous remercie de participer à ce jury de thèse. Merci de m'avoir fait confiance à Doullens. Soyez assurée de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

À Arnaud,

Je te remercie pour ton soutien tout au long de ce travail de thèse, ainsi que pour ta relecture attentive. Mais surtout, merci d'être à mes côtés au quotidien. Partager ma vie avec toi est un bonheur chaque jour, et je me réjouis des projets qui nous attendent. Tu es un époux et un papa formidable.

À Aliénor,

Je découvre avec toi un nouveau rôle que j'adore. Merci pour le bonheur que tu m'apportes tous les jours, tu es une petite fille merveilleuse et je suis fière d'être ta maman.

À ma famille,

Je vous remercie infiniment pour les années de bonheur passées avec vous. Grandir aussi sereinement est une chance. J'espère sincèrement que nous réussirons à retrouver un équilibre autrement.

À ma belle-famille,

Merci de m'avoir si chaleureusement accueillie parmi vous. Ces moments passés ensemble me sont précieux.

Au reste de ma famille, ma grand-mère, ma merveilleuse Marrain'Aline, mes oncles, tantes et cousins... merci d'être toujours là et de faire de chaque réunion de famille un moment inoubliable.

Au laboratoire d'Abbeville,

Merci beaucoup pour votre aide et votre implication pour cette thèse, mais aussi pour l'accueil et l'intégration que vous m'avez réservé. J'ai beaucoup appris de ces deux semestres passés avec vous et en garde un très bon souvenir.

À mes amis des « années pharma »,

JB, Jojo, Sophie, Marine, Tiphaine, Agathe, Audrey, et tous les autres... Merci de m'avoir supportée pendant ces (trop ?) nombreuses soirées ! J'ai vécu des années de pur bonheur, grâce à vous tous, et j'en garde des souvenirs impérissables. Je suis ravie de vous avoir toujours à mes côtés aujourd'hui, et je souhaite de tout cœur que cela continue.

À mes nombreux co-internes,

Merci pour ces bons moments passés ensemble, entre stages, gardes et verres en terrasse. J'ai fait de belles rencontres et n'oublierai aucun d'entre vous.

À mes colocataires réunionnais,

Ces six mois incroyables n'auraient pas été les mêmes sans vous. Merci pour votre bonne humeur perpétuelle, pour les randonnées que je n'imaginai même pas faire (pensée émue à celle du Piton des Neiges et à celle de Grand Etang !), pour vos blagues parfois douteuses (*Quoi qu'il fait un margouillat sur l'col du Taïbit ?*) et pour votre amitié qui m'est chère aujourd'hui.

Table des matières

Remerciements	3
Table des matières	6
Abréviations	9
Liste des tableaux	11
Liste des figures	12
Introduction	13
1. Généralités sur les hémocultures	13
1.1. Indications des hémocultures.....	14
1.1.1. Sepsis et choc septique.....	14
1.1.1.1. Anciennes définitions	14
1.1.1.2. Nouvelles définitions.....	15
1.1.2. Endocardite infectieuse	16
1.1.3. Infection systémique liée à un dispositif intra-vasculaire	17
1.1.4. Autres indications.....	18
1.2. Prélèvement des hémocultures	18
1.2.1. Mode de prélèvement	18
1.2.2. Quantité de sang prélevé.....	19
1.2.3. Stratégie de prélèvement	21
1.2.3.1. Prélèvement multiple ou prélèvement unique	21
1.2.3.2. Quand prélever ?	22
1.2.3.3. Prélèvement d'hémocultures différentielles.....	23
1.2.4. Acheminement au laboratoire	23
1.2.5. Composition des flacons d'hémoculture.....	23
1.3. Prise en charge au laboratoire	24
1.3.1. Systèmes de détection des hémocultures	24
1.3.1.1. Systèmes manuels.....	24
1.3.1.2. Systèmes automatisés	24
1.3.2. Traitement des flacons positifs.....	26
1.3.2.1. Examen direct.....	26
1.3.2.2. Subculture du bouillon.....	26
1.3.2.3. Identification	26
1.3.2.4. Evaluation de la sensibilité aux agents anti-microbiens.....	27
2. Le laboratoire du centre hospitalier d'Abbeville	28
2.1. Le centre hospitalier d'Abbeville.....	28
2.2. Le laboratoire du centre hospitalier d'Abbeville.....	28
2.2.1. Les activités du laboratoire	28

2.2.2. La réalisation des hémocultures	28
2.2.2.1. La stratégie de prélèvement.....	28
2.2.2.2. L'enregistrement et l'incubation	29
2.2.2.3. La prise en charge d'un flacon positif.....	29
2.2.3. La place de la qualité	30
3. Hémocultures et accréditation.....	30
3.1. COFRAC et démarche d'accréditation	30
3.2. Maîtrise des risques	31
3.2.1. Matière – Echantillon	31
3.2.2. Milieu - Environnement	31
3.2.3. Matériel – Equipement.....	32
3.2.4. Méthode.....	32
3.2.5. Main d'œuvre - Personnel.....	32
3.3. Les indicateurs à mettre en place	33
3.3.1. Volume de remplissage	33
3.3.2. Taux de contamination.....	33
3.3.3. Taux de positivité par instrument et par tiroir	36
3.3.4. Taux de faux-positifs analytiques.....	36
3.3.5. Proportion d'espèces retrouvées.....	37
4. Objectifs du travail	37
Matériel et méthodes	38
1. L'automate et les flacons d'hémoculture	38
2. Scan'Bac.....	39
3. Le système informatique du laboratoire	40
3.1. Recherche multi-critères	40
3.1.1. Critères d'extraction.....	41
3.1.2. Données à extraire	41
3.2. Mise en place de scripts.....	41
4. Excel.....	41
5. EpiCenter™	42
6. INFECTIO.GLOBAL.....	43
7. Balance	44
8. Abaques de volume	44
Résultats.....	46
1. Volume de remplissage.....	46
1.1. Comparaison entre pesée et abaques.....	46
1.2. Taux de flacons suffisamment remplis	47
1.3. Volume moyen de remplissage	49
2. Taux de contamination	50

3. Taux de positivité par instrument et par tiroir	50
4. Taux de faux-positifs analytiques.....	52
5. Proportion d'espèces retrouvées	52
Discussion	56
1. Volume de remplissage des flacons	56
2. Taux de contamination	59
3. Taux de positivité.....	60
4. Taux de faux-positifs analytiques.....	61
5. Ecologie	62
Conclusion	64
Bibliographie	65
Liste des annexes.....	70
Annexes	71

Abréviations

ACP : Anatomie et Cytologie Pathologiques

AES : Accident d'Exposition au Sang

ATB : AntibioGramme

ATF : Antifongigramme

BD : Becton Dickinson

BMR : Bactérie Multi-Résistante

BPM : Battements Par Minute

BVM : Blood Volume Monitoring

CA-SFM : Comité de l'AntibioGramme de la Société Française de Microbiologie

CH : Centre Hospitalier

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CIQ : Contrôle Interne de Qualité

CCLIN : Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales

COFRAC : Comité Français d'Accréditation

CPias : Centre de Prévention des Infections Associées aux Soins

DIV : Dispositif Intra-Vasculaire

EDTA : Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique

EEQ : Evaluation Externe de la Qualité

EI : Endocardite Infectieuse

HACCEK : *Haemophilus* spp, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Capnocytophaga* spp, *Eikenella corrodens* et *Kingella* spp.

HC : Hémoculture

ID : Identification

IDE : Infirmier Diplômé d'Etat

LBM : Laboratoire de Biologie Médicale

PAD : Pression Artérielle Diastolique

PAM : Pression Artérielle Moyenne

PAS : Pression Artérielle Systolique

PSM : Poste de Sécurité Microbiologique

qSOFA : quick SOFA

QUAMIC : Comité de Qualité de la Société Française de Microbiologie

SAU : Service d'Accueil et d'Urgence

SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative

SFM : Société Française de Microbiologie

SIL : Système Informatique du Laboratoire

SIM : Service d'Information Médicale

SMUR : Service Mobile d'Urgence et de Réanimation

SOFA : Sequential Organ Failure Assessement

SPS : Polyanéthol Sulfonate de Sodium

SRIS : Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique

UFC : Unité Formant Colonie

VA : Ventilation Assistée

Liste des tableaux

Tableau 1 - Epidémiologie des hémocultures au CH d'Abbeville (données du SIL et du SIM)	13
Tableau 2 - Score de SOFA	15
Tableau 3 - Critères de Duke's modifiés	17
Tableau 4 - Interprétation des critères de Duke	17
Tableau 5 - Volume de sang à mettre en culture en fonction du poids de l'enfant (10)	21
Tableau 6 - Avantages et inconvénients des protocoles de prélèvement des hémocultures (10)	22
Tableau 7 - Comparatif des systèmes automatisés d'incubation des hémocultures	25
Tableau 8 - Interprétation des hémocultures lors d'un prélèvement multiple (10)	34
Tableau 9 - Interprétation des hémocultures lors d'un prélèvement unique (10)	35
Tableau 10 - Flacons d'hémoculture utilisés au laboratoire du CH d'Abbeville	38
Tableau 11 - Masse moyenne des flacons d'hémoculture vides	46

Liste des figures

Figure 1 - Procédure de prélèvement des flacons d'hémoculture (d'après bioMérieux)	19
Figure 2 - Principe de détection de la croissance microbienne dans une hémoculture du système BACTEC™	25
Figure 3 - L'automate d'incubation automatisée du CH d'Abbeville	38
Figure 4 - Renseignement demandé lors de l'enregistrement d'une paire d'hémoculture	39
Figure 5 - Recherche multi-critères pour le taux de remplissage des flacons	40
Figure 6 - Extraction des espèces isolées d'hémocultures par INFECTIO.GLOBAL	43
Figure 7 - Plusieurs versions des abaques de volume de remplissage des flacons d'hémoculture	44
Figure 8 - Répartition des volumes de remplissage des flacons par la pesée et par les abaques visuels	47
Figure 9 - Taux de flacons suffisamment remplis	48
Figure 10 - Volume moyen de remplissage des flacons aérobies	49
Figure 11 - Taux de contamination des flacons d'hémoculture	50
Figure 12 : Taux de positivité par tiroir	51
Figure 13 : Taux de faux-positifs analytiques	52
Figure 14 - Répartition des micro-organismes retrouvés dans les hémocultures en 2016	53
Figure 15 - Répartition des micro-organismes retrouvés dans les hémocultures en 2017	54
Figure 16 - Répartition des micro-organismes retrouvés dans les hémocultures en 2018	54
Figure 17 - Ecologie des hémocultures en 2016, 2017 et 2018	55

Introduction

1. Généralités sur les hémocultures

Aujourd'hui dans le monde, une personne meurt de sepsis toutes les 5 secondes. Dans les pays industrialisés, le sepsis provoque autant de décès que l'infarctus du myocarde. En France, la mortalité des patients atteints d'un sepsis est de 27%, ce qui représente environ 30 000 décès en France. La mortalité du choc septique, quant à elle, peut atteindre 50%. Selon l'institut Pasteur, le vieillissement de la population provoquera un doublement du nombre de cas d'ici cinquante ans. (1)

L'hémoculture est l'analyse de biologie médicale de choix pour diagnostiquer un sepsis. Il s'agit de mettre en culture le sang du patient afin de retrouver l'agent pathogène bactérien ou fongique responsable du sepsis. Cependant, cette analyse microbiologique ne permet de rechercher que les agents pathogènes cultivables.

Depuis quelques années, les laboratoires de biologie médicale sont soumis à l'accréditation par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC) selon les normes NF EN ISO 15189 et NF EN ISO 22870, afin de certifier que les résultats rendus soient de qualité. Il est d'autant plus important de maîtriser les analyses critiques, comme les hémocultures, puisqu'elles sont réalisées dans des contextes graves voir mortels.

Au centre hospitalier (CH) d'Abbeville, environ 300 cas de sepsis et de chocs septiques sont pris en charge chaque année (*voir* Tableau 1). Tous les ans, entre 5 000 et 7 000 paires d'hémocultures sont envoyées au laboratoire, soit en moyenne une trentaine de flacons par jour. Il s'agit donc d'une analyse très fréquente au laboratoire, qu'il est nécessaire de maîtriser.

	2018	2017	2016
Nb HC sur l'année	6 926	5 478	5 440
Nb flacons / an	13 623	10 749	10 652
Nb flacons / jour	37	29	29
Nb sepsis / an	321	289	294

Tableau 1 - Epidémiologie des hémocultures au CH d'Abbeville (données du SIL et du SIM)

1.1. Indications des hémocultures

Une revue de la littérature menée par Willems *et al.* en 2012 (2) recommande de prélever des hémocultures en cas de fièvre, d'hypothermie, d'hyperleucocytose, et de pancytopenie. En pratique, les hémocultures sont prélevées en cas de sepsis, de méningite, de bactériémie liée à un cathéter, d'endocardite infectieuse, d'arthrite, d'ostéomyélite, de pneumonie, d'infection des tissus mous et de fièvre d'origine inconnue, afin de confirmer l'origine infectieuse de ces pathologies, d'identifier le micro-organisme en cause et de déterminer sa sensibilité aux anti-infectieux.

1.1.1. Sepsis et choc septique

Historiquement, il existait plusieurs termes et définitions autour de la « septicémie » (bactériémie, sepsis, sepsis sévère et choc septique) graduant la gravité de l'infection et le traitement approprié à administrer. En 2016, de nouvelles définitions ont été établies (3) pour faciliter ces diagnostics et leurs prises en charge.

1.1.1.1. Anciennes définitions

La bactériémie concerne *stricto sensu* la présence d'une bactérie dans le sang. Il existe des bactériémies transitoires qui ne sont pas pathologiques : une infime quantité de bactéries appartenant à la flore des muqueuses (buccale lors du brossage de dents, digestives, cutanée, génitale...), va passer de façon transitoire dans le sang, sans être responsable d'infection. Mais il arrive qu'une bactériémie devienne continue et pathologique, ou qu'une infection à l'origine localisée, se systématisse en passant dans le sang (4). Généralement à ce stade, une réponse du corps humain se met en place, il s'agit du SRIS (Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique), qui est établi si au moins 2 critères sont réunis parmi :

- une température $> 38^{\circ}\text{C}$ ou $< 36^{\circ}\text{C}$,
- un rythme cardiaque > 90 battements par minute (bpm),
- une fréquence respiratoire > 20 /min ou une $\text{PaCO}_2 < 32$ mm Hg,
- une leucocytose $> 12\,000 / \text{mm}^3$ ou $< 4\,000 / \text{mm}^3$ ou une myélémie $> 10\%$.

Un sepsis est défini comme un SRIS résultant d'une bactériémie (5).

Le sepsis peut se compliquer d'une défaillance d'organe, devenant un sepsis sévère. Le choc septique est un sepsis avec une hypotension persistante malgré un remplissage

vasculaire adéquat (3).

Le principe du traitement curatif du sepsis, du sepsis sévère ou du choc septique est l'élimination de l'agent infectieux responsable, principalement par l'utilisation d'antibiotiques ou d'antifongiques adaptés, associé à un traitement symptomatique. En cas de sepsis ou de choc septique, il est donc recommandé de prélever des hémocultures afin d'identifier cet agent infectieux et ainsi pouvoir adapter la thérapie anti-infectieuse. (6)

1.1.1.2. Nouvelles définitions

Suite à la révision des définitions autour du sepsis (3), le terme de SRIS a été abandonné, tout comme la notion de sepsis sévère. Désormais, un sepsis est une dysfonction d'organe menaçant le pronostic vital causée par une réponse inappropriée de l'hôte à une infection. La défaillance d'un organe est identifiée par le score de SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) (voir Tableau 2). Un score ≥ 2 signe une défaillance d'organe.

Calcul du score	0 point	1 point	2 points	3 points	4 points
PaO ₂ /FiO ₂	> 400	301-400	201-300	101-200 et VA	≤ 100 et VA
Plaquettes x10 ³ /mm ³	>150	101-150	51-100	21-50	≤ 20
Bilirubine, mg/L (mmol/L)	<12 (<20)	12-19 (20-32)	20-59 (33-101)	60-119 (102-204)	>120 (>204)
Tension artérielle	PAM ≥ 70 mmHg	PAM <70 mmHg	Dopamine ≤ 5 ou Dobutamine (toute dose)	Dopa >5 ou Adrénaline $\leq 0,1$ ou Noradré $\leq 0,1$	Dopamine >15 ou Adrénaline >0,1 ou Noradré > 0,1
Score de Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	<6
Créatinine, mg/L (μ mol/L) ou diurèse	<12 (<110)	12-19 (110-170)	20-34 (171-299)	35-49 (300-440) ou <500 mL/jour	>50 (>440) ou <200 mL/jour
VA : ventilation assistée. PAM : pression artérielle moyenne (estimée par (PAS + 2 x PAD)/3). Amines : dose en μ g/kg/min.					

Tableau 2 - Score de SOFA

En dehors des services de réanimation, un score de SOFA simplifié, le quick SOFA (qSOFA), peut être utilisé pour le dépistage d'un sepsis :

- Pression artérielle systolique (PAS) ≤ 100 mmHg
- Fréquence respiratoire > à 22 cycles / min
- Score de Glasgow inférieur à 15.

La présence de 2 critères du qSOFA identifie des patients ayant un mauvais pronostic et justifiant d'un monitoring accru et/ou d'un traitement spécifique et/ou de prendre un avis en réanimation.

Le choc septique, lui, est défini par l'association des 3 critères suivants :

- Sepsis,
- Besoin de catécholamines pour maintenir une PAM \geq 65 mmHg,
- Lactates $>$ 2 mmol/L (18 mg/dL) malgré un remplissage adéquat.

L'identification d'un sepsis ou d'un choc septique chez un patient est une urgence médicale. Il est alors recommandé de réaliser au plus vite des hémocultures, puis d'initier une antibiothérapie probabiliste à large spectre, ainsi qu'une réanimation si nécessaire.

1.1.2. Endocardite infectieuse

Une endocardite correspond à une inflammation de l'endocarde. Dans la grande majorité des cas, son origine est infectieuse, mais elle peut aussi être d'origine inflammatoire (par exemple en phase aiguë du rhumatisme articulaire aigu) ou néoplasique. L'endocardite infectieuse (EI) est une pathologie grave, la 4^{ème} pathologie infectieuse mortelle après le sepsis, la pneumonie et l'abcès intra-abdominal. La bactérie la plus fréquemment retrouvée lors d'endocardite infectieuse est le *Staphylococcus aureus* (7).

Les critères de Duke (8) sont établis en 1994 pour aider le diagnostic clinique d'endocardite infectieuse. Ils ont depuis été modifiés (9). Le principe est le suivant : des critères majeurs et mineurs sont à comptabiliser pour déterminer si l'endocardite infectieuse est certaine ou probable.

Critères majeurs	Micro-organisme typique d'EI isolé de 2 hémocultures distinctes : - Streptocoque viridans, <i>Streptococcus gallolyticus</i> , HACCEK, <i>Staphylococcus aureus</i> ... - Entérocoque d'origine communautaire si absence d'autre foyer primaire.
	Micro-organisme responsable d'EI avec bactériémie continue : - ≥ 2 hémocultures positives à 12h d'intervalle - 3 / 3 hémocultures positives ou une majorité si ≥ 4 hémocultures réalisées avec un intervalle > 1h
	Une seule hémoculture positive à <i>Coxiella burnetii</i> ou un titre des IgG de phase I > 1/800
	A l'imagerie : nouveau souffle de régurgitation valvulaire
	Echocardiographie : Végétations, Abscès, déhiscence prothétique
Critères mineurs	Prédisposition : cardiopathie à risque ou toxicomanie intraveineuse
	Fièvre $\geq 38^{\circ}\text{C}$
	Manifestations vasculaires : cérébrale, embolie pulmonaire, anévrisme mycotique, hémorragies conjonctivales...
	Manifestations immunologiques : glomérulonéphrite, nodules d'Osler, taches de Roth...
	Arguments microbiologiques : hémocultures positives hors critères majeurs ou sérologie positive

Tableau 3 - Critères de Duke's modifiés

Endocardite Infectieuse certaine	Endocardite Infectieuse probable
<ul style="list-style-type: none"> • 2 critères majeurs • 1 critère majeur et 3 critères mineurs • 5 critères mineurs 	<ul style="list-style-type: none"> • 1 critère majeur et 1 critère mineur • 3 critères mineurs

Tableau 4 - Interprétation des critères de Duke

Les critères de Duke donnent donc aux hémocultures une place primordiale dans le diagnostic d'endocardite infectieuse.

1.1.3. Infection systémique liée à un dispositif intra-vasculaire

La mise en place de dispositifs intra-vasculaires (DIV) est indispensable pour de nombreux patients hospitalisés. Du fait de leur insertion à travers la barrière cutanée, ainsi que de leurs manipulations répétées, ils sont fréquemment colonisés par la flore cutanée et peuvent être la porte d'entrée d'infections invasives.

En cas de suspicion d'infection liée à un DIV, il est intéressant de prélever des hémocultures réalisées de manière différentielles (voir 1.2.3.3) afin d'incriminer ou non le dispositif. Si l'origine du sepsis est confirmée, il sera alors nécessaire de discuter de l'ablation du matériel ainsi que d'un traitement anti-infectieux. (10)

1.1.4. Autres indications

De nombreuses autres infections peuvent nécessiter le prélèvement d'hémocultures, principalement lorsque le foyer d'infection primaire est difficile d'accès, comme lors de méningite, d'arthrite, d'ostéomyélite. Le prélèvement d'hémocultures est aussi recommandé lors d'une fièvre d'origine inconnue, ou en cas d'hypothermie, d'hyperleucocytose ou de pancytopenie. (10)

1.2. Prélèvement des hémocultures

1.2.1. Mode de prélèvement

La ponction veineuse périphérique doit être favorisée pour diagnostiquer une bactériémie. Les autres sites de prélèvement, notamment les dispositifs intra-vasculaires, augmentent significativement le risque de contamination et il n'est pas évident de distinguer une colonisation du matériel d'une infection réelle (11)(12).

Lors du prélèvement d'une hémoculture, l'antisepsie du point de ponction est particulièrement importante afin de ne pas contaminer le prélèvement par la flore commensale cutanée et ainsi risquer une erreur d'interprétation du résultat. Pour cela, il est nécessaire de respecter différentes étapes (10).

Il faut commencer par désinfecter les mains du préleveur, l'opercule des flacons et le site de ponction par un antiseptique. Le choix de l'antiseptique a été l'objet de plusieurs études (11)(13)(14)(15) et il en ressort qu'il existe une meilleure efficacité des préparations contenant de l'alcool, par rapport aux antiseptiques non alcooliques. En ce qui concerne la désinfection du point de ponction, il existe plusieurs techniques en fonction du risque du geste. Si les prélèvements veineux sanguins se réalisent après une antisepsie en un temps (badigeonnage par l'antiseptique alcoolique puis respect du temps de séchage), le prélèvement d'hémoculture correspond à un risque plus élevé et donc à une antisepsie plus importante. En effet, les réseaux d'hygiène en France, comme les CPIas (Centres de Prévention des Infections Associées aux Soins), anciennement CCLIN (Centres de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales), recommandent de réaliser une antisepsie en 4 temps (16) :

1. Détertion avec une solution détergente (par exemple : Bétadine Scrub),
2. Rinçage à l'eau stérile ou sérum physiologique stérile,
3. Séchage par tamponnement,
4. Antiseptie par badigeonnage avec une solution alcoolique.

Une fois l'antiseptie du point de ponction réalisée, il faut laisser sécher et ne pas palper à nouveau le point de ponction. Le préleveur enfle des gants, puis réalise le prélèvement en commençant par remplir un flacon aérobie car la tubulure utilisée pour le prélèvement contient de l'oxygène. On peut ensuite remplir les autres flacons d'hémoculture et seulement après les autres tubes (citrate, héparine, EDTA,...) puis terminer le prélèvement, sans oublier d'identifier chaque flacon ou tube prélevé.

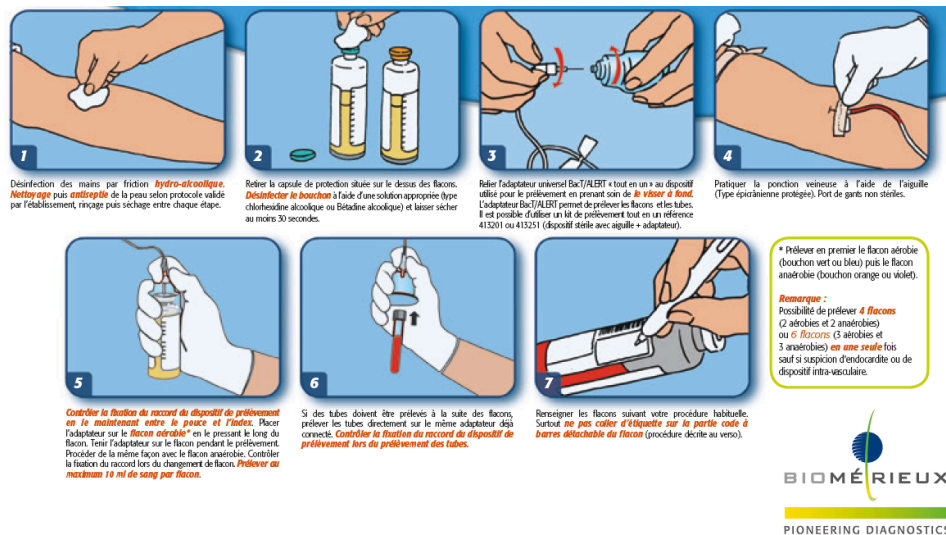


Figure 1 – Procédure de prélèvement des flacons d'hémoculture (d'après bioMérieux)

1.2.2. Quantité de sang prélevé

Beaucoup d'études ont montré depuis des années que le volume de sang collecté était un élément essentiel pour la sensibilité des hémocultures : plus le volume de sang prélevé est élevé, plus la sensibilité de la culture augmente. L'explication vient du fait que lors d'une bactériémie, la concentration en bactérie dans le sang est très faible. Il est difficile d'estimer précisément la charge bactérienne, puisque cela dépend des bactéries et de chaque situation clinique. La revue de la littérature au sujet des hémocultures de Lamy *et al.* (15) en 2016 estime que 50% des sepsis sont associés à une concentration en bactérie entre 0.01 et 1 UFC (Unité Formant Colonie) / mL de sang. Ces concentrations étant très faibles, il

faut donc augmenter les volumes de sang pour augmenter le nombre d'UFC recueillies dans les flacons d'hémoculture.

En 1993, Mermel *et al.* (17) a montré que remplir des flacons d'hémoculture avec un volume moyen de 8.7 mL a une sensibilité de 92%, contre seulement 69% pour les flacons sous-remplis (d'une moyenne de 2.7 mL). En 1994, l'équipe de Li *et al.* (18) a montré que prélever 40 mL de sang pour le mettre en culture, au lieu de 20 mL, augmentait le pourcentage de culture positive de 19% ; et que prélever 60 mL au lieu de 40 mL augmentait de 10% supplémentaire la culture positive. Des études plus récentes (19)(20)(21)(22) vont dans le même sens, montrant que des volumes de 20, 40 et 60 mL sont associés à des sensibilités de 65 à 75%, 80 à 89% et 95 à 97%.

Ainsi, la société française de microbiologie (SFM) recommande de prélever 2 à 3 paires d'hémoculture par jour (10). De plus, elle préconise d'éviter les cultures solitaires (une seule paire d'hémoculture). En effet, de nombreuses études ont montré que la plupart des flacons d'hémocultures sont sous-remplis (2)(23)(24)(25) : n'en prélever qu'une seule paire diminue le volume total de sang incubé, augmentant ainsi le risque d'un faux-négatif. De plus, cela ne rend pas aisé l'interprétation des résultats en cas de présence d'une bactérie de la flore commensale cutanée, puisque la distinction entre une bactériémie vraie à une espèce commensale cutanée et une contamination se fait sur le nombre de flacons positifs à l'espèce retrouvée (*voir 3.3.2*).

Concernant les enfants, le volume à prélever est lié au poids de l'enfant et ne suit pas les mêmes recommandations que celles des adultes. La SFM présente ce tableau (Tableau 5) sur le volume de sang à prélever en fonction du poids de l'enfant.

La concentration bactérienne étant plus élevée chez l'enfant que chez l'adulte, cela permet de limiter à quelques millilitres la quantité de sang à prélever chez le nouveau-né. Mais la concentration bactérienne diminuant avec l'âge, il faut augmenter le volume de sang à mettre en culture en conséquence (10).

Poids de l'enfant (kg)	Volume de sang (ml)						Volume total cultivé (ml)	Volume total soustrait (%)
	Culture 1		Culture 2		Culture 3			
	Aérobie	Anaérobie	Aérobie	Anaérobie	Aérobie	Anaérobie		
≤1	0.5 à 2						0.5 à 2	1.5 à 3
1.1 – 2	1.5 à 4.5						1.5 à 4.5	1.7 à 3
2.1 – 3.9	3 à 6						3 à 6	1.8
4 – 7.9	6						6	1 à 2
8 – 13.9	4 à 5		4 à 5				8 à 10	1 à 1.5
14 – 18.9	5	5 à 7	5 à 8	5 à 7			20 à 27	1.8 à 2.4
19 – 25.9	5	5	5	5	5	5	30	1.8 à 2.2
26 – 39.9	10	10	10	10			40	1.7 à 2.2
≥ 40	10	10	10	10	10	10	60	≤ 2.3

Tableau 5 - Volume de sang à mettre en culture en fonction du poids de l'enfant (10)

1.2.3. Stratégie de prélèvement

1.2.3.1. Prélèvement multiple ou prélèvement unique

Le prélèvement multiple consiste à prélever une paire d'hémoculture au moment des pics fébriles à des temps différents, entre 2 et 3 paires sur 24 heures. L'interprétation des cultures se fait sur le nombre de flacons positifs lorsqu'il s'agit d'un probable contaminant (*Staphylocoques* à coagulase négative (SCN), *Corynebacterium* spp, *Micrococcus* spp...). Pour ces micro-organismes, au moins 2 flacons positifs à la même bactérie est considéré comme cliniquement significatif (15). Cependant, ce mode de prélèvement a des inconvénients comme l'augmentation du nombre de faux-positifs diagnostiques par l'augmentation du taux de contamination dû à la multiplication des prélèvements. De plus, faire un prélèvement multiple favorise les hémocultures solitaires (une seule paire est prélevée à T0, mais les suivantes ne le sont pas), engendrant un volume de sang mis en culture insuffisant, entraînant ainsi une diminution de la sensibilité diagnostique de ce mode de prélèvement. Le fait de devoir atteindre le prélèvement de tous les flacons d'hémoculture peut aussi engendrer un retard à l'initiation de l'antibiothérapie (10).

Le prélèvement unique, lui, consiste à réaliser 2 ou 3 paires d'hémoculture en un seul prélèvement. L'avantage de cette stratégie est qu'elle permet de prélever directement le volume suffisant sur 24 heures et diminue le taux de contamination grâce à la seule ponction. En plus, il permet de diminuer le travail des IDE (Infirmier Diplômé d'Etat), de diminuer le risque d'AES (Accident d'Exposition au Sang), et ainsi diminuer les coûts, d'augmenter le confort des patients et de ne pas retarder l'instauration de l'antibiothérapie

(26). Le prélèvement unique optimise également la spécificité de l'analyse grâce à un prélèvement de volume sanguin suffisant, et ne permet plus les hémocultures solitaires. Le prélèvement unique est de plus en plus pratiqué puisqu'il ne diminue pas la sensibilité de l'analyse, mais augmente sa spécificité. C'est ce qu'ont montré de nombreuses études (18)(27)(28). Cependant, dans le cas d'une suspicion d'endocardite, le prélèvement unique n'est pas recommandé puisque la décharge bactérienne est intermittente : multiplier les prélèvements à des temps différents séparés d'au moins une heure est recommandé dans ce cas (10).

La SFM (10) a résumé les différentes données des deux stratégies dans le tableau suivant (Tableau 6).

	Prélèvements multiples	Prélèvement unique
Nombre de ponctions	2 à 3	1
Nombre total de flacons mis en culture	4 à 6	4 à 6
Sensibilité	Equivalente à nombre de flacons égal et remplissage égal. Equivalente que les prélèvements soient espacés dans le temps ou réalisés simultanément	
Taux de contamination	Modéré	Faible (divisé par 2 à 3)
Fréquence d'hémocultures solitaires	Elevée	Faible
Interprétation du résultat	Confrontation bio-clinique Interprétation d'après l'espèce isolée et le nombre de prélèvements positifs.	Confrontation bio-clinique Interprétation d'après l'espèce isolée et le nombre de flacons positifs.
Remarques	Malgré des règles d'interprétation, conclusion délicate en cas de bactériémie liée à un DIV.	Avec réserve pour les endocardites (niveau de preuve insuffisant).
Avantages		Confort du patient (une seule ponction). Antibiothérapie instaurée plus rapidement. Risque moindre d'AES.

Tableau 6 – Avantages et inconvénients des protocoles de prélèvement des hémocultures (10)

1.2.3.2. Quand prélever ?

Afin d'éviter une inhibition de la culture, il est d'usage de prélever les hémocultures avant toute antibiothérapie. Il est aussi recommandé de les réaliser le plus rapidement possible, dès que le diagnostic de sepsis est suspecté, au vu de l'urgence clinique des patients. Cependant, il a souvent été préconisé d'attendre un pic fébrile pour prélever les hémocultures, mais certaines études n'ont pas montré d'avantage significatif à attendre ce pic (18).

1.2.3.3. Prélèvement d'hémocultures différentielles

Le diagnostic d'infection liée à un dispositif intra-vasculaire en place se fait grâce au prélèvement d'hémocultures dites « différentielles ». Il s'agit de prélever au même moment une paire d'hémocultures par ponction veineuse périphérique et une autre paire à partir du matériel suspecté. L'objectif des hémocultures différentielles est de mettre en évidence la présence de la même bactérie au niveau des deux sites de prélèvement. De plus, si les flacons sont remplis du même volume sanguin, il est possible de faire un différentiel du délai de positivité : si l'échantillon recueilli au niveau du matériel se positive au moins deux heures avant l'échantillon prélevé en périphérie, et que la même bactérie est retrouvée dans les deux échantillons, alors le matériel peut être considéré comme la source de la bactériémie, avec une sensibilité entre 0.78 et 0.92, et une spécificité entre 0.75 et 0.87 (10).

1.2.4. Acheminement au laboratoire

Les hémocultures doivent être acheminées au laboratoire le plus rapidement possible pour 2 raisons : la première est qu'il s'agit d'un examen urgent nécessitant une prise en charge rapide. La deuxième permet d'éviter de faux-négatifs de détection : en effet, si au moment de l'introduction du flacon dans l'automate, celui-ci est déjà positif ; le différentiel de croissance sera trop faible pour déclencher la positivité du flacon, qui restera donc négatif.

Les flacons d'hémoculture ne doivent pas être congelés, réfrigérés ou mis à l'étuve, et doivent être laissés à température ambiante (12)(29).

1.2.5. Composition des flacons d'hémoculture

Les flacons d'hémocultures sont différents selon les fournisseurs, mais aussi au sein d'un même fournisseur afin de favoriser la croissance bactérienne selon la bactérie recherchée.

Tous les flacons sont composés d'un bouillon de culture pour favoriser la croissance bactérienne, supplémenté avec des nutriments et des facteurs de croissance (4)(30). La pression y est réduite (sous vide) afin d'ensemencer directement le sang dans le flacon au travers de l'opercule (4). Le vide correspond en général à un volume supérieur à 10 mL pour que le volumeensemencé de sang soit suffisant (31)(32).

La plupart des flacons commercialisés comportent une atmosphère enrichie en CO₂ pour favoriser la culture de bactéries exigeant une atmosphère riche en CO₂ (*Brucella*, *Neisseria* spp., *Haemophilus* spp., *Streptococcus* spp., *Campylobacter* spp., ...). En général, les flacons aérobies sont enrichis de CO₂ et O₂ alors que les flacons anaérobies sont enrichis en CO₂ et H₂ ou N₂. (4)(31)(32)

Des anticoagulants sont parfois utilisés afin de contrer l'activité bactéricide du sérum. C'est le polyanéthol sulfonate de sodium (SPS) qui est l'anticoagulant le plus utilisé dans les bouillons d'hémoculture (4)(10). Certains fabricants ajoutent aussi des résines adsorbantes de cations (BACTEC™ de chez BD) ou du charbon activé (BacT/Alert® de chez bioMérieux) afin de neutraliser les antibiotiques et des agents lysants pour lyser les cellules sanguines et ainsi libérer les bactéries intra-cellulaires (4)(30).

1.3. Prise en charge au laboratoire

1.3.1. Systèmes de détection des hémocultures

1.3.1.1. Systèmes manuels

Historiquement, les flacons d'hémoculture étaient incubés dans des étuves entre 35 et 37°C, et les techniciens de laboratoire devaient contrôler les flacons tous les jours, voir plusieurs fois par jour, afin de vérifier s'ils se positivaient ou non. Aujourd'hui, seules deux entreprises fabriquent encore des milieux d'hémocultures pour systèmes manuels : bioMérieux avec les flacons Hémoline™ et Oxoid avec les flacons Signal™ (4).

Cependant, au vu des délais allongés pour la détection de la positivité, cette méthode manuelle n'est actuellement plus recommandée pour la détection des bactériémies et fongémies (10).

1.3.1.2. Systèmes automatisés

Des automates ont été développés afin de réaliser une lecture de la culture de façon beaucoup plus fréquente et automatisée. Ces systèmes incubent, agitent et surveillent de façon quasi continue les flacons introduits. Ils permettent ainsi de détecter plus facilement et plus rapidement la croissance bactérienne (4)(10). Deux sociétés sont les leaders des automates pour l'incubation automatisée des hémocultures : BD avec les BACTEC™ et bioMérieux avec les BacT/Alert®.

Lors de sa croissance, la bactérie produit du CO₂ : cette augmentation est détectée soit via la diminution du pH qu'elle induit, par fluorescence (33) ou par colorimétrie (34), soit directement par la variation de pression au sein du flacon (10)(30).

Système	Fournisseur	Méthode de détection
BACTEC™	Becton Dickinson	Mesure CO ₂ par fluorimétrie
BacT/Alert®	bioMérieux	Mesure CO ₂ par colorimétrie
VersaTREK®	ThermoFisher	Variation pression

Tableau 7 - Comparatif des systèmes automatisés d'incubation des hémocultures

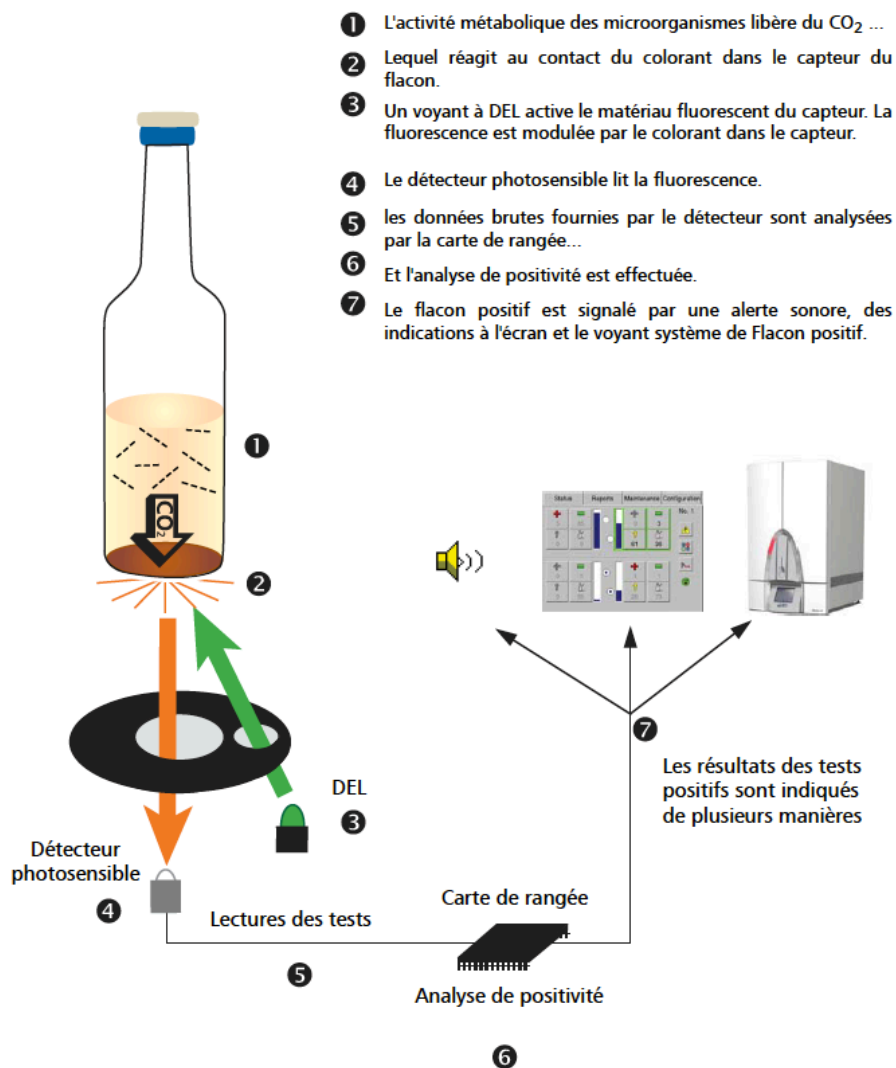


Figure 2 – Principe de détection de la croissance microbienne dans une hémoculture du système BACTEC™

Les lectures s'effectuent toutes les 10 minutes, ce qui permet une détection précoce de la positivité d'un flacon. Ainsi, une incubation de 5 jours est réputée suffisante pour

détecter toute bactériémie (4), y compris pour les bactéries à croissance lente (groupe HACCEK, *Brucella* spp., ...). En effet, il a d'abord été recommandé d'effectuer des incubations prolongées pour augmenter la sensibilité de détection de ces bactéries à croissance lente, mais aujourd'hui cela n'est plus recommandé puisqu'il n'y a pas de bénéfice majeur, et cela augmente la détection des bactéries contaminantes (10)(12).

1.3.2. Traitement des flacons positifs

1.3.2.1. Examen direct

Tout flacon détecté positif doit faire l'objet d'un examen microscopique au plus vite. Un frottis est réalisé à partir d'une goutte du bouillon de culture positif, récupérée via un dispositif fourni par le fabricant et après aseptie de l'opercule.

Ce frottis subit une coloration de Gram afin de déterminer la morphologie des micro-organismes (cocci, bacille, levure) ainsi que leur affinité tinctoriale (caractère Gram positif ou Gram négatif). Il est aussi possible de réaliser un état frais pour apprécier la mobilité des bactéries, ou d'autres colorations (bleu de méthylène, noir chlorazole, ...) pour affiner l'examen direct. Le résultat de cet examen direct doit être communiqué sans attendre au prescripteur de l'analyse (4)(10).

1.3.2.2. Subculture du bouillon

Les recommandations concernant la subculture du bouillon d'hémoculture indiquent que les repiquages doivent se faire sur des géloses adaptées en fonction de l'examen direct, sous un Poste de Sécurité Microbiologique (PSM), et grâce au dispositif fourni par le fabricant après aseptie de l'opercule du flacon (4)(10). Les cultures étant généralement mono-microbiennes, les milieux sélectifs ne sont pas recommandés. Cependant, cela peut être un choix d'utiliser des géloses sélectives si l'examen direct révèle la présence de 2 espèces bactériennes différentes. Il est conseillé d'utiliser au minimum des milieux supplémentés en sang et de les incuber en atmosphère aérobie, anaérobie et sous CO₂ (10).

1.3.2.3. Identification

1.3.2.3.1. A partir de la subculture

Toute subculture à partir d'un flacon d'hémoculture doit être identifiée, même s'il s'agit d'un isolat issu d'un patient infecté par une espèce déjà identifiée (10). L'identification

peut avoir lieu par spectrométrie de masse ou par évaluation des caractères biochimiques, en fonction des équipements du laboratoire.

1.3.2.3.2. A partir du bouillon d'hémoculture

Il est aujourd'hui possible de réaliser des identifications par spectrométrie de masse directement à partir du bouillon d'hémoculture positif. Des fabricants commercialisent des kits (par exemple le kit Sepsityper® de Brucker), mais il est aussi possible de réaliser ces identifications sans kit. L'avantage de ces identifications directement à partir des flacons positifs est le gain de temps, en général 24 heures par rapport à l'identification à partir des subcultures des flacons. Une évaluation du kit Sepsityper® montre une réduction moyenne du temps d'identification de 34,3h en situation idéale et 26,5h en situation pratique (35). Selon les études, ces identifications rapides permettraient d'identifier 25% à plus de 80% des espèces retrouvées dans les flacons. Les taux diffèrent selon la méthode utilisée (kit commercial versus les méthodes « maison »), les espèces retrouvées et les scores d'identification acceptés (35)(36)(37)(38)(39)(40)(41)(42).

Ces identifications sont plus rapides mais aussi plus chères, puisqu'il faut tenir compte des consommables et du temps de technique ajouté : en effet, ces identifications ne sont pas adaptées aux cultures polymicrobiennes, et ne peuvent donc pas remplacer la subculture du flacon positif.

1.3.2.4. Evaluation de la sensibilité aux agents anti-microbiens

1.3.2.4.1. A partir de la subculture

L'évaluation de la sensibilité aux anti-microbiens doit être réalisée le plus rapidement possible pour tout micro-organisme isolé potentiellement pathogène. En cas de prélèvement positif multiple, montrant des isolats de la même espèce, l'étude de sensibilité aux anti-infectieux pourra ne pas être répétée sur chaque isolat. Cependant, il faut savoir tenir compte de l'évolution de la sensibilité aux anti-infectieux en cas de suspicion d'échec thérapeutique (10).

1.3.2.4.2. A partir du bouillon d'hémoculture

Il est possible de réaliser un antibiogramme directement à partir du flacon positif d'hémoculture. Pour cela, le CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de

Microbiologie) a émis des recommandations pour la réalisation des antibiogrammes en diffusion (43)(44) ou en milieu liquide (40)(41)(42).

2. Le laboratoire du centre hospitalier d'Abbeville

2.1. Le centre hospitalier d'Abbeville

Le centre hospitalier (CH) d'Abbeville se trouve dans la Somme, dans la région des Hauts-de-France. Il dessert une population de plus de 170 000 habitants et est composé d'un Service d'Accueil et d'Urgence (SAU) avec des équipes de SMUR (Service Mobile d'Urgence et de Réanimation), des services de médecine, chirurgie, obstétrique, psychiatrie, des blocs opératoires, une réanimation, ainsi qu'une hospitalisation à domicile, un établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes, et des services médico-techniques comme le laboratoire de biologie médicale, la pharmacie à usage intérieur et le plateau d'imagerie médicale.

2.2. Le laboratoire du centre hospitalier d'Abbeville

2.2.1. Les activités du laboratoire

Le laboratoire est polyvalent et fonctionne 24h/24 et 7j/7. Il est situé au rez-de-chaussée du site principal du CH, à proximité du SAU. Il est composé de différents secteurs : biochimie / immunologie, hématologie, microbiologie et dépôt de délivrance de produits sanguins labiles. Il prend en charge les analyses des patients hospitalisés, mais dispose également d'un accueil pour les patients extérieurs, qui peuvent être prélevés directement au laboratoire.

En cas d'analyses non effectuées sur place, le laboratoire du CH d'Abbeville dispose du passage régulier de coursiers pouvant transmettre les échantillons à d'autres laboratoires, comme ceux des Centres Hospitaliers Universitaires (CHU) d'Amiens ou de Lille.

2.2.2. La réalisation des hémocultures

2.2.2.1. La stratégie de prélèvement

Depuis 2015, le laboratoire du CH, avec l'appui de l'équipe d'hygiène de la structure, a modifié la stratégie de prélèvement des hémocultures passant du prélèvement multiple au prélèvement unique. Un mode opératoire est disponible dans tous les services de soins afin

de rappeler le bon déroulement du prélèvement des hémocultures, avec notamment l'antisepsie en 4 temps du point de ponction (*Document en Annexe 1*).

2.2.2.2. L'enregistrement et l'incubation

Une fois le prélèvement des hémocultures réalisé, les flacons sont étiquetés avec l'identification du patient, puis mis dans un sachet de transport avec un bon de demande précisant l'analyse demandée, les informations concernant les conditions du prélèvement (identité du préleveur, date et heure du prélèvement, localisation de la ponction), le médecin prescripteur, le service prescripteur ainsi que les renseignements cliniques pertinents (Antibiotiques avant le prélèvement ? Ceux envisagés ? Contexte clinique de la demande ? Fièvre ? Immunosuppression ?). Le prélèvement est ensuite acheminé au laboratoire.

Un technicien ou une secrétaire enregistre le prélèvement via un bon scanné qui crée un dossier dans le système informatique du laboratoire (SIL). Le dossier comporte alors l'analyse « Hémoculture », comprenant l'incubation automatisée. Des étiquettes laboratoire sont éditées et collées sur les flacons, qui sont ensuite incubés dans l'automate BD BACTEC™ FX pour une durée de 5 jours, sauf pour les liquides articulaires et les hémocultures Mycosis qui sont incubées 14 jours, et les hémocultures pour suspicion d'endocardite qui sont incubées 21 jours.

2.2.2.3. La prise en charge d'un flacon positif

En cas de détection d'un flacon positif, une alerte auditive et visuelle est émise dans la pièce technique de microbiologie, ainsi qu'une alerte lumineuse sur l'automate. Les flacons positifs sont traités 24h/24. Un frottis coloré au Gram à partir du bouillon positif est réalisé, ainsi qu'un éventuel état frais, et une subculture sur des géloses. En cas de présence de bactéries ou de levures à l'examen direct, le service de soins est prévenu dans les plus brefs délais, associé à une prise de renseignements cliniques et thérapeutiques. Le mode opératoire utilisé au laboratoire est en Annexe 2.

Après 18 à 24 heures d'incubation, les colonies présentes sur les géloses des subcultures du flacon d'hémoculture positif sont identifiées grâce à l'automate VITEK® 2 de chez bioMérieux. Des tests complémentaires (coloration de Gram, catalase, oxydase, état

frais) sont souvent nécessaires pour choisir les bonnes cartes d'identification. Des cartes d'antibiogramme sont aussi réalisées.

Après plusieurs heures, lorsque l'identification et l'antibiogramme sont disponibles et validés techniquement, le biologiste procède à la validation biologique. Une prestation de conseil peut alors avoir lieu pour aider à l'interprétation des résultats ou si le traitement probabiliste antibiotique mis en place n'est pas adapté et doit être revu.

2.2.3. La place de la qualité

Le laboratoire du CH d'Abbeville est entré dans la démarche d'accréditation selon les normes NF EN ISO 15189 et NF EN ISO 22870 avec l'évaluation initiale qui s'est déroulée en mai 2014. Concernant la microbiologie, l'ouverture de la famille a commencé avec la sérologie infectieuse, qui a été accréditée en 2015, et le reste de la microbiologie sera présentée lors de la prochaine visite fin 2019.

3. Hémostures et accréditation

3.1. COFRAC et démarche d'accréditation

L'ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale (45), rend obligatoire l'accréditation de tous les laboratoires de biologie médicale (LBM) publics et privés en France. Elle vise à garantir leur compétence et la qualité des prestations fournies. Au 31 décembre 2017, la totalité des LBM de France devait avoir accrédité 50% de leur activité. Sur 870 LBM en France, 99,3% ont réussi le pari, 5 doivent justifier la maîtrise des écarts et un LBM s'est vu refuser l'accréditation. La prochaine étape consiste en l'accréditation de la totalité de l'activité des LBM pour le 1^{er} novembre 2020 (46).

Le COFRAC a été créé en 1994 sous le régime de la loi du 1^{er} juillet 1901 (association de droit privé à but non lucratif) et a été désigné comme unique instance nationale d'accréditation par le décret du 19 décembre 2008, reconnaissant ainsi l'accréditation comme une activité de puissance publique. La section Santé Humaine du COFRAC a été créée en octobre 2009, essentiellement dédiée, dans un premier temps, à l'accréditation des LBM. Cette section a aussi en charge l'accréditation des structures d'anatomie et de cytologie pathologiques (ACP), ainsi que l'accréditation des laboratoires de biologie médico-

légale. Son domaine d'intervention pourrait être étendu à terme à de nouveaux actes médicaux techniques comme par exemple l'imagerie médicale.

L'accréditation des LBM est basée sur la norme NF EN ISO 15189, complétée pour des examens de biologie délocalisés par la norme NF EN ISO 22870. Le document COFRAC SH-INF-50 présente les principaux domaines ouverts à ce stade à l'accréditation par la section Santé Humaine.

3.2. Maîtrise des risques

La maîtrise des risques du processus « hémoculture » est réalisée selon la méthode des « 5M » : Matière, Milieu, Matériel, Méthode et Main d'œuvre. De cette maîtrise des risques découle la mise en place de nouveaux indicateurs afin de mieux contrôler les possibles dérives.

3.2.1. Matière – Echantillon

Concernant l'échantillon prélevé, plusieurs risques ont été identifiés. D'abord concernant l'identitovigilance : le prélèvement est-il identifié pour le bon patient ? L'identitovigilance est la même que ce soit pour l'hémoculture ou les autres analyses du laboratoire. Une procédure existe pour maîtriser au mieux ce paramètre. Il en est de même pour la prescription et l'enregistrement de l'analyse : ces étapes ne sont pas spécifique au processus « hémoculture » et ont déjà été maîtrisées pour d'autres analyses.

La qualité du prélèvement, quant à elle, est spécifique au prélèvement des hémocultures puisque les flacons prélevés sont uniquement destinés au processus « hémoculture ». Deux risques ont été clairement identifiés : la contamination de l'échantillon au moment du prélèvement et un volume de remplissage des flacons inadapté.

3.2.2. Milieu - Environnement

L'automate se situe dans la salle technique principale, dont la métrologie est déjà maîtrisée et accréditée. Concernant le délai d'acheminement des échantillons, il est vérifié à réception : une non-conformité est enregistrée lorsque celui-ci n'est pas respecté, voir l'analyse annulée. Pour les hémocultures, le prélèvement doit être acheminé sans délai au laboratoire à température ambiante. Les flacons inoculés doivent être incubés dans l'automate dès que possible. D'après la SFM (10), le délai optimal est de 12 heures et le délai

acceptable est de 24 heures. Le fournisseur, lui, recommande d'incuber les flacons dans l'automate dans les 48 heures après le prélèvement (33).

3.2.3. Matériel – Equipement

Les performances de l'automate d'incubation sont suivies par des maintenances préventives (quotidiennes, mensuelles et annuelles par le fournisseur). Le passage de contrôles interne de qualité (CIQ) sur un automate d'hémoculture n'est pas recommandé par la SFM (47). Le bon fonctionnement des cellules d'incubation/détection est un point critique, mais ces cellules sont toutes indépendantes les unes des autres : passer un CIQ ne permettrait de contrôler qu'une seule des cellules.

La SFM recommande aussi d'effectuer un suivi régulier du taux de faux-positifs (47). Si celui-ci augmente de façon anormale, il peut être le signe d'un dysfonctionnement de l'automate qu'il convient d'investiguer.

Les différents logiciels utilisés sont la cible de sauvegardes régulières. Les connexions informatiques entre l'automate et le SIL sont contrôlées régulièrement.

Les flacons sont stockés à température ambiante dans une pièce dont la métrologie est contrôlée avant d'être distribués aux services de soins qui en font la demande.

3.2.4. Méthode

De nombreuses études ont évalué les couples flacons-automate (48)(49) : la fertilité des milieux s'avère satisfaisante pour tous les couples.

De plus, la SFM recommande un suivi de l'écologie des espèces isolées des hémoculture, identifiées au laboratoire (47).

3.2.5. Main d'œuvre - Personnel

L'habilitation et le maintien des compétences concernant les différentes étapes du processus « hémoculture » sont réalisés pour tout le personnel susceptible d'effectuer ces tâches. Ces habilitations sont gérées directement par la personne en charge des ressources humaines du laboratoire et le biologiste en charge du secteur.

3.3. Les indicateurs à mettre en place

3.3.1. Volume de remplissage

Le volume de remplissage est un paramètre essentiel à surveiller puisqu'il conditionne directement la qualité de l'échantillon et la sensibilité diagnostique de la méthode (47). En théorie, la limite de détection est de 1 UFC (Unité Formant Colonie) viable par flacon d'hémoculture. Mais en pratique, l'évaluation de la sensibilité diagnostique est difficile en raison de l'absence de gold standard : les bactéries ont des charges sanguines variables en fonction des espèces et des sites infectieux initiaux. Elle peut néanmoins être appréciée au moyen du volume de sang mis en culture. D'après différentes études, le volume optimal de remplissage est calculé par épisode septique : plus ce volume total de remplissage est important, plus la sensibilité de la méthode augmente (15).

Deux approches sont donc possibles en pratique pour évaluer le volume de remplissage : soit par flacon soit par épisode (c'est à dire la totalité du volume de sang mis en culture par 24 heures). Selon les possibilités du laboratoire, le contrôle des volumes peut se faire par pesée des flacons, par contrôle visuel de remplissage des flacons au moyen d'abaques ou par l'automate. Et il peut s'agir d'un contrôle réalisé ponctuellement lors d'audits ou par une mesure systématique (47).

Les recommandations françaises de microbiologie conseillent un volume optimal de 40 à 60 mL par épisode, soit 4 à 6 flacons correctement remplis, c'est à dire 8 à 10 mL de sang par flacon. Un volume supérieur n'augmente pas la sensibilité de manière significative (15). Il y a donc un consensus pour limiter le nombre d'hémocultures à 3 paires par épisode septique et par tranche de 24 heures (10).

3.3.2. Taux de contamination

Le taux de contamination est un paramètre concernant le pré-analytique et c'est un indicateur intéressant à surveiller (47) puisqu'il est le reflet de la spécificité diagnostique et de la méthode de prélèvement. En effet, il n'est pas simple de déterminer si une hémoculture est contaminée par la flore cutanée au moment du prélèvement ou s'il s'agit d'une bactériémie vraie ayant pour origine une bactérie de la flore commensale cutanée, entraînant alors des difficultés au moment de l'interprétation. Le nombre d'hémocultures contaminées est aussi à mettre en relation avec le nombre de cathéters veineux posés et sur

lesquels sont prélevées les hémocultures, pour des questions de facilité de prélèvement (50).

Le dialogue clinico-biologique est alors indispensable afin de discerner la bactériémie vraie à espèce commensale, de la contamination lors du prélèvement. Ces deux cas de figure sont à distinguer, car la prise en charge n'est pas la même. Il existe de nombreux inconvénients et risques à traiter une fausse bactériémie : l'allergie, les sur-coûts, la pression de sélection de bactéries multi-résistantes (BMR), le risque d'induire une infection à *Clostridium difficile* notamment (51)(52).

Nature du micro-organisme isolé	Nombre de flacons positifs	Nombre total d'HC réalisées	Renseignements cliniques	Conduite à tenir
Staphylocoque à coagulase négative, <i>Propionibacterium acnes</i> , <i>Streptococcus α-hémolytique</i> , <i>Bacillus spp</i>	1 ou 2 d'une même paire	≥ 2	Pas d'orientation clinique	Contamination probable
			Service d'onco-hématologie, réanimation, cathéter central, infection associée aux soins	Réaliser ID et ATB avec la mention « A interpréter en fonction de la clinique et de l'antisepsie du prélèvement »
		1	Service de néonatalogie	Réaliser ID et ATB
	1	Quel que soit le contexte	Réaliser ID et ATB avec la mention « Valeur prédictive positive faible. A interpréter en fonction de la clinique et de l'antisepsie du prélèvement »	
> 2 de deux paires différentes	≥ 2	Quel que soit le contexte	Réaliser ID et ATB sans restriction	
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus β-hémolytique</i> , <i>Enterococcus spp</i> , Entérobactéries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida spp</i> , Anaérobies, <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Haemophilus spp</i> , Groupe HACCEK, <i>Brucella spp</i> , <i>Pasteurella spp</i> , <i>Campylobacter spp.</i>	≥ 1	Quel que soit le nombre total	Quel que soit le contexte	Réaliser ID et ATB/ATF sans restriction
ID : Identification. ATB : Antibiogramme. ATF : Antifongigramme. SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative.				

Tableau 8 - Interprétation des hémocultures lors d'un prélèvement multiple (10)

Nature du micro-organisme isolé	Nombre de flacons positifs	Nombre total de flacons prélevés	Renseignements cliniques	Conduite à tenir
<i>Staphylocoque à coagulase négative, Propionibacterium acnes, Streptococcus α-hémolytique, Bacillus spp...</i>	1	4 à 6	Pas d'orientation clinique	Contamination probable
			Service d'onco-hématologie, réanimation, cathéter central, infection associée aux soins	Réaliser ID avec la mention : « Valeur prédictive positive faible. ATB sur demande. A interpréter en fonction de la clinique et de antisepsie du prélèvement ».
		1 ou 2	Service de néonatalogie	Réaliser ID et ATB
	2 - 3	4 à 6	Quel que soit le contexte	Réaliser ID +/- ATB avec la mention « Une seule HC réalisée ; valeur prédictive positive faible. A interpréter en fonction de la clinique et de antisepsie du prélèvement ».
				Réaliser ID sur tous les flacons et l'ATB sur un flacon (sur 2 flacons distincts en cas de SCN) avec la mention « A interpréter en fonction de la clinique et de l'antisepsie du prélèvement ».
> 3	4 à 6	Quel que soit le contexte	Réaliser sans restriction ID sur plusieurs flacons et ATB sur un flacon (sur 2 flacons en cas de SCN)	
<i>Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus β-hémolytique, Enterococcus spp, Entérobactéries, Pseudomonas aeruginosa, Candida spp, Anaérobies, Neisseria meningitidis, Haemophilus spp, Groupe HACCEK, Brucella spp, Pasteurella spp, Campylobacter spp</i>	≥ 1	6	Quel que soit le contexte	Réaliser ID et ATB/ATF sans restriction
ID : Identification. ATB : Antibiogramme. ATF : Antifongigramme. SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative.				

Tableau 9 - Interprétation des hémocultures lors d'un prélèvement unique (10)

Selon la SFM (47), la contamination est définie, en cas de prélèvement multiple, par un seul échantillon positif à un germe habituellement contaminant sur plusieurs échantillons prélevés. En cas de prélèvement unique, la contamination est plus difficile à identifier et sera toujours établie après une documentation clinico-biologique.

Il y a donc un réel intérêt à suivre ce taux de contamination. Le but de ce suivi est de minimiser ce taux. Lorsque celui-ci est considéré comme trop important, il faut envisager de mettre en place des actions pour le faire diminuer. De nombreuses publications se sont accordées sur un objectif acceptable de contamination des hémocultures inférieur à 3% de la totalité des hémocultures prélevées (11).

3.3.3. Taux de positivité par instrument et par tiroir

Pour contrôler le bon fonctionnement de l'automate d'incubation des hémocultures, il serait tentant de mettre en place le passage régulier d'un contrôle interne de qualité (CIQ). Mais cela n'est pas recommandé en pratique, puisque chaque cellule de détection est indépendante l'une de l'autre : il faudrait alors passer un CIQ régulièrement dans chaque cellule de détection, ce qui est beaucoup trop long, coûteux et inadapté pour une activité de routine. Pour suivre le bon fonctionnement de l'automate, la SFM conseille de surveiller régulièrement le taux de positivité par instrument et par tiroir (47).

Ce taux permet de s'assurer que tous les instruments et tiroirs fonctionnent correctement et détectent de manière homogène le même nombre de flacons positifs, disposés aléatoirement dans les différents tiroirs. Il s'agit d'un indicateur surveillant la phase analytique de l'incubation automatisée.

3.3.4. Taux de faux-positifs analytiques

Les flacons correspondant à de faux-positifs analytiques sont des flacons détectés positifs par l'automate mais ne contenant pas de micro-organisme : les subcultures sont alors négatives. Ces faux-positifs ont des origines diverses et variées : une hyperleucocytose, un sur-remplissage du flacon, une erreur de l'algorithme de détection par l'automate due à une inversion entre flacon aérobie et flacon anaérobie (15)(47). Le suivi de ces faux-positifs analytiques permet la surveillance d'une dysfonction de l'automate ou des flacons-réactifs.

Des publications ont défini un taux acceptable de faux-positifs inférieur à 1% de la totalité des flacons incubés (15). Au delà, il est convenu que ce n'est pas normal et qu'il faut investiguer sur l'origine de ces faux-positifs.

3.3.5. Proportion d'espèces retrouvées

La SFM recommande la surveillance des espèces retrouvées dans les hémocultures, afin de s'assurer de la bonne détection d'espèces à culture fastidieuse, comme les streptocoques déficients par l'automate (47).

4. Objectifs du travail

Ce travail de thèse s'intègre dans la démarche qualité du laboratoire du CH d'Abbeville. Il vise à mieux maîtriser le processus hémoculture afin d'améliorer la prise en charge au laboratoire des échantillons, mais aussi de présenter le processus à l'accréditation.

Suite à l'évaluation des risques liés au processus hémoculture, les objectifs de ce travail étaient de :

- mettre en place cinq indicateurs : le volume de remplissage des flacons, le taux de contamination, le taux de positivité par tiroir, le taux de faux positifs analytiques, et l'écologie microbienne isolée des hémocultures
- définir la fréquence de relevé ainsi que les objectifs à atteindre pour chacun
- faire un suivi sur plusieurs mois pour évaluer la pertinence de chaque indicateur et de leur intérêt dans la maîtrise du processus hémoculture.

1. L'automate et les flacons d'hémoculture

Le laboratoire du CH d'Abbeville est équipé de l'automate BACTEC™ FX de la société BD depuis le 5 juillet 2013. Il est composé de 4 tiroirs glissants disposés en pile. Chaque tiroir contient 100 alvéoles, soit une capacité totale de l'automate de 400 flacons incubés en même temps. Il dispose d'une interface utilisateur tactile.



Figure 3 - L'automate d'incubation automatisée du CH d'Abbeville

Les flacons utilisés sont ceux du même fournisseur BD. Quatre flacons différents sont utilisés au CH d'Abbeville : aérobie, anaérobie, mycosis et pédiatrique, dont les références sont les suivantes.

	Flacon aérobie	Flacon anaérobie	Flacon mycosis	Flacon pédiatrique
Références	BD BACTEC™ Plus Aerobic/F	BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F	BD BACTEC™ Mycosis IC/F	BD BACTEC™ Peds Plus
Code de référence	442023	442021	442026 / 442206	442194
Atmosphère	CO ₂	CO ₂ et N ₂	CO ₂	CO ₂
Composition du milieu	Bouillon Trypticase Soja digéré SPS Hémine			
	Résine pour inhiber les antibiotiques	Saponine (agent de lyse)	Chloramphénicol Tobramycine	Résine pour inhiber les antibiotiques

Tableau 10 - Flacons d'hémoculture utilisés au laboratoire du CH d'Abbeville

L'insertion des flacons d'hémoculture dans l'automate se fait les uns à la suite des autres pour que toutes les cellules soient utilisées à la même fréquence. Un tiroir est entièrement réservé aux incubations prolongées (flacons mycosis, suspicion d'endocardite) et aux liquides de ponction.

2. Scan'Bac

Lors de l'enregistrement d'un dossier au laboratoire du CH d'Abbeville, le bon de demande est scanné et lu par le logiciel Scan'Bac de la société 3SI. Nous avons réalisé un paramétrage pour que le volume de remplissage de chaque flacon soit systématiquement demandé lors de l'enregistrement d'une paire d'hémoculture. Cette information est ensuite envoyée dans le SIL en information complémentaire de la demande.

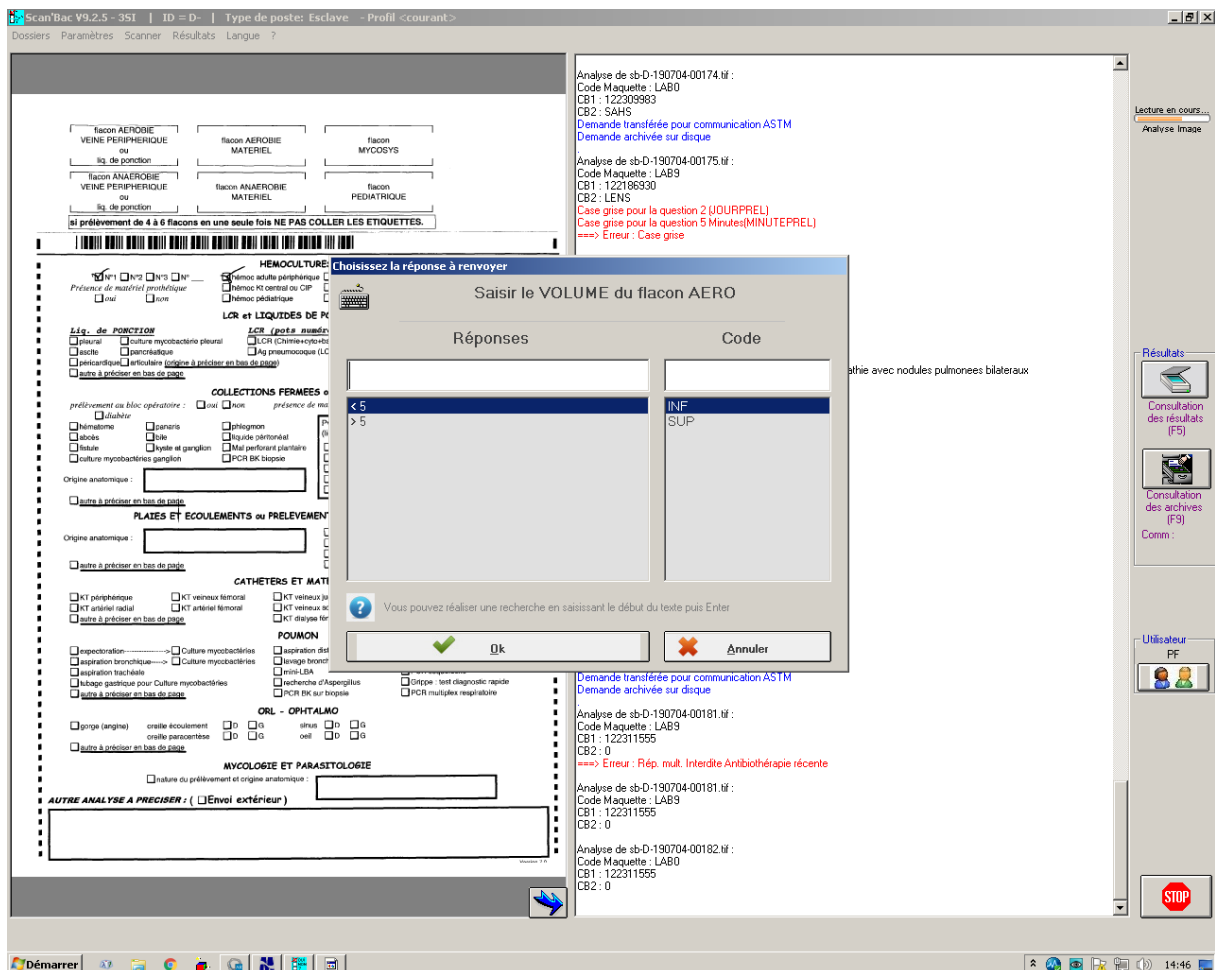


Figure 4 - Renseignement demandé lors de l'enregistrement d'une paire d'hémoculture

3. Le système informatique du laboratoire

Le SIL du CH d'Abbeville est DxLab, de la société MEDASYS. C'est par ce logiciel que les données sont extraites, mais aussi que des scripts ont été créés afin par exemple d'ajouter un commentaire automatique d'alerte sur le compte-rendu.

3.1. Recherche multi-critères

La recherche multi-critères du logiciel DxLab permet d'extraire des données du SIL qui sont ensuite exploitées pour créer les indicateurs. Cette recherche multi-critères va sélectionner les dossiers en fonction de critères d'extraction. Ensuite, les données d'intérêt liées à ces dossiers sont sélectionnées, comme par exemple l'identité du patient ou le résultat de l'analyse d'intérêt. Différentes recherches multi-critères peuvent être sauvegardées pour des utilisations répétées.

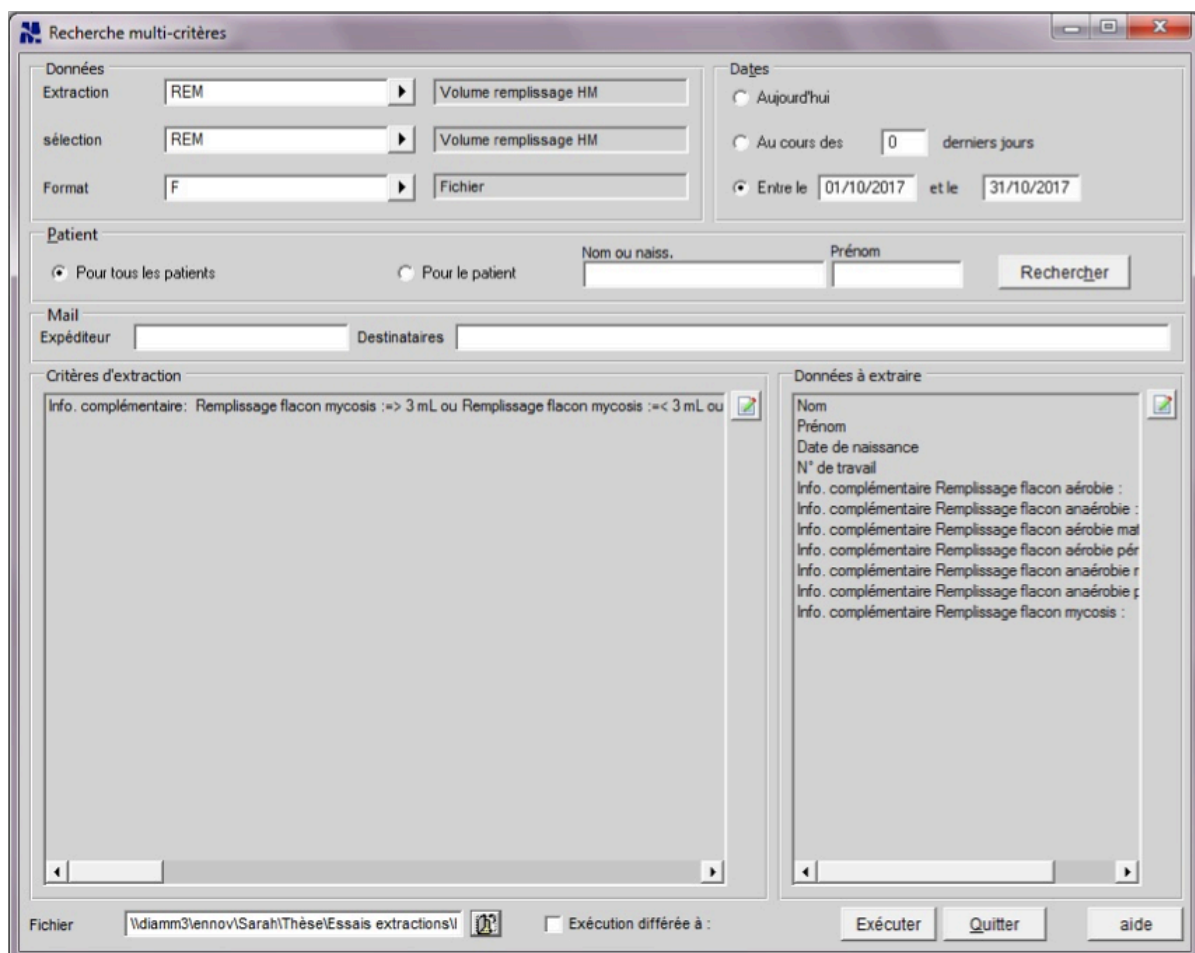


Figure 5 - Recherche multi-critères pour le taux de remplissage des flacons

3.1.1. Critères d'extraction

Les critères d'extraction, dans le cadre des indicateurs sur les hémocultures, vont principalement servir à sélectionner les dossiers contenant l'analyse « hémoculture ». Seule la recherche concernant le volume de remplissage n'utilisera pas l'analyse « hémoculture » comme critère d'extraction, mais plutôt les dossiers comprenant une information complémentaire sur le volume, pour exclure les hémocultures pédiatriques.

3.1.2. Données à extraire

Les données à extraire vont varier selon les indicateurs d'intérêt. Dans tous les cas, les informations concernant le patient (nom, prénom et date de naissance) ont été récupérées, tout comme celles sur le prélèvement (numéro de travail et date du prélèvement). Pour le volume de remplissage, les résultats de l'information complémentaire (volume supérieur ou inférieur à une limite définie) sont extraits. Pour le taux de contamination, le texte codé du commentaire de la culture a été extrait. Et pour les faux-positifs, le résultat de l'examen direct a été récupéré. Les modes opératoires réalisés pour chaque indicateur avec une recherche multi-critères ont été mis en Annexe 3.

3.2. Mise en place de scripts

Le SIL permet de réaliser des scripts afin de programmer automatiquement l'ajout d'analyse ou la saisie de résultats. Un script a été créé afin qu'un commentaire soit automatiquement ajouté lorsqu'un flacon est insuffisamment rempli et a une culture négative. Ce commentaire est le suivant : « *Flacon insuffisamment rempli (< 5 mL), pouvant diminuer la sensibilité de l'analyse. Pour rappel, le volume optimal de remplissage des flacons d'hémoculture est de 8 à 10 mL* ». Il est nécessaire pour alerter le clinicien afin d'aider à l'interprétation des résultats et faire un rappel des bonnes pratiques lors du prélèvement (sensibilisation des préleveurs par le prescripteur).

4. Excel

Le logiciel Excel de Microsoft a été utilisé pour réaliser les statistiques liées aux données récoltées par le SIL issues des recherches multi-critères. Les données récoltées sont sous forme de liste, il faut donc les comptabiliser au moyen de différentes formules d'Excel, comme « NB » qui détermine le nombre de cellules non vides, ou « NB.SI » qui détermine le

nombre de cellules non vides remplissant une condition à définir. Ensuite, des pourcentages sont réalisés pour chaque indicateur :

- Pour le volume de remplissage, le nombre de flacons ayant l'information complémentaire « volume insuffisant » par rapport au nombre total de flacons ayant une information complémentaire de volume.
- Pour le taux de contamination, le nombre de dossiers d'hémoculture ayant le commentaire « Hémoculture contaminée » par rapport au nombre total de dossiers d'hémocultures.
- Pour le taux de faux-positifs analytiques, le nombre de dossiers d'hémocultures ayant « Absence » comme résultat de l'examen direct par rapport au nombre total de dossiers d'hémocultures.

Les modes opératoires précis de chaque indicateur sont présents en Annexe 3.

5. EpiCenter™

L'automate d'incubation des hémocultures est combiné au logiciel BD EpiCenter™, un système de gestion des données démographiques des patients, pouvant réaliser des requêtes et des rapports avancés à partir de l'automate d'incubation.

Le module BVM (Blood Volume Monitoring) est une option de BD EpiCenter™ qui fournit des rapports d'estimation du volume sanguin pour les flacons aérobies. Le principe part du fait que les globules rouges utilisent le glucose comme source d'énergie. Cette activité métabolique est détectée sous la forme d'un changement constant de signal pendant l'incubation du flacon aérobie. La vitesse de métabolisation étant proportionnelle au volume sanguin, un calcul est fait à partir de cette vitesse de métabolisation pour estimer le volume sanguin initial dans le flacon (53).

Le module BVM propose le rapport « Résumé du volume sanguin » qui permet de calculer un volume moyen de remplissage. Etant donné qu'il s'agit d'une estimation faite à partir de l'activité des hématies, seuls les flacons aérobies sont pris en compte (les flacons anaérobies possèdent des agents lysant les globules rouges). De plus, pour ne pas fausser les résultats par la croissance microbienne lorsqu'elle existe, les flacons détectés positifs sont exclus de l'estimation. Il est aussi à noter que si moins de 25 flacons sont estimés par service, ces flacons ne font pas partie du calcul du volume moyen.

Le logiciel BD EpiCenter™ permet aussi de suivre le taux de positivité par instrument et par tiroir, en donnant directement le nombre de flacons positifs et négatifs par tiroir sur la période demandée, via le rapport « Taux de positivité par instrument et par tiroir ».

6. INFECTIO.GLOBAL

Le logiciel INFECTIO.GLOBAL, de la société Partner4lab est un logiciel connecté au SIL afin de récupérer l'ensemble des données de microbiologie validées et exportées vers le serveur de résultats patient du CH. Il possède aussi une connexion avec le logiciel de mouvements patients, permettant de suivre le parcours du patient dans l'établissement.

C'est grâce à ce logiciel qu'est effectuée l'épidémiologie des espèces retrouvées dans les hémocultures. Une recherche a été créée et enregistrée pour extraire les micro-organismes identifiés sur les dossiers d'hémoculture, ainsi que leur fréquence. Les données sont extraites dans un fichier Excel.

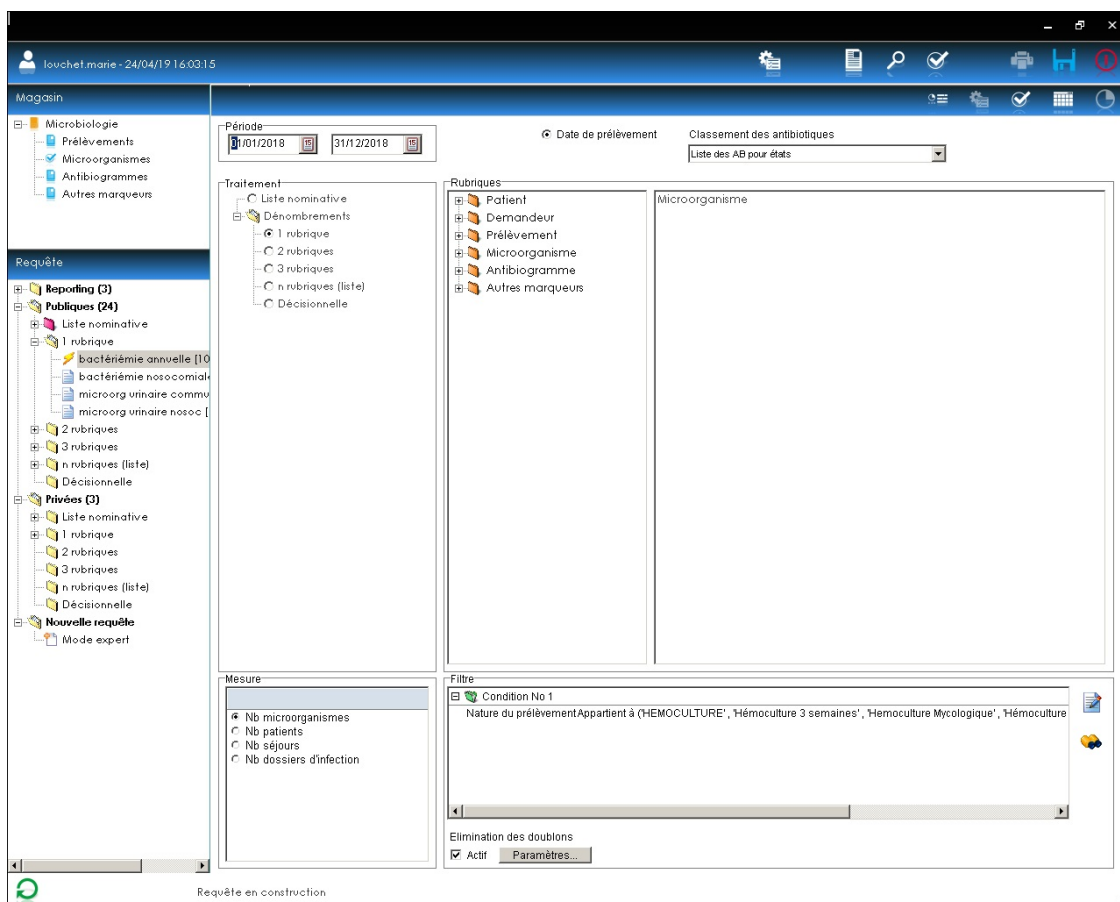


Figure 6 - Extraction des espèces isolées d'hémocultures par INFECTIO.GLOBAL

7. Balance

Une balance a été utilisée pour peser les flacons d'hémoculture afin d'en estimer le volume de remplissage au moment de l'enregistrement.

Tous les flacons d'hémoculture, avant remplissage, n'ont pas le même poids. La tare à effectuer, correspondant au flacon en lui-même et au bouillon initialement présent, ne peut pas être réalisée sur tous les flacons avant que les flacons ne soient confiés aux services. Il a été choisi de faire une moyenne de la masse d'un flacon vide, et de la retrancher à la masse du flacon une fois celui-ci rempli. Ainsi, on peut avoir une estimation de la masse de sang ajoutée dans le flacon, et d'en calculer le volume estimé de sang grâce à la densité moyenne du sang de 1.060 (54).

8. Abaques de volume

La société BD ne fournit pas de solution pour estimer directement le volume de remplissage des flacons. Il a donc fallu créer des abaques visuels. Pour cela, des flacons vides d'hémoculture ont été remplis d'un volume connu d'eau physiologique et des repères ont été apposés sur une réglette en carton. Trois abaques différents ont été réalisés, un pour chaque type de flacon.

Plusieurs versions d'abaques ont été réalisées suivant l'évolution des besoins du laboratoire. La première version comporte les limites de remplissage de 0, 3, 5, 8 et 10 mL. Les versions suivantes n'ont plus comporté que la limite acceptable par le laboratoire (3 puis 5 mL). Enfin, une limite haute, de 15 mL a été ajoutée sur la dernière version afin de contrôler le sur-remplissage des flacons.

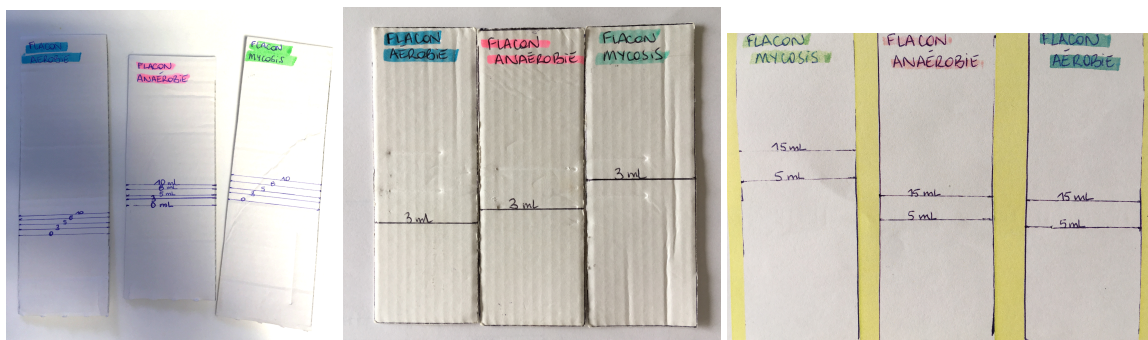


Figure 7 – Plusieurs versions des abaques de volume de remplissage des flacons d'hémoculture

Les flacons pédiatriques ne sont pas concernés par ces abaques visuels, du fait de la variabilité du volume à prélever en fonction du poids de l'enfant (*voir* Tableau 5), et aussi du fait que les volumes peuvent être très faibles, et donc difficilement visualisables à l'œil.

Résultats

1. Volume de remplissage

1.1. Comparaison entre pesée et abaques

Afin de déterminer la meilleure méthode pour l'estimation du volume de remplissage des flacons, 474 flacons ont été soumis à deux méthodes d'estimation du volume de remplissage : la pesée au moyen d'une balance, et l'estimation visuelle au moyen d'abaques. Cette étude a été menée du 30 août au 4 octobre 2017.

La pesée a d'abord nécessité de déterminer la masse moyenne des flacons d'hémoculture vides, afin de pouvoir la soustraire à celle de chaque flacon rempli.

	Flacon aérobic n = 10	Flacon anaérobic n = 10	Flacon mycosis n = 10
Références	BD BACTEC™ Plus Aerobic/F	BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F	BD BACTEC™ Mycosis IC/F
Code de référence	442023	442021	442026 / 442206
Masse moyenne du flacon vide (en g)	59,8	65,3	146,5

Tableau 11 - Masse moyenne des flacons d'hémoculture vides

La pesée des flacons, après la déduction de la masse moyenne d'un flacon vide et la conversion de la masse en volume, permet d'avoir une valeur du volume de sang dans le flacon. L'estimation visuelle, elle, donne une fourchette de l'estimation du volume de remplissage, puisque les limites apposées sur les abaques sont de 0, 3, 5, 8 et 10 mL. L'apparente meilleure précision de la pesée est à relativiser du fait de la moyenne faite sur la masse d'un flacon vide, et de la conversion de la masse en volume via la masse volumique moyenne du sang.

La répartition du volume de remplissage selon les deux méthodes de mesure est la suivante.

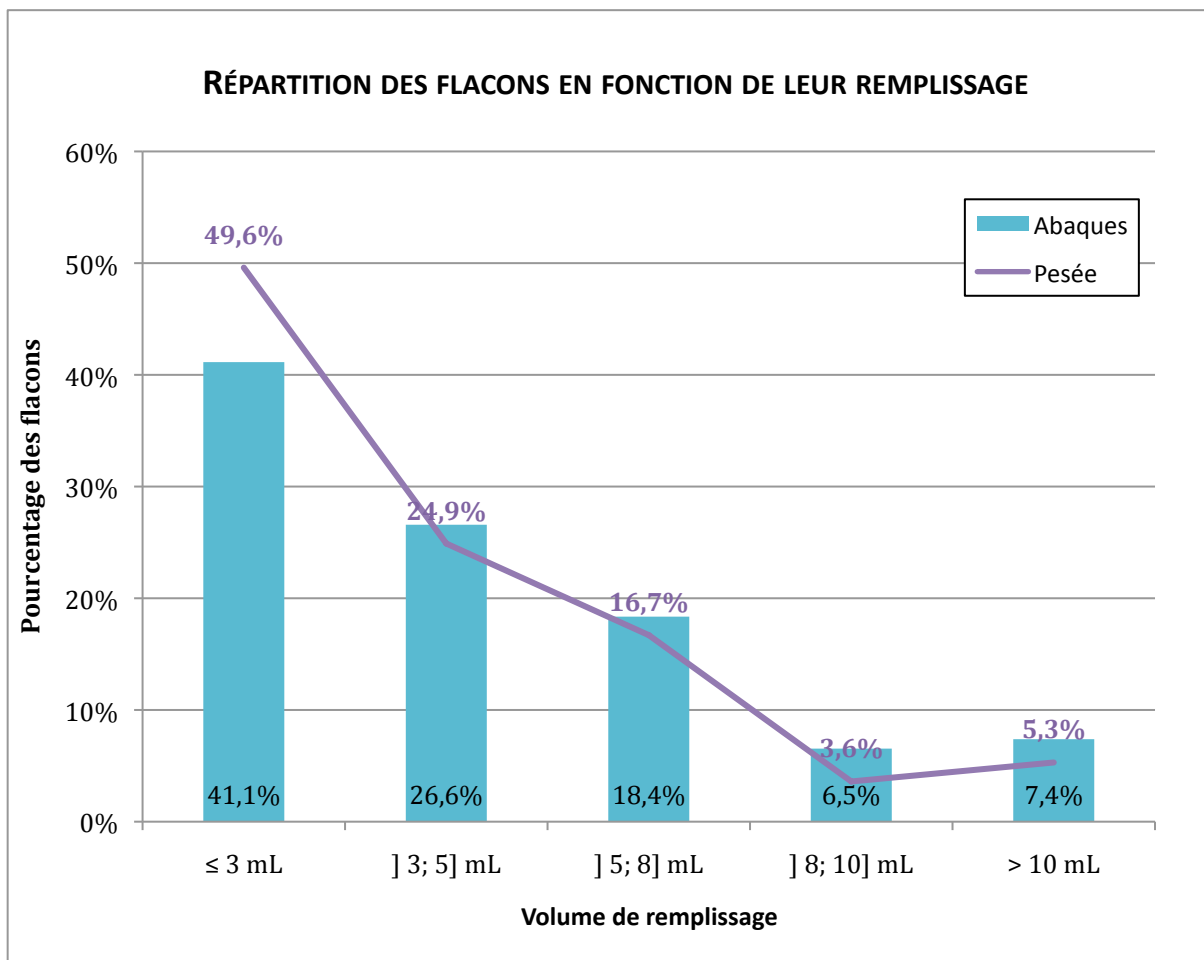


Figure 8 - Répartition des volumes de remplissage des flacons par la pesée et par les abaques visuels

La corrélation entre les 2 méthodes d'estimation est de 0.861. Les deux méthodes d'estimation du volume sont similaires et donnent à peu près les mêmes résultats. On remarque que plus de 40% des flacons sont remplis avec 3 mL ou moins de sang. Et en suivant les recommandations fournisseurs, seulement 3.6 à 6.5% des flacons sont correctement remplis avec 8 à 10 mL de sang.

1.2. Taux de flacons suffisamment remplis

À partir d'octobre 2017, l'estimation du volume de remplissage de chaque flacon d'hémoculture reçu au laboratoire est réalisée uniquement avec les abaques visuels.

Le taux de flacons suffisamment remplis se fait à partir des données du SIL : une recherche multi-critères a été créée pour extraire tous les dossiers comportant l'analyse hémoculture avec l'information complémentaire renseignant le volume de remplissage estimé au moment de l'enregistrement au laboratoire.

L'objectif à atteindre pour cet indicateur a été fixé à plus de 80% des flacons suffisamment remplis. La fréquence de relevé a été fixée de façon mensuelle. Dans un premier temps le volume acceptable était fixé à 3 mL, limite minimale du fournisseur. Puis au vu des résultats satisfaisants, celui-ci a été modifié à 5 mL à partir du mois d'août 2018.

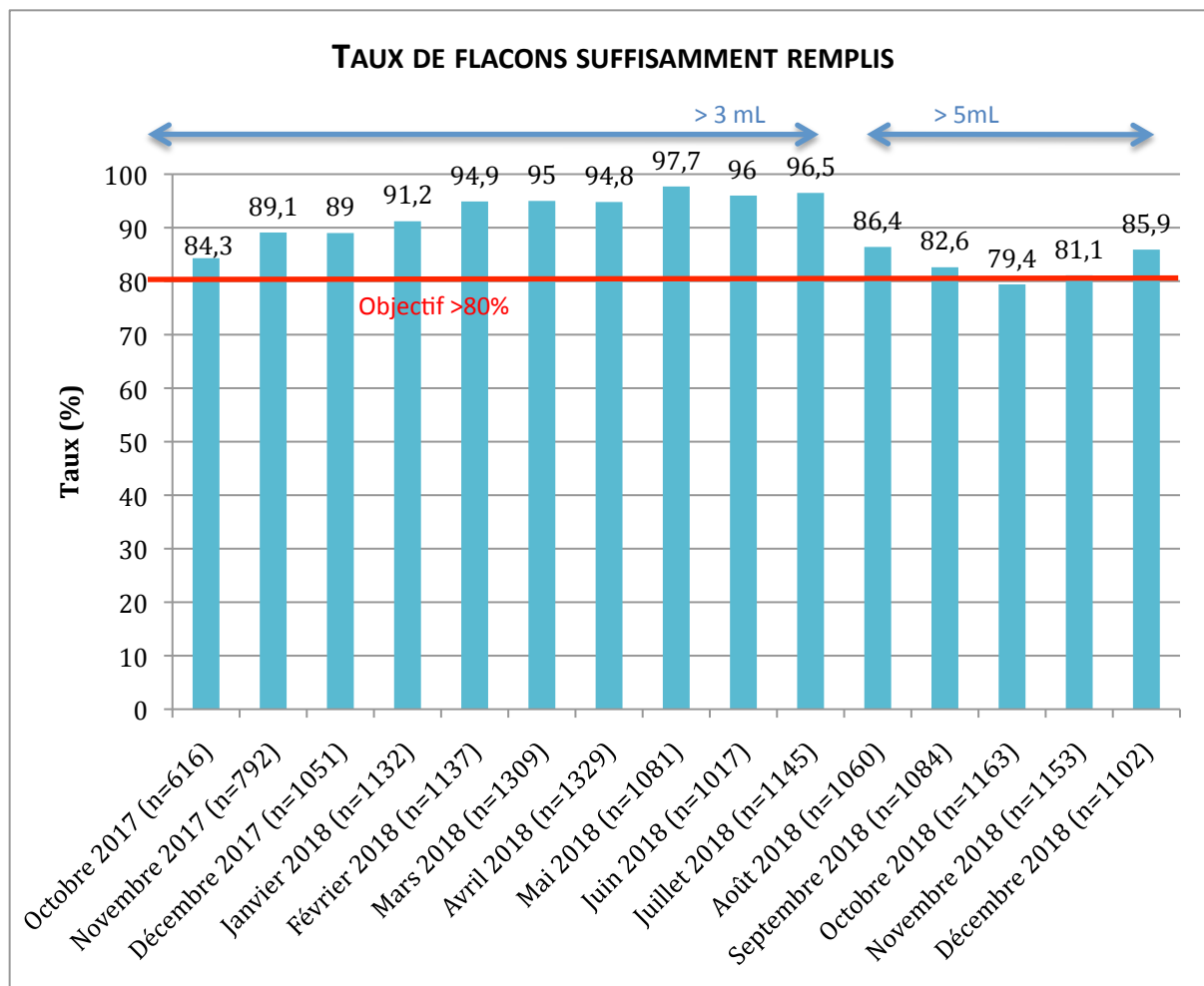


Figure 9 - Taux de flacons suffisamment remplis

Entre octobre 2017 et décembre 2018, tous les taux de remplissage sont au dessus de l'objectif de 80% des flacons remplis correctement, sauf pour le mois d'octobre 2018, avec un taux de flacons suffisamment remplis à 79,4%.

Une légère baisse du taux de remplissage suffisant a lieu après le mois d'août 2018, correspondant au changement de la limite acceptable, passant de 3 à 5 mL.

1.3. Volume moyen de remplissage

Le volume moyen de remplissage est un indicateur récupéré directement par BD EpiCenter™ à partir des données de l'automate BD BACTEC™ FX. Ces données étant calculées automatiquement, il est possible de les récupérer depuis la mise en service du BD BACTEC™ FX.

L'objectif choisi pour le volume moyen est d'avoir un volume moyen de remplissage des flacons entre 8 et 10 mL, ce que recommandent le fournisseur et la littérature. La fréquence de relevé a été définie de façon mensuelle, tout comme le relevé du taux de remplissage.

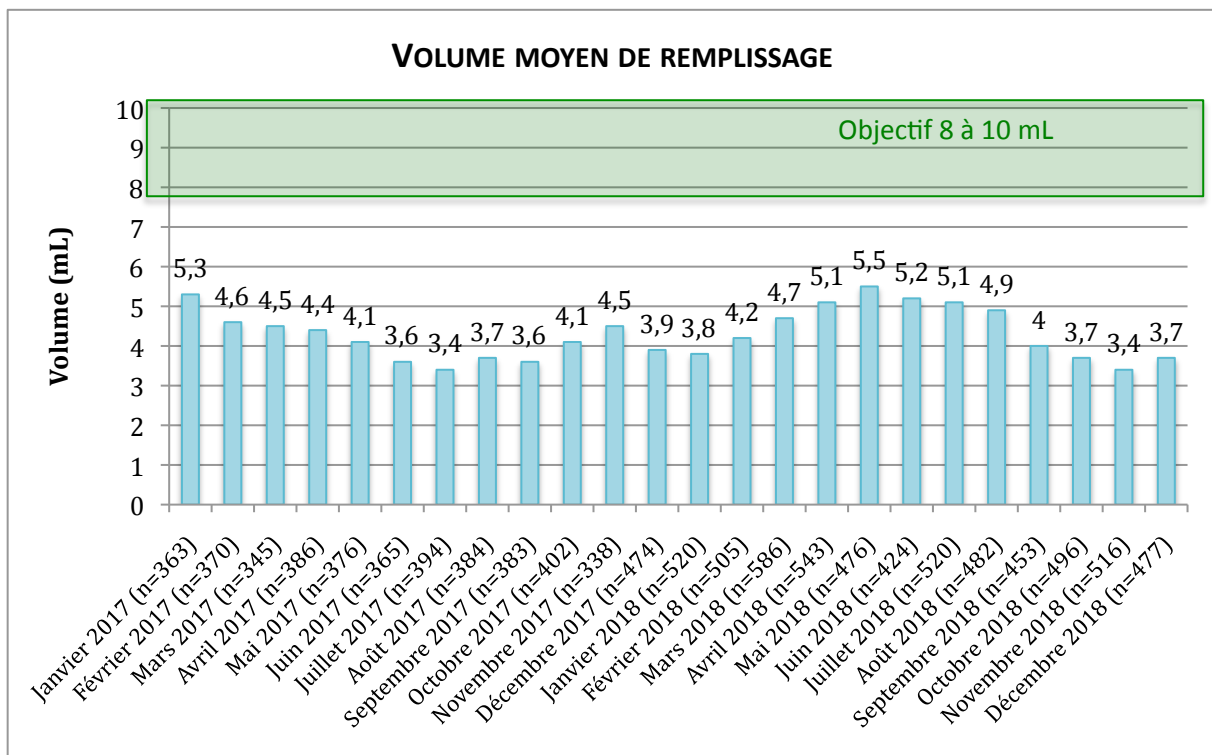


Figure 10 - Volume moyen de remplissage des flacons aérobies

Sur 2 ans, la moyenne de remplissage des flacons se situe entre 3.4 et 5.5 mL, soit jamais en dessous de 3 mL, la limite inférieure que préconise le fournisseur. Mais la moyenne de remplissage n'atteint jamais 8 mL, l'objectif à atteindre.

2. Taux de contamination

Le taux de contamination est réalisé à partir des données du SIL et de la recherche multi-critères. Il s'agit du rapport de dossiers d'hémocultures ayant le commentaire de contamination sur le nombre total de dossiers d'hémocultures.

L'objectif fixé est celui préconisé par la littérature : avoir un taux de contamination inférieur à 3% de la totalité des flacons incubés (15)(47)(50)(52). La fréquence de relevé de cet indicateur au laboratoire du CH d'Abbeville a été définie comme trimestrielle.

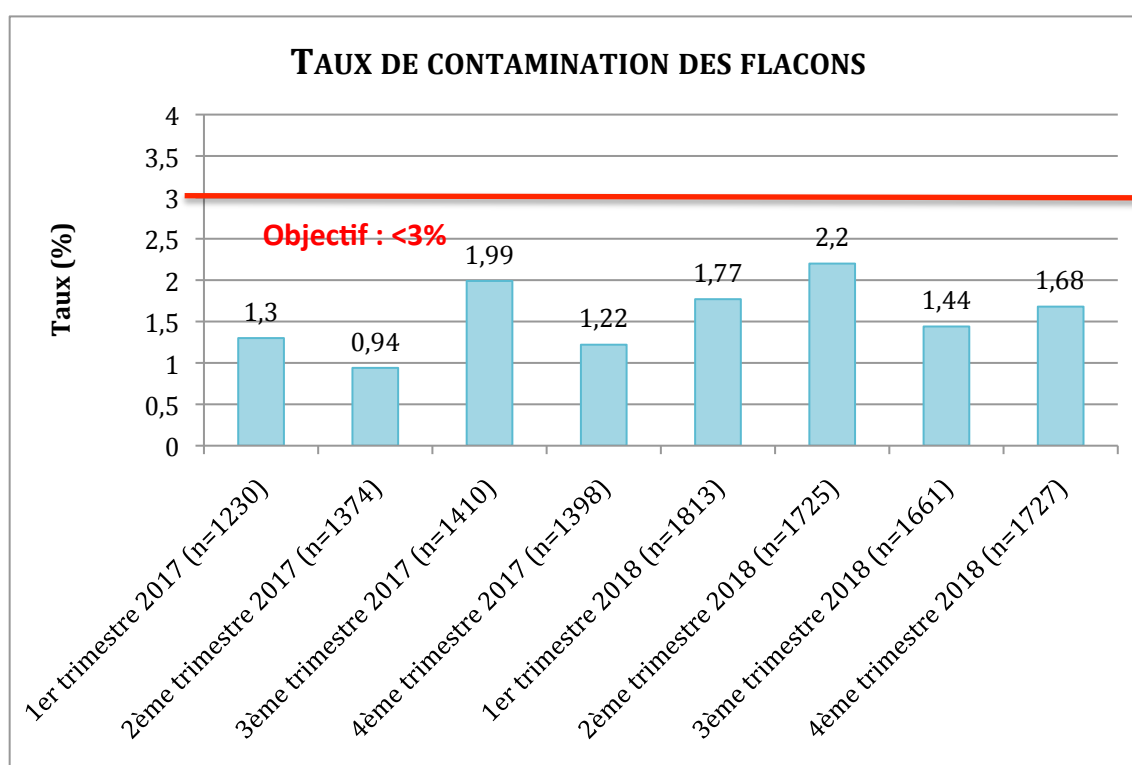


Figure 11 - Taux de contamination des flacons d'hémoculture

Sur 2 ans de relevé du taux de contamination, aucun relevé trimestriel ne comporte plus de 3% de contamination des flacons d'hémoculture.

3. Taux de positivité par instrument et par tiroir

Le taux de positivité par instrument et par tiroir est un indicateur récupéré directement par BD EpiCenter™ à partir des données de l'automate BD BACTEC™ FX.

Il existe peu de bibliographie quant au suivi de ce paramètre. L'objectif à atteindre a donc été fixé en fonction de l'écologie d'Abbeville et des habitudes de prescription à l'hôpital. Depuis la mise en service de l'automate (période du 01.08.13 au 23.08.17), le taux de positivité de l'ensemble des flacons incubés (soit 40 161 flacons) est de 13.36%. L'objectif fixé était donc de 13.5% +/- 5%, soit entre 8.5 et 18.5%.

La fréquence de relevé a été fixée à une fréquence trimestrielle, afin d'avoir des effectifs suffisants pour être significatifs.

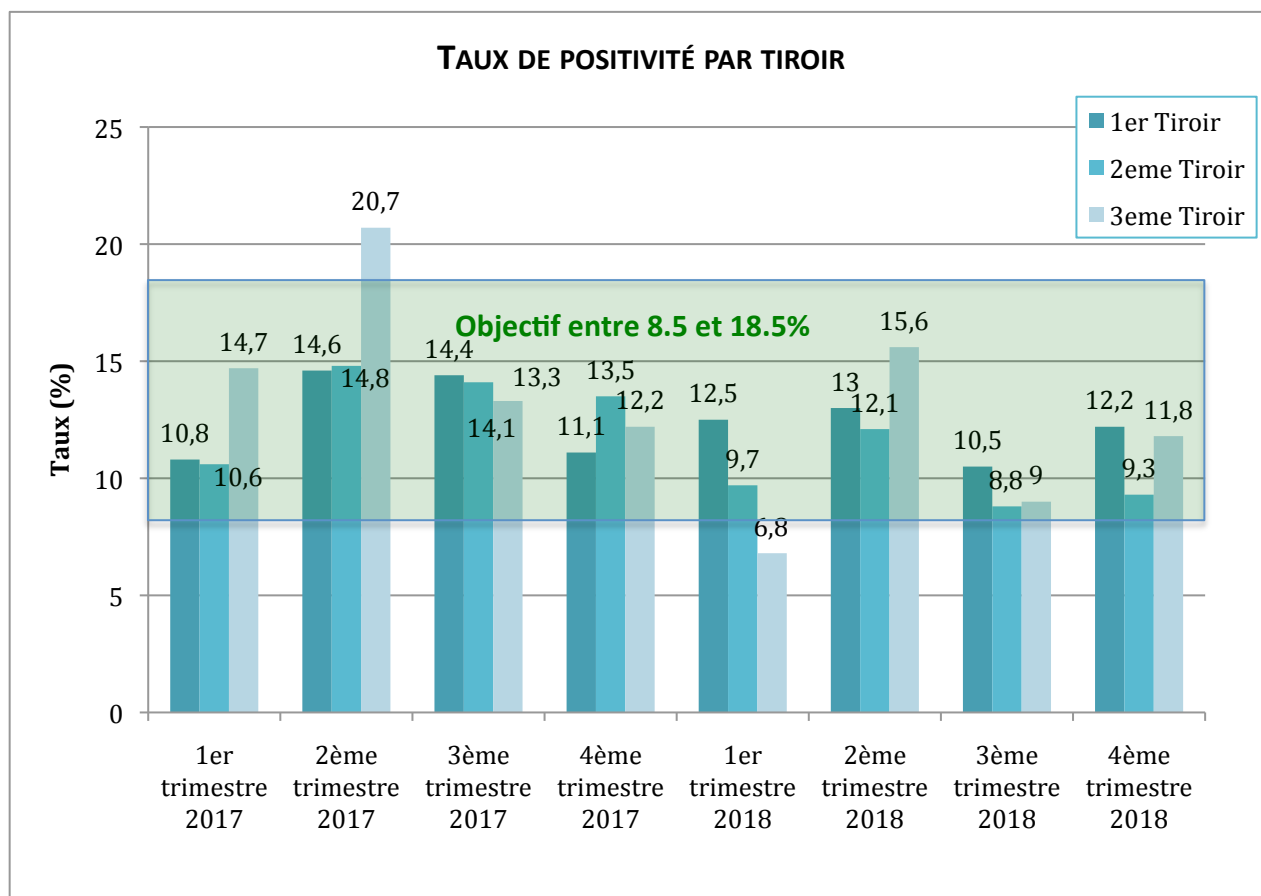


Figure 12 : Taux de positivité par tiroir

Les taux de positivité de chaque tiroir se situent entre 6,8 et 20,7%. La moyenne sur cette période est de 13,53% (2 980 flacons positifs sur un total de 22 023 flacons incubés).

Un tiroir au 2^{ème} trimestre 2017 ne rentre pas dans les objectifs (20.7%), tout comme un autre tiroir au 1^{er} trimestre 2018 (6.8%).

4. Taux de faux-positifs analytiques

Le taux de faux-positifs analytiques est réalisé à partir des données du SIL et de la recherche multi-critères. Pour cela, tous les flacons d'hémoculture de la période d'intérêt sont extraits, avec le résultat de l'examen direct. Le rapport est alors calculé par le nombre de flacons ayant « Absence » comme résultat de l'examen direct avec une culture négative, sur la totalité des flacons enregistrés.

L'objectif de cet indicateur est d'obtenir un taux inférieur à 1%, comme le préconise la littérature (15). La fréquence de suivi a été fixée à un relevé semestriel.

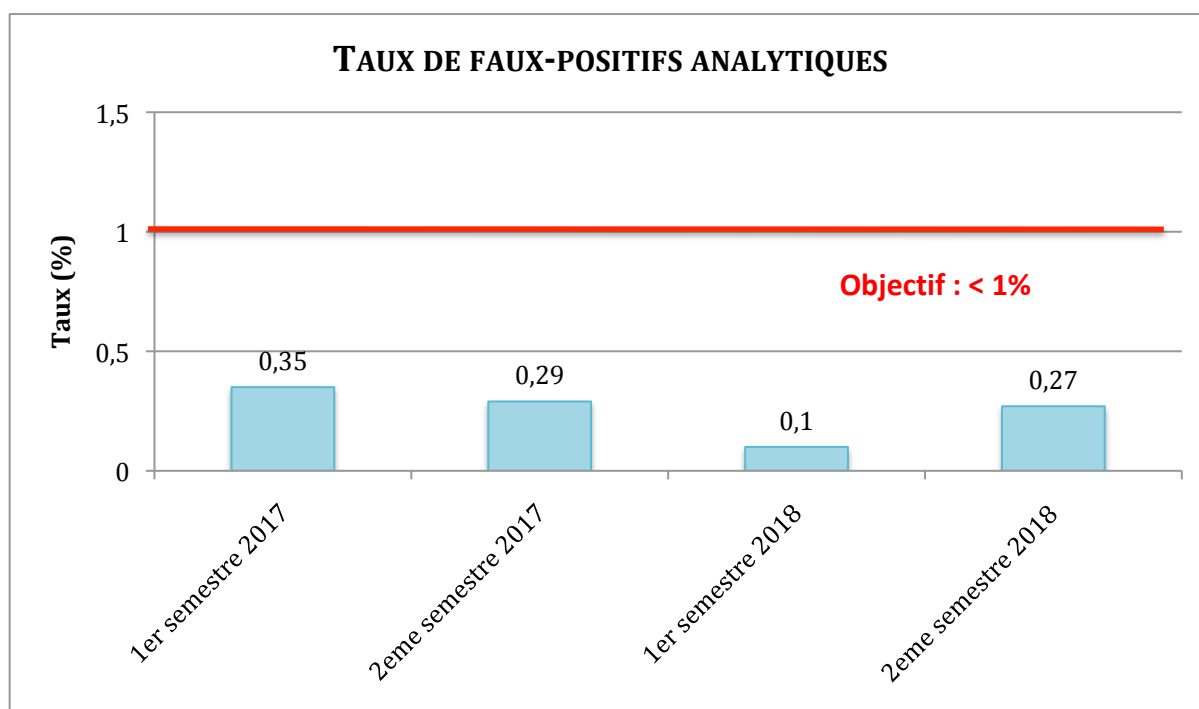


Figure 13 : Taux de faux-positifs analytiques

Sur 2 ans de relevés des taux de faux-positifs analytiques, tous se situent à moins de 1%, l'objectif à ne pas dépasser.

5. Proportion d'espèces retrouvées

La proportion d'espèces retrouvées dans les hémocultures se fait à partir des données du logiciel INFECTIO.GLOBAL : une requête a été créée pour avoir la fréquence

annuelle des espèces identifiées dans les hémocultures. Ensuite, chaque bactérie est classée par groupe, et les fréquences de chaque groupe sont comparées d'une année à l'autre.

- Entérobactéries
- *Pseudomonas aeruginosa*
- Autres bacilles à gram négatif non fermentants
- *Campylobacter* spp
- *Pasteurella* spp
- *Staphylococcus aureus*
- Staphylocoques à coagulase négative
- *Streptococcus pneumoniae*
- Autres streptocoques
- Entérocoques
- *Haemophilus* spp / *Moraxella* spp / *Neisseria* spp / HACCEK
- Corynéformes et Actinomyces
- Anaérobies
- Levures
- Bactéries environnementales

La fréquence de relevé est annuelle, comme le recommande le groupe QUAMIC (47). Il y a peu de littérature à ce sujet et sur les objectifs à atteindre. L'intérêt de cet indicateur est de suivre la répartition des espèces détectées pour ne pas constater de modification d'un relevé à un autre, et de vérifier la capacité du couple flacon / automate à détecter les bactéries à croissance fastidieuse, voir les bactéries aérobies et anaérobies strictes.

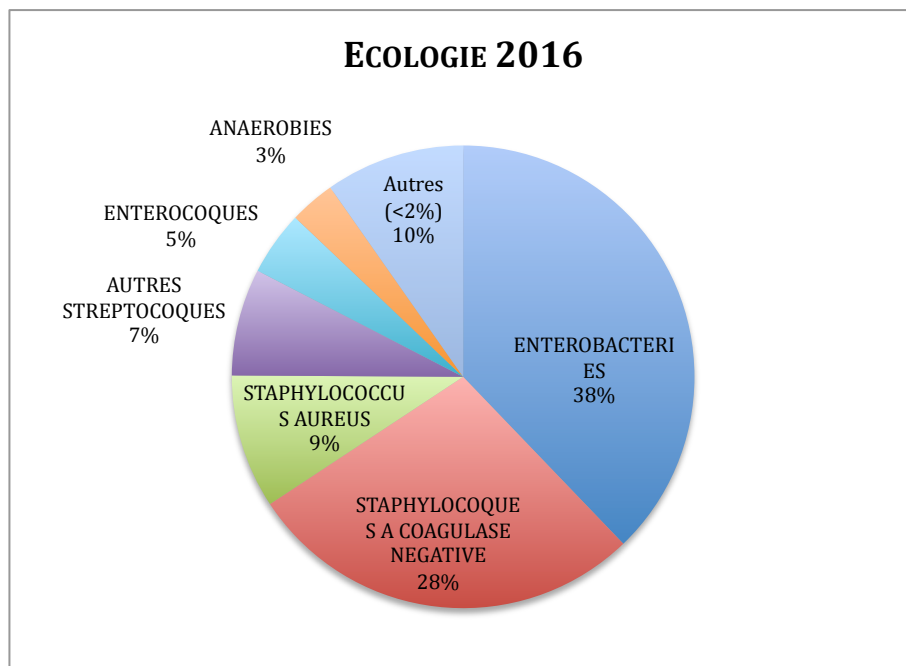


Figure 14 - Répartition des micro-organismes retrouvés dans les hémocultures en 2016

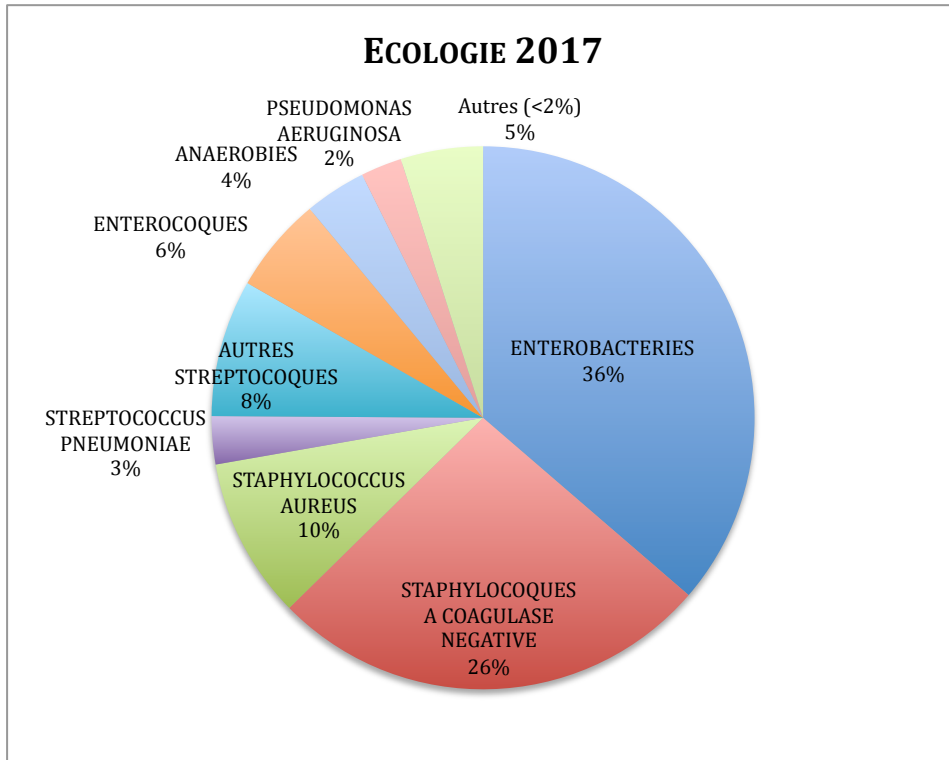


Figure 15 - Répartition des micro-organismes retrouvés dans les hémocultures en 2017

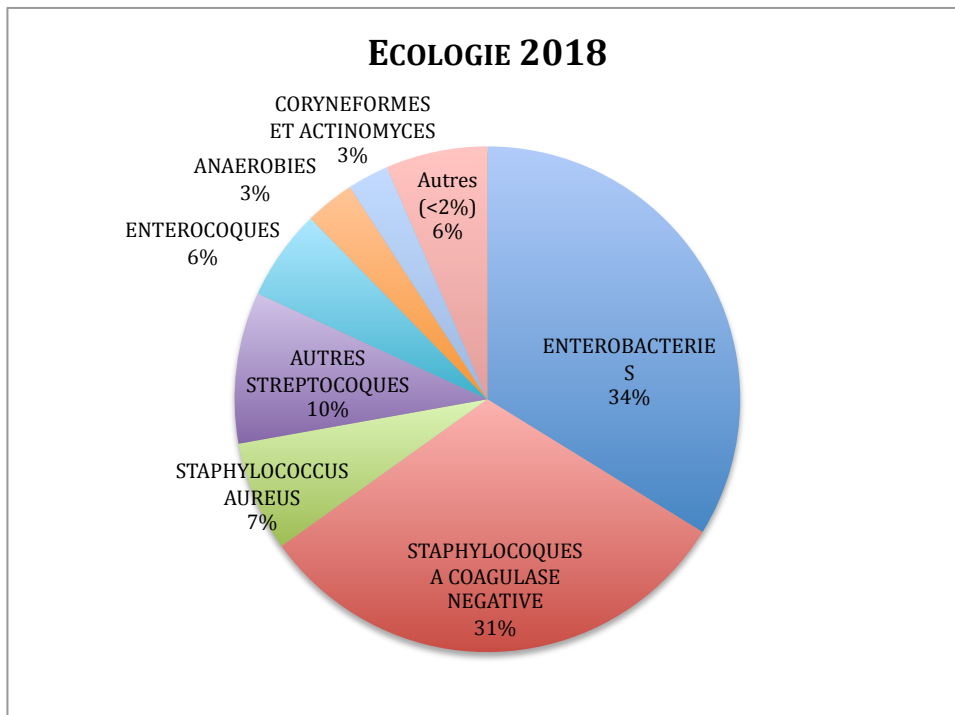


Figure 16 - Répartition des micro-organismes retrouvés dans les hémocultures en 2018

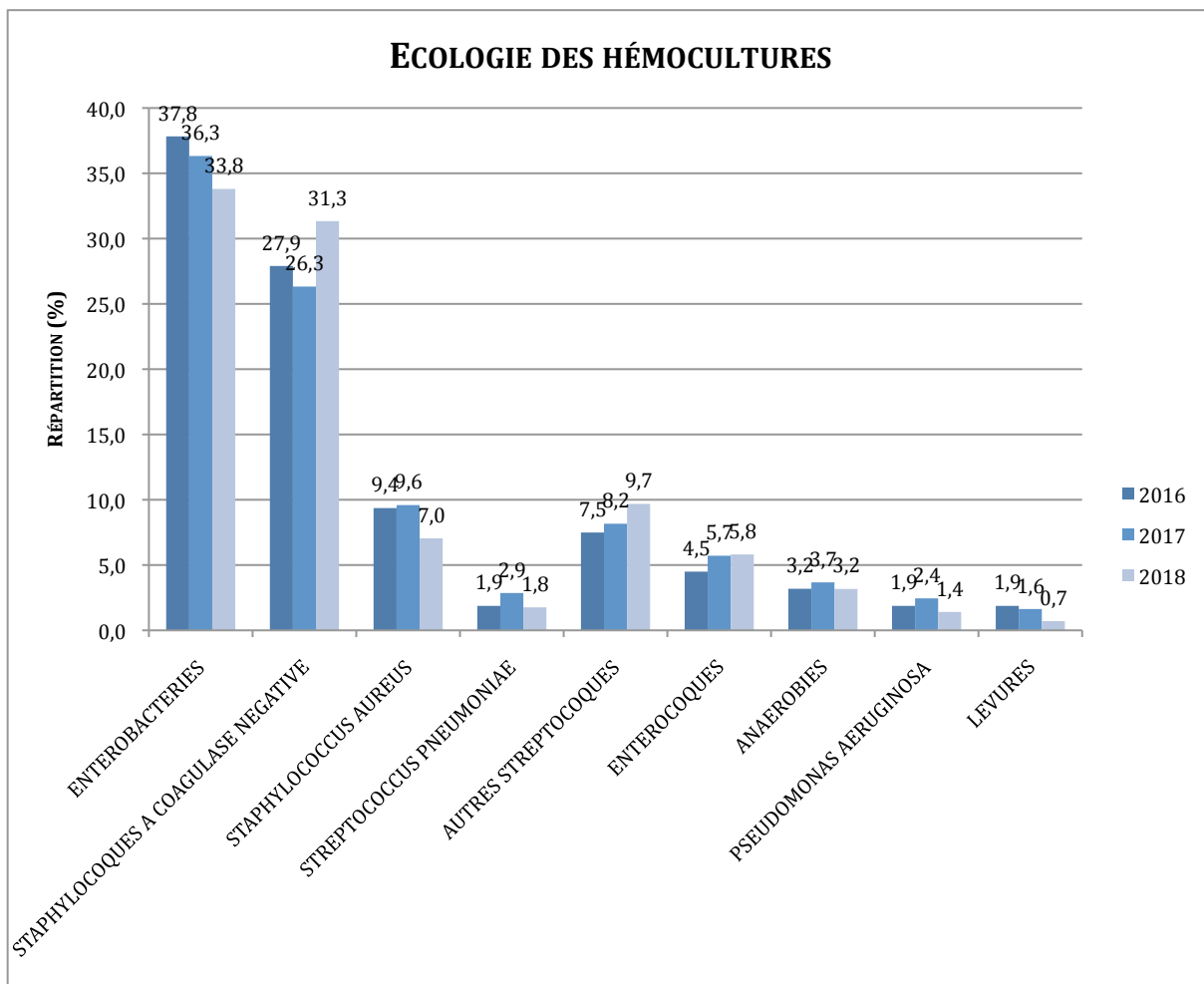


Figure 17 - Ecologie des hémocultures en 2016, 2017 et 2018

La répartition des micro-organismes identifiés dans les hémocultures est sensiblement la même d'une année à l'autre, pour les années 2016, 2017 et 2018.

1. Volume de remplissage des flacons

La comparaison des méthodes pour renseigner systématiquement le volume de remplissage des flacons d'hémoculture a permis d'affirmer qu'il était tout à fait possible de réaliser cette mesure en routine au laboratoire d'Abbeville. Concernant le choix de la mesure, les deux méthodes ayant des résultats similaires, c'est la praticité au quotidien qui a été retenue. En effet, réaliser une pesée pour chaque flacon d'hémoculture reçu au laboratoire implique de maîtriser la balance utilisée, ainsi que la saisie manuelle du nombre indiqué par la balance. De plus, il a été notifié par les personnes ayant participé à la comparaison que le relevé grâce aux abaques est plus rapide. Pour encore plus de facilité et de rapidité, il a été préféré de ne pas renseigner le volume par classes, mais comme étant inférieur ou supérieur à une limite fixée. Pour que cette information soit la plus exhaustive possible, le paramétrage de Scan'Bac a été modifié pour qu'au moment de l'enregistrement d'une hémoculture, le logiciel demande systématiquement si le volume de remplissage de chaque flacon est inférieur ou supérieur à la limite établie. Cette information est alors récoltée pour tous les dossiers d'hémoculture, et envoyée dans le SIL sous forme d'information complémentaire.

Cette comparaison des deux méthodes d'estimation du volume de remplissage a aussi permis de montrer que la plupart des flacons étaient majoritairement remplis de façon insuffisante (volume optimal de remplissage de 8 à 10 mL). Ce constat a été confirmé lors de la mise en place des deux indicateurs sur le volume de remplissage : le taux de remplissage suffisant et le volume moyen.

Le taux de flacons suffisamment remplis a d'abord été réalisé avec une limite de volume acceptable à 3 mL, la limite inférieure autorisée par le fournisseur. Les taux étant suffisamment élevés dans le temps, la limite a ensuite été modifiée à 5 mL à partir d'août 2018. Les taux mensuels étant toujours supérieurs à l'objectif fixé, il peut être envisagé de modifier à nouveau la limite de volume (à 6 ou 8 mL par exemple), ou de modifier l'objectif de taux mensuel à atteindre (à 90% par exemple). Cet indicateur est particulièrement intéressant à suivre car il renseigne la majorité des flacons d'hémoculture arrivant au laboratoire (sont exclus les flacons pédiatriques et ceux renfermant d'autres liquides que du

sang), grâce à la mise en place de la saisie obligatoire du volume des flacons lors de l'enregistrement des hémocultures, paramétrée dans le logiciel Scan'Bac. De ce fait, chaque dossier comprenant des flacons d'hémoculture est renseigné du volume de remplissage de chaque flacon. Cette information est un outil important pour l'interprétation du résultat d'une hémoculture : le sous-remplissage d'un flacon d'hémoculture peut engendrer un résultat négatif du fait d'une baisse de la sensibilité de l'analyse. Afin d'en alerter le prescripteur, un script a été mis en place dans le SIL afin qu'un commentaire soit automatiquement ajouté aux dossiers d'hémoculture ayant un résultat négatif et des flacons remplis avec un volume inférieur à la limite acceptable : « *Flacon insuffisamment rempli (< 5 mL), pouvant diminuer la sensibilité de l'analyse. Pour rappel, le volume optimal de remplissage des flacons d'hémoculture est de 8 à 10 mL* ». De ce fait, le prescripteur est alerté sur cette baisse de sensibilité et pourra ainsi mieux interpréter le résultat rendu, voir prescrire de nouvelles hémocultures pour augmenter la sensibilité.

Cependant, quelques limites apparaissent au sujet de cette estimation du volume de remplissage : les abaques ont été réalisés de façon manuelle. Malgré les précautions prises, ceux-ci peuvent se détériorer rapidement, et il n'existe pas de contrôle pour s'assurer de leur longévité. De plus, ils ont été créés à partir d'un flacon d'hémoculture vide, mais le volume du bouillon initialement présent varie d'un lot à un autre. Il ne serait pas aberrant de contrôler les abaques de façon régulière (annuelle ? semestrielle ?) avec un flacon d'hémoculture rempli du volume limite acceptable.

Une autre limite de cet indicateur est la difficulté de la lecture pour comparer le volume de remplissage du flacon avec l'abaque. La lecture est personnel-dépendante et peut varier d'un lecteur à un autre. De plus, il s'avère que les flacons anaérobies ont tendance à mousser au moment du prélèvement, dû à la présence de saponine dans le flacon (*voir* Tableau 10) laissant une mousse à la surface, rendant le ménisque peu visible pour la lecture.

Concernant le volume moyen, lui est très en dessous des objectifs de 8 à 10 mL. L'avantage de cet indicateur est qu'on peut déceler une tendance globale concernant le volume de remplissage. Les inconvénients sont plus nombreux : on ne sait pas combien de flacons sont conformes ou non, il ne permet pas d'identifier individuellement les flacons insuffisamment remplis, et comparé au taux de remplissage, ce n'est qu'un paramètre

rétrospectif. Il est en plus calculé uniquement à partir des flacons aérobies négatifs. Cette sélection constitue un biais important dans l'interprétation de cet indicateur : les flacons positifs ne sont-ils pas positifs justement parce que mieux remplis ?

Il s'agit donc d'un indicateur de qualité intéressant à suivre, mais bien moins pertinent que le taux de flacons suffisamment remplis. De plus, l'objectif à atteindre de 8 à 10 mL semble inaccessible. C'est d'ailleurs le cas d'autres laboratoires utilisant ce paramètre, comme à Suresnes, où le volume moyen de remplissage se situe en dessous de 5 mL (55).

Le volume moyen ne serait donc pas un indicateur de qualité à proprement parler, mais plutôt un outil pour suivre par exemple l'impact de formations délivrées auprès de préleveurs. Il serait par exemple pertinent de communiquer le volume moyen de chaque service afin de travailler sur l'amélioration des pratiques. On peut d'ailleurs remarquer une ascension du volume moyen après chaque rappel pour le bon remplissage des hémocultures auprès des préleveurs. Mais cet effet ne perdure pas dans le temps, et le volume moyen fini toujours par diminuer à nouveau.

Ces deux indicateurs concernent la phase pré-analytique des hémocultures, dont on rappelle l'importance. Le suivi du volume de remplissage est primordial afin de détecter de mauvaises pratiques lors du prélèvement, et envisager des actions d'amélioration. Les formations auprès des préleveurs semblent être de bons moyens pour sensibiliser le personnel à prélever des quantités suffisantes de sang pour assurer une bonne sensibilité de l'analyse. Cependant, il existe une difficulté importante vis-à-vis de ces formations : le personnel soignant fait preuve d'un important turn-over dans les services. L'idéal serait de former spécifiquement chaque nouveau préleveur, mais cela est difficile à mettre en pratique tant les effectifs sont réduits à l'hôpital. Un groupe de référents pré-analytique existe au CH d'Abbeville : chaque service possède un référent et un suppléant. Ces personnes sont les destinataires prioritaires des informations du laboratoire concernant la phase pré-analytique. Des réunions sont ainsi organisées régulièrement afin de pouvoir communiquer entre le laboratoire et les services sur les projets et moyens mis en œuvre pour améliorer le pré-analytique. Dans ce but, une lettre a été adressée à chaque référent pré-analytique au moment de la mise en place de la mesure systématique du volume de remplissage des flacons d'hémoculture afin d'alerter sur ces nouvelles mesures (voir Annexe 4). Mais là encore, difficile d'avoir des référents pré-analytiques impliqués dans le temps

puisque ces rôles ne sont pas pérennes du fait de turn-over fréquents du personnel dans les services de soins. On comprend alors le rôle important du cadre de chaque service et l'importance de les sensibiliser eux aussi aux objectifs pré-analytiques.

Les formations concernant le pré-analytique des hémocultures peuvent permettre d'expliquer certains points aux préleveurs pour les aider à mieux remplir les flacons : ceux-ci sont sous vide, mais le vide n'est pas calibré : il faut s'aider des graduations présentes sur les flacons pour les remplir du volume adéquat. Faire une marque au niveau du bouillon du flacon vide avant le prélèvement pourrait être une solution pour mieux visualiser le volumeensemencé dans les flacons.

Si les formations ne sont pas suffisantes pour améliorer les taux de remplissage des flacons, la création d'une non-conformité sur les flacons insuffisamment remplis pourrait avoir un autre d'impact, cette fois ciblé au destinataire du compte-rendu de l'analyse : le prescripteur. C'est d'ailleurs en ce sens qu'a été créé le script pour ajouter automatiquement le commentaire d'alerte sur les flacons d'hémoculture négatifs insuffisamment remplis : « *Flacon insuffisamment rempli (< 5 mL), pouvant diminuer la sensibilité de l'analyse. Pour rappel, le volume optimal de remplissage des flacons d'hémoculture est de 8 à 10 mL* ». En informant directement le prescripteur, celui-ci peut sensibiliser ses équipes, notamment les préleveurs, à réaliser des prélèvements de bonne qualité.

2. Taux de contamination

Le taux de contamination est lui aussi un paramètre de la phase pré-analytique. Il met en lumière la bonne antiseptie cutanée lors du prélèvement. Un taux élevé révèle de mauvaises pratiques et doit faire l'objet de rappels sur les méthodes d'antiseptie lors du prélèvement d'hémocultures auprès des préleveurs.

Sur les deux années de relevé, aucun trimestre ne présente plus de 3% de contamination des hémocultures, comme le recommande la littérature. Cependant, cet indicateur possède une limite concernant son relevé au laboratoire du CH d'Abbeville : il est calculé à partir d'un commentaire non automatisé, ajouté manuellement par le biologiste. Ce commentaire ne peut être automatisé, puisqu'il doit forcément être ajouté après appréciation du dossier clinico-biologique. Sa mise sur le compte-rendu est alors biologiste-

dépendant et l'harmonisation des pratiques, la formation continue des biologistes et leur implication sont essentielles.

Cet indicateur est pertinent pour suivre les bonnes pratiques pré-analytiques, et l'objectif fixé semble adapté. Tout comme le volume de remplissage, il est, lui aussi, tout à fait adapté pour suivre l'évolution de formations délivrées aux préleveurs, et c'est aussi un bon indicateur à communiquer aux référents pré-analytiques des différents services du CH d'Abbeville.

Il existe d'autres façons de relever le taux de contamination : au laboratoire de Suresnes, l'équipe de Martin *et al* (55) a d'abord calculé le taux de contamination des hémocultures en faisant le rapport de flacons positifs à *Staphylococcus epidermidis* identifié de manière isolée sur le nombre total de flacons. Mais cette façon de faire présente de nombreuses limites, notamment le fait que d'autres bactéries peuvent être responsables de contamination, et que *Staphylococcus epidermidis* peut être responsable d'une bactériémie significative mais être retrouvé lors d'hémocultures solitaires par exemple. Au vu de ces nombreuses limites, l'équipe de Martin *et al* a d'ailleurs changé de méthode pour calculer le taux de contamination des hémocultures, et s'est basé, comme au laboratoire du CH d'Abbeville, sur un commentaire ajouté par le biologiste au moment de la validation.

3. Taux de positivité

Le taux de positivité correspond à la partie purement analytique de l'incubation automatisée des hémocultures : il s'agit de contrôler si l'automate détecte à la même fréquence les flacons positifs, quelque soit l'endroit d'incubation des flacons. L'automate fait l'objet de nombreuses maintenances (quotidiennes, mensuelles et annuelles) afin de prévenir et de détecter au mieux les défaillances pouvant survenir.

Idéalement, le taux de positivité devrait pouvoir être recensé par cellule d'incubation, afin de déceler une défaillance au niveau d'une cellule. Malheureusement, le logiciel BD EpiCenter™, qui réalise le relevé du taux de positivité par tiroir et par instrument, ne permet pas encore cette mesure.

Les objectifs à atteindre pour cet indicateur sont difficiles à établir puisque dépendants des pratiques des prescripteurs et de l'écologie locale. De plus, il existe très peu

de bibliographie à ce sujet pouvant aider à l'interprétation d'un taux anormalement haut ou bas. Les objectifs au CH d'Abbeville ont été fixés de manière arbitraire, et seront à confirmer dans le temps. D'après les résultats de 2017 et 2018, les objectifs établis semblent adaptés.

En comparaison avec d'autres laboratoires, celui de Suresnes (55) a fixé son objectif à atteindre en prenant la moyenne du taux de positivité +/- 3 écarts-types. Preuve que les objectifs ne sont pas comparables d'un laboratoire à un autre : eux obtiennent une moyenne de 8.8% des flacons positifs, contre 13.5% à Abbeville.

Afin d'interpréter au mieux cet indicateur, les tiroirs doivent être comparés entre eux, mais aussi avec les relevés du trimestre précédent, et avec ceux du même trimestre mais de l'année précédente, puisqu'une saisonnalité peut exister. Plusieurs possibilités peuvent expliquer des taux de positivité anormalement variables. Tout d'abord le hasard qui aurait mis plus ou moins de flacons positifs dans le tiroir d'intérêt. Ce hasard est cependant minimisé grâce au nombre important de flacons pris en compte pour le calcul du taux de positivité. Le tiroir pourrait être défaillant, mais cela est minimisé par les maintenances quotidiennes. L'essentiel étant de surveiller ce taux de positivité, surtout si celui-ci diminue. En cas d'anomalie durable et inexplicable, il ne faut pas hésiter à se rapprocher de la société fournisseur de l'automate.

4. Taux de faux-positifs analytiques

Le taux de faux-positifs analytiques est lui aussi un indicateur du bon fonctionnement de l'automate en lui-même. Plusieurs paramètres peuvent expliquer un faux-positif analytique, comme les hyperleucocytoses, le sur-remplissage du flacon, ou l'erreur d'algorithme de détection par l'automate en cas d'inversion entre flacon aérobie et flacon anaérobie. Ces situations doivent être envisagées lorsqu'un faux-positif se déclare, et identifiées immédiatement si c'est le cas.

Au laboratoire du CH d'Abbeville, depuis la mise en place de l'estimation visuelle du volume de remplissage, le personnel à l'enregistrement des hémocultures a aussi été sensibilisé au sur-remplissage des flacons : une limite supérieure, correspondant à un remplissage de 15 mL a été matérialisée sur les abaques. En cas de dépassement de cette limite, les techniciens le signifient sur la feuille de travail qui est scannée. L'information est donc tracée et retrouvable en cas de flacon faussement positif. D'autres éléments sont à

vérifier en cas de flacon faussement positif, notamment si plusieurs sont détectés au sein d'une courte période : le numéro de lot du flacon et sa date de péremption.

Le taux de faux-positifs analytiques au laboratoire du CH d'Abbeville est dans les objectifs attendus (< 1%). La pertinence de cet indicateur semble confirmée et la fréquence de relevé adaptée.

5. Ecologie

Le dernier indicateur mis en place concerne l'écologie des espèces microbiennes retrouvées dans les hémocultures. Tout comme le taux de positivité par instrument et par tiroir, cet indicateur a peu fait l'objet de bibliographie en tant que tel et les paramètres à suivre ainsi que les objectifs à avoir sont difficiles à identifier. La surveillance d'une année à l'autre de la répartition des espèces semble dans un premier temps être une démarche suffisante. Les objectifs pourront être déterminés et affinés au cours du temps, tout comme les groupes des espèces microbiennes, qui pourront évoluer dans le temps.

Au vu des objectifs difficiles à établir, cet indicateur ne sera pas retenu en tant que tel pour un suivi régulier au laboratoire du CH d'Abbeville, mais il restera une donnée intéressante à suivre.

La SFM parle d'établir l'écologie des hémocultures afin de suivre la détection d'espèces à croissance fastidieuse. Sans avoir plus de détails, le terme « d'espèce à croissance fastidieuse » a semblé vague. Par exemple, la fréquence d'identification des pneumocoques est possible d'une année à l'autre, mais pour d'autres bactéries comme les méningocoques ou encore les HACCEK, le recrutement est trop faible pour initier un tel suivi. Celui-ci n'a donc pas pu être mis en place au laboratoire du CH d'Abbeville.

Avoir une souche d'une bactérie exigeante à incuber régulièrement sur l'automate n'est pas non plus recommandée : cela ne contrôlerait pas l'automate en lui-même mais seulement la cellule dans laquelle le flacon aura été inséré. C'est pour cette raison que les CIQ ne sont pas recommandés par la SFM (47) pour la partie incubation automatisée des hémocultures. Pour la même raison, le laboratoire du CH d'Abbeville, après une année d'abonnement à une Evaluation Externe de la Qualité (EEQ) hémoculture, a décidé de ne pas poursuivre cet abonnement. En effet, d'autres EEQ sont en cours pour le laboratoire de

microbiologie, notamment pour le Gram, l'identification ou l'antibiogramme. Le choix a été fait de ne plus participer à un programme d'EEQ hémoculture pour plusieurs raisons : l'intérêt majeur pour le laboratoire était de contrôler le délai de positivité du flacon incubé, mais cela est trop dépendant de la charge microbienneensemencée dans le flacon. De plus, tout comme les CIQ, il ne permet de contrôler le bon fonctionnement que d'une unique alvéole de l'incubateur.

Conclusion

La mise en place et le suivi d'indicateurs pour la culture automatisée des hémocultures sont indispensables. Ce travail a permis au laboratoire du CH d'Abbeville d'avancer dans la démarche qualité, de maîtriser d'avantage le processus hémoculture et de sensibiliser les différents personnels aux bonnes pratiques. Ces suivis doivent perdurer dans le temps et évoluer avec les pratiques mises en place. Les objectifs peuvent être revus, tout comme les actions à mettre en place pour améliorer les résultats des indicateurs.

Suite à ce suivi de deux ans et demi, quatre indicateurs sont retenus pour un suivi durable au sein du laboratoire. Il s'agit du taux de remplissage suffisant des flacons, du taux de contamination, du taux de positivité par tiroir et par instrument, et du taux de faux-positifs analytiques. Pour le volume moyen et l'écologie, les données pourront être étudiées de façon régulière mais ces paramètres ne seront pas des indicateurs de qualité de l'incubation automatisée des hémocultures au sein du laboratoire du CH d'Abbeville. Pour faciliter le suivi régulier de ces indicateurs, un calendrier a été créé, voir Annexe 5.

Il est évident que la qualité est l'affaire de tous les acteurs de santé, et non pas seulement du personnel du laboratoire. Du prescripteur, au préleveur, en passant par les secrétaires, techniciens et biologistes, tous ont un rôle dans la bonne conduite des analyses dans l'intérêt seul du patient.

Bibliographie

1. Sepsis / Septicémie [Internet]. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/sepsis-septicemie#epidmiologie>
2. Willems E, Smismans A, Cartuyvels R, Coppens G, Van Vaerenbergh K, Van den Abeele A-M, et al. The preanalytical optimization of blood cultures: a review and the clinical importance of benchmarking in 5 Belgian hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1 mai 2012;73(1):1-8.
3. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 23 févr 2016;315(8):801-10.
4. Denis F. *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2007.
5. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. juin 1992;101(6):1644-55.
6. Prise en charge initiale des états septiques graves de l'adulte et de l'enfant. *Réanimation*. 19 janv 2007;16:S1-21.
7. Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, Fowler VG, Tleyjeh IM, Rybak MJ, et al. Infective Endocarditis in Adults: Diagnosis, Antimicrobial Therapy, and Management of Complications: A Scientific Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation*. 13 oct 2015;132(15):1435-86.
8. Durack DT, Lukes AS, Bright DK. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. *Am J Med*. mars 1994;96(3):200-9.
9. Li JS, Sexton DJ, Mick N, Nettles R, Fowler VG, Ryan T, et al. Proposed Modifications to the Duke Criteria for the Diagnosis of Infective Endocarditis. *Clin Infect Dis*. 1 avr 2000;30(4):633-8.
10. Société française de microbiologie, Section de Microbiologie clinique, Groupe Rémic, Bourlet T, Courcol R, Herrmann J-L, et al. *Rémic: référentiel en microbiologie médicale*. 2018.
11. Dawson S. Blood culture contaminants. *J Hosp Infect*. 1 mai 2014;87(1):1-10.
12. Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect*. 1 juin 2013;19(6):513-20.
13. Malani A, Trimble K, Parekh V, Chenoweth C, Kaufman S, Saint S. Review of clinical trials of skin antiseptic agents used to reduce blood culture contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol*. juill 2007;28(7):892-5.

14. Caldeira D, David C, Sampaio C. Skin antiseptics in venous puncture-site disinfection for prevention of blood culture contamination: systematic review with meta-analysis. *J Hosp Infect.* mars 2011;77(3):223–32.
15. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti J-J, Tattevin P. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections ? A State-of-the Art. *Front Microbiol* [Internet]. 12 mai 2016 [cité 7 déc 2017];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4863885/>
16. Gautier C. Le bon usage des antiseptiques pour la prévention du risque infectieux chez l'adulte. 2013;32.
17. Mermel LA. Detection of Bacteremia in Adults: Consequences of Culturing an Inadequate Volume of Blood. *Ann Intern Med.* 15 août 1993;119(4):270.
18. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol.* nov 1994;32(11):2829–31.
19. Patel R, Vetter EA, Harmsen WS, Schleck CD, Fadel HJ, Cockerill FR. Optimized Pathogen Detection with 30- Compared to 20-Milliliter Blood Culture Draws. *J Clin Microbiol.* 12 janv 2011;49(12):4047–51.
20. Cockerill FR, Wilson JW, Vetter EA, Goodman KM, Torgerson CA, Harmsen WS, et al. Optimal Testing Parameters for Blood Cultures. *Clin Infect Dis.* 15 juin 2004;38(12):1724–30.
21. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures Are Needed? *J Clin Microbiol.* nov 2007;45(11):3546–8.
22. Bouza E, Sousa D, Rodríguez-Créixems M, Lechuz JG, Muñoz P. Is the Volume of Blood Cultured Still a Significant Factor in the Diagnosis of Bloodstream Infections? *J Clin Microbiol.* 9 janv 2007;45(9):2765–9.
23. Vitrat-Hincky V, François P, Labarère J, Recule C, Stahl JP, Pavese P. Appropriateness of blood culture testing parameters in routine practice. Results from a cross-sectional study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1 avr 2011;30(4):533–9.
24. Ingen J van, Hilt N, Bosboom R. Education of Phlebotomy Teams Improves Blood Volume in Blood Culture Bottles. *J Clin Microbiol.* 3 janv 2013;51(3):1020–1.
25. Coorevits L, Abeele A-MV den. Evaluation of the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a continuous quality improvement measure. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1 juill 2015;34(7):1459–66.
26. Lamy B, Roy P, Carret G, Flandrois J-P, Delignette-Muller ML. What Is the Relevance of Obtaining multiple Blood Samples for Culture? A Comprehensive Model to Optimize the Strategy for Diagnosing Bacteremia. *Clin Infect Dis.* 1 oct 2002;35(7):842–50.
27. Jonsson B, Nyberg A, Henning C. Theoretical aspects of detection of bacteraemia as a function of the volume of blood cultured. *APMIS.* 1 juill 1993;101(7–12):595–601.

28. Riedel S, Bourbeau P, Swartz B, Brecher S, Carroll KC, Stamper PD, et al. Timing of Specimen Collection for Blood Cultures from Febrile Patients with Bacteremia. *J Clin Microbiol.* 1 avr 2008;46(4):1381–5.
29. Sautter RL, Bills AR, Lang DL, Ruschell G, Heiter BJ, Bourbeau PP. Effects of Delayed-Entry Conditions on the Recovery and Detection of Microorganisms from BacT/ALERT and BACTEC Blood Culture Bottles. *J Clin Microbiol.* 1 avr 2006;44(4):1245–9.
30. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev.* juill 1997;10(3):444–65.
31. BD BACTEC Plus Aerobic/F Culture Vials.
32. BD BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials.
33. BD BACTEC FX - Manuel d'utilisation de l'instrument.
34. BacT/ALERT 3D Dual-T - Manuel d'utilisation.
35. Morgenthaler NG, Kostrzewa M. Rapid Identification of Pathogens in Positive Blood Culture of Patients with Sepsis: Review and Meta-Analysis of the Performance of the Sepsityper Kit [Internet]. *International Journal of Microbiology.* 2015 [cité 13 sept 2018]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2015/827416/>
36. Bacterial rapid identification with matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: development of an 'in-house method' and comparison with Bruker Sepsityper® kit.
37. Riederer K, Cruz K, Shemes S, Szpunar S, Fishbain JT. MALDI-TOF identification of Gram-negative bacteria directly from blood culture bottles containing charcoal: Sepsityper® kits versus centrifugation–filtration method. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1 juin 2015;82(2):105–8.
38. Schieffer KM, Tan KE, Stamper PD, Somogyi A, Andrea SB, Wakefield T, et al. Multicenter evaluation of the Sepsityper™ extraction kit and MALDI-TOF MS for direct identification of positive blood culture isolates using the BD BACTEC™ FX and VersaTREK® diagnostic blood culture systems. *J Appl Microbiol.* 1 avr 2014;116(4):934–41.
39. Lagacé-Wiens PRS, Adam HJ, Karlowsky JA, Nichol KA, Pang PF, Guenther J, et al. Identification of Blood Culture Isolates Directly from Positive Blood Cultures by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry and a Commercial Extraction System: Analysis of Performance, Cost, and Turnaround Time. *J Clin Microbiol.* 1 oct 2012;50(10):3324–8.
40. Wattal C, Oberoi JK. Microbial identification and automated antibiotic susceptibility testing directly from positive blood cultures using MALDI-TOF MS and VITEK 2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1 janv 2016;35(1):75–82.
41. Jo SJ, Park KG, Han K, Park DJ, Park Y-J. Direct Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria From Positive Blood Culture Bottles by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry and the Vitek 2 System. *Ann Lab Med.* mars 2016;36(2):117–23.

42. Romero-Gómez M-P, Gómez-Gil R, Paño-Pardo JR, Mingorance J. Identification and susceptibility testing of microorganism by direct inoculation from positive blood culture bottles by combining MALDI-TOF and Vitek-2 Compact is rapid and effective. *J Infect.* 1 déc 2012;65(6):513–20.
43. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie - V.1.0 Février 2018 [Internet]. Disponible sur: http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM%20V1_0%20FEV_2018.pdf
44. Périllaud C, Pilmis B, Diep J, Péan de Ponfilly G, Vidal B, Couzigou C, et al. Prospective evaluation of rapid antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion on Mueller-Hinton rapid-SIR directly on blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. juill 2018 [cité 20 sept 2018]; Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0732889318302529>
45. Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale.
46. *Communique_de_presse_1ere_echeance_LBM.pdf* [Internet]. [cité 21 sept 2018]. Disponible sur: https://www.cofrac.fr/communication/communiqués/Communique_de_presse_1ere_echeance_LBM.pdf
47. Société française de microbiologie. Comité qualité de la société française de microbiologie: (Quamic). 2017.
48. Rocchetti A, Di Matteo L, Bottino P, Foret B, Gamalero E, Calabresi A, et al. Prospective study of the clinical performance of three BACTEC media in a modern emergency department: Plus Aerobic/F, Plus Anaerobic/F, and Anaerobic Lytic/F. *J Microbiol Methods.* 1 nov 2016;130:129–32.
49. Almuhayawi M, Altun O, Abdulmajeed AD, Ullberg M, Özenci V. The Performance of the Four Anaerobic Blood Culture Bottles Bact/ALERT-FN, -FN Plus, BACTEC-Plus and -Lytic in Detection of Anaerobic Bacteria and Identification by Direct MALDI-TOF MS. *PLoS ONE* [Internet]. 10 nov 2015 [cité 9 juill 2019];10(11). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4640713/>
50. Hall KK, Lyman JA. Updated Review of Blood Culture Contamination. *Clin Microbiol Rev.* oct 2006;19(4):788–802.
51. Souvenir D, Anderson DE, Palpant S, Mroch H, Askin S, Anderson J, et al. Blood Cultures Positive for Coagulase-Negative Staphylococci: Antisepsis, Pseudobacteremia, and Therapy of Patients. *J Clin Microbiol.* juill 1998;36(7):1923–6.
52. Garcia RA, Spitzer ED, Beaudry J, Beck C, Diblasi R, Gilleeny-Blabac M, et al. Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line-associated bloodstream infections. *Am J Infect Control.* 1 nov 2015;43(11):1222–37.
53. BD EpiCenter : module BVM/BCP - Manuel de Formation.
54. Cutnell JD, Johnson KW. *Physics.* 4th ed. New York: Wiley; 1998. 2 p.

55. Martin EC, Martinucci P, Limousin L, Cahen P, Farfour E, Vasse M, et al. Apports et perspectives d'évolution des indicateurs qualité de l'hémoculture. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1 mai 2019;77(3):331-8.

Liste des annexes

Annexe 1 - Protocole de prélèvement des hémocultures au CH d'Abbeville.....	71
Annexe 2 - Prise en charge d'une hémoculture positive	76
Annexe 3 - Mode opératoire pour l'extraction des indicateurs qualité pour le suivi du processus "Hémoculture"	81
Annexe 4 - Lettre d'information aux référents pré-analytiques.....	91
Annexe 5 - Calendrier pour le relevé des indicateurs d'hémoculture.....	92

Annexes

Annexe 1 - Protocole de prélèvement des hémocultures au CH d'Abbeville.

 Services de soins	Mode opératoire Hémoculture : technique et protocole de prélèvement	Référence : S/GRI/PCS/MO/002
		Révision : 002
		Date de mise à jour : 16/09/2015

EMARGEMENT	Nom	Fonction	Service	Signature	
				Date	Visa
Rédaction	DABOVALLE Amandine	Biohygiéniste référente	EOH		
Relecture	LOUCHET Marie	Biologiste	Laboratoire		
Validation	REDEKER Serge	Président de la SCLIN/Médecin coordonnateur	EOH		
Approbation	FAVRE Vincent	Directeur adjoint	Direction Qualité et Gestion des Risques		

HISTORIQUE DU DOCUMENT

Révision	Date de mise à jour	Date d'application	Commentaires
01	15/03/2012		Création du mode opératoire
02	18/06/2015		Réactualisation du mode opératoire

I- OBJET

Ce mode opératoire a pour objet de définir les étapes du prélèvement sanguin en vue d'une hémoculture sur veine périphérique ; ce prélèvement doit être de qualité, dans le but d'éviter sa contamination ou celle du patient.

II- DOMAINE D'APPLICATION ET PERSONNEL CONCERNE

Services de soins ; acte infirmier effectué sur prescription médicale.

PERSONNEL CONCERNE

- ▶ Médecins
- ▶ Sages-femmes
- ▶ IDE
- ▶ Puéricultrices

III- DOCUMENTS DE REFERENCE

- Guide technique d'hygiène hospitalière – mai 2004 –CCLIN Sud-est
- Surveiller et prévenir les IAS – HCSP – septembre 2010
- REMIC- Référentiel en microbiologie médicale – 4^{ème} édition- 2010

IV- DOCUMENTS ASSOCIES

 Services de soins	Mode opératoire	Référence : S/GRI/PCS/MO/002
	Hémoculture : technique et protocole de prélèvement	Révision : 002 Date de mise à jour : 16/09/2015

V- DEFINITIONS ET ABBREVIATIONS

Définitions :

Hémoculture : Prélèvement sanguin qui permet d'isoler le ou les micro-organismes responsables d'une bactériémie, de le ou les identifier, de déterminer sa ou leur sensibilité aux anti-infectieux et d'adapter le traitement.

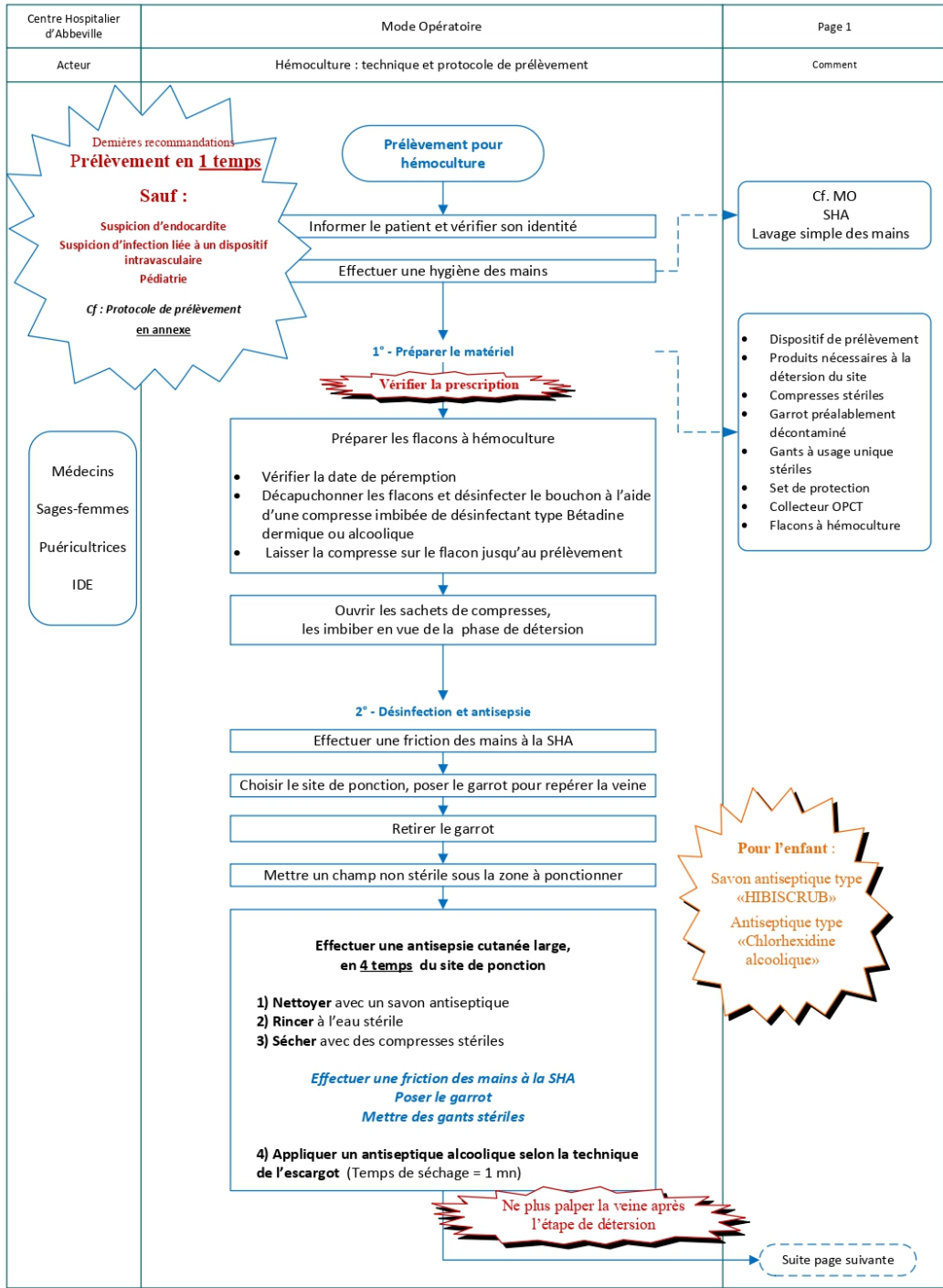
Abréviations :

IDE : Infirmier diplômé d'état
OPCT : Objets piquants, coupants, tranchants
SHA : Solution hydro-alcoolique

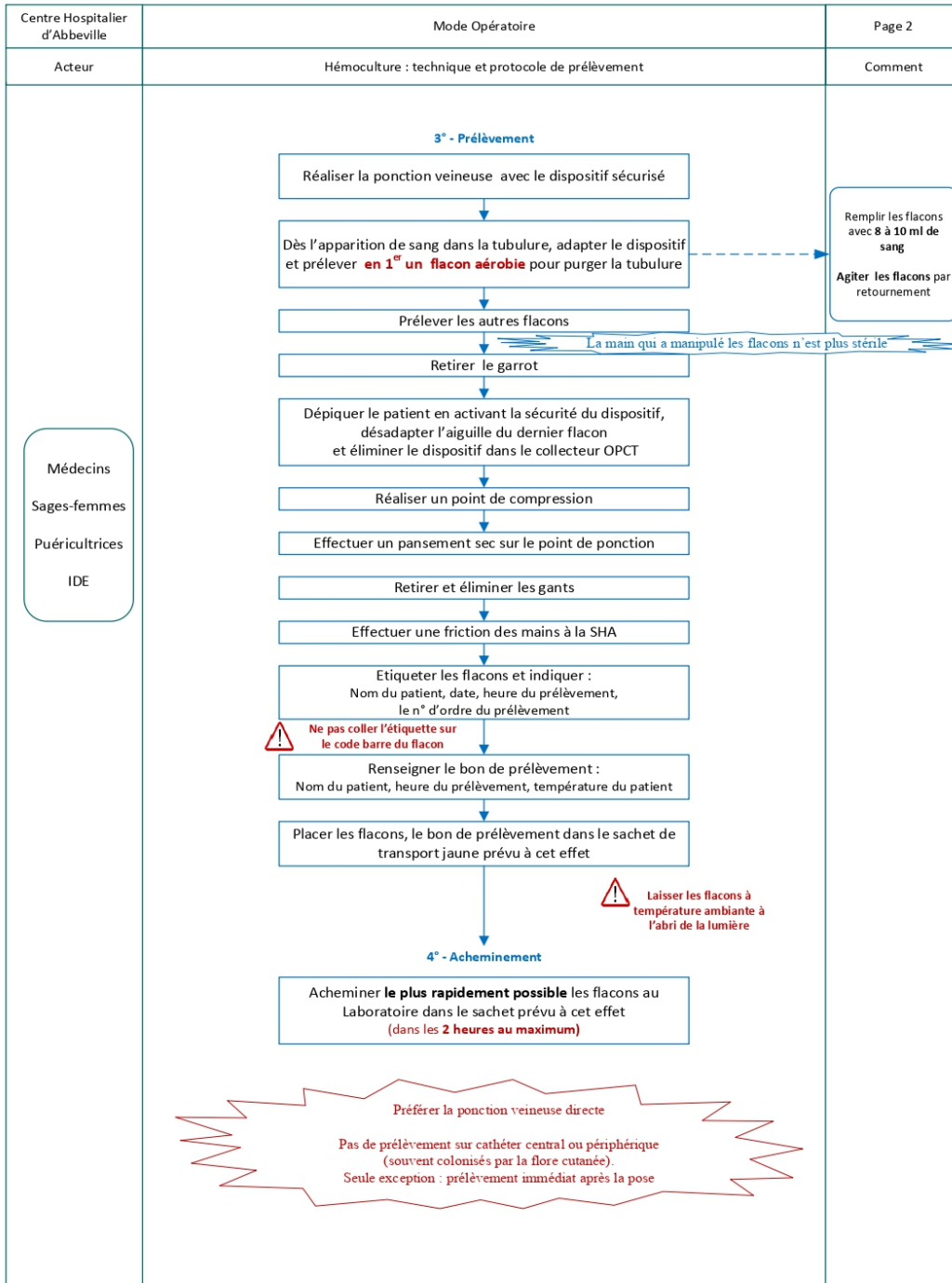
VI - DESCRIPTION





Logigramme ci-dessous

 Services de soins	Mode opératoire	Référence : S/GRI/PCS/MO/002
	Hémoculture : technique et protocole de prélèvement	Révision : 002
		Date de mise à jour : 16/09/2015



 Services de soins	Mode opératoire Hémoculture : technique et protocole de prélèvement	Référence : S/GRI/PCS/MO/002
		Révision : 002 Date de mise à jour : 16/09/2015



Centre Hospitalier d'Abbeville	Mode Opérateur	Page 3										
Acteur	Hémoculture : technique et protocole de prélèvement	Comment										
<div style="border: 1px solid black; border-radius: 15px; padding: 5px; text-align: center;"> Médecins Sages-femmes Puéricultrices IDE </div>	<p style="text-align: center; color: blue;">Annexe : Protocole de prélèvement</p> <p style="text-align: center; color: red;">Dernières recommandations</p> <p style="text-align: center; color: red;">↓</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 40%;"></td> <td style="text-align: center; color: red;">Prélèvement en 1 temps de 4 à 6 flacons</td> </tr> <tr> <td>Nombre total de flacons mis en culture</td> <td style="text-align: center;">4 à 6 Aérobie et anaérobie</td> </tr> <tr> <td>Taux de contamination</td> <td>Faible (divisé par 2 à 3 / au prélèvement en plusieurs temps)</td> </tr> <tr> <td>Cas particuliers :</td> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Suspicion d'infection liée à un dispositif intravasculaire : prélever 4 à 6 flacons sur veine périphérique + 2 flacons sur le matériel au même moment </td> </tr> <tr> <td>Avantages</td> <td>Plus simple (1 seul prélèvement) Antibiothérapie instaurée plus rapidement</td> </tr> </table> <div style="border: 1px solid gray; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p>Exceptions :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pédiatrie (cf ci-dessous) • Suspicion d'endocardite : 2 à 3 prélèvements de 2 flacons à 1 heure d'intervalle ou au moment d'un pic fébrile/frissons </div> <p>1° - Pour adulte :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 4 à 6 flacons correctement remplis avec 8 à 10 ml de sang par flacon pour un volume cible de 30 à 40 ml • 2 à 3 aérobie + 2 à 3 anaérobie <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">  <div style="text-align: center;">  <p style="color: red;">Ne pas recouvrir le code barre</p> </div> </div> <p>2° - Pour nourrissons et jeunes enfants de poids ≤ à 13 kilos :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1 flacon aérobie rempli avec un volume de sang compris entre 1 et 3 ml <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">  <div style="text-align: center;"> <p>Rappel :</p> <p>Ordre de prélèvement des flacons</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Flacon aérobie 2. Flacon LYTC/10 anaérobie 3. Autres tubes </div> </div> <p>3° - Recherche de levures : flacon spécifique à visée mycologique</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">  </div>		Prélèvement en 1 temps de 4 à 6 flacons	Nombre total de flacons mis en culture	4 à 6 Aérobie et anaérobie	Taux de contamination	Faible (divisé par 2 à 3 / au prélèvement en plusieurs temps)	Cas particuliers :	<ul style="list-style-type: none"> • Suspicion d'infection liée à un dispositif intravasculaire : prélever 4 à 6 flacons sur veine périphérique + 2 flacons sur le matériel au même moment 	Avantages	Plus simple (1 seul prélèvement) Antibiothérapie instaurée plus rapidement	
	Prélèvement en 1 temps de 4 à 6 flacons											
Nombre total de flacons mis en culture	4 à 6 Aérobie et anaérobie											
Taux de contamination	Faible (divisé par 2 à 3 / au prélèvement en plusieurs temps)											
Cas particuliers :	<ul style="list-style-type: none"> • Suspicion d'infection liée à un dispositif intravasculaire : prélever 4 à 6 flacons sur veine périphérique + 2 flacons sur le matériel au même moment 											
Avantages	Plus simple (1 seul prélèvement) Antibiothérapie instaurée plus rapidement											

Annexe 2 - Prise en charge d'une hémoculture positive

 Laboratoire	Mode opératoire Prise en charge d'une hémoculture positive à J0	Référence : S/LAB/B/ANA/MAN/MO/020
		Révision : 005 Date de mise à jour : 17/08/2017

PERSONNEL CONCERNE

- ▶ Les technicien(ne)s du laboratoire

I. DOCUMENTS ASSOCIES

- MO : BACTEC FX/EPICENTER : Edition d'une courbe – S/LAB/B/ANA/BAC/MO/002
- MO : BACTEC FX: Insertion et retrait des flacons – S/LAB/B/ANA/MAN/MO/022
- DE : Manuel : Utilisation d'un PSM – DE/MIC-016
- MO : Coloration manuelle de GRAM - S/LAB/B/ANA/MAN/MO/0216
- MO : AEROSPRAY : Coloration – S/LAB/B/ANA/WES/MO/003
- DE : Manuel formation BD BACTEC FX – DE/MIC-005

II. DEFINITIONS ET ABREVIATIONS

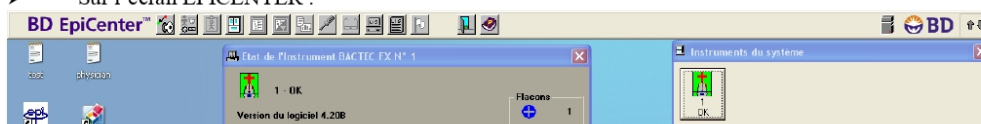
- PSM : Poste de Sécurité Microbiologique
- SIL : Système Informatique du Laboratoire

III. DESCRIPTION

I. Visualisation des flacons positifs

L'automate BACTEC FX avertit qu'un flacon est positif de la manière suivante :

- ▶ Une alarme lumineuse **rouge** s'allume sur le côté de l'étuve concernée
- ▶ Un message apparaît à l'écran
- ▶ Si l'alarme sonore est activée appuyer sur « OUI » pour l'arrêt
- ▶ Dans le menu « ETAT » résumant chaque tiroir, le nombre de flacons positifs est incrémenté à chaque détection de nouveau flacon.
- ▶ Dans le menu « VISUALISATION DE TIROIR », les alvéoles occupées par des flacons positifs apparaissent avec un « + »
- ▶ Sur l'écran EPICENTER :



II. Retrait des flacons positifs du BACTEC FX

- ▶ Ouvrir le tiroir ayant des alvéoles contenant des flacons positifs
- ▶ Dans l'écran « ETAT » appuyer sur le bouton « RETIRER POSITIFS + » : seules les alvéoles contenant des flacons positifs restent signalées.
- ▶ Quand tous les positifs ont été retirés du tiroir, la tonalité « ACTIVITE TERMINEE » (3 bips) retentit

III. Sortir la feuille de travail

- ▶ Repérer sur le flacon la date d'enregistrement sur DXLab
- ▶ Les feuilles de travail sont rangées par jour d'enregistrement dans la pochette réservée « HEMOCULTURES » ou dans pochette « HEMOCULTURES en cours » si Flacon positif avec même numéro de travail.
- ▶ Noter sur la feuille le flacon positif (aéro ou ana-érobie) et l'heure de positivité

IV. Renseignements dans le laboratoire :

- ▶ Voir dans le SIL si patient déjà connu

 Laboratoire	Mode opératoire Prise en charge d'une hémoculture positive à J0	Référence : S/LAB/B/ANA/MAN/MO/020
		Révision : 005 Date de mise à jour : 17/08/2017

V. Repiquage des flacons positifs :

Matériel utilisé:

- Dispositif repiquage
- Papier essuie-tout
- Alcool modifié
- Tube à hémolyse stérile
- Lames/lamelles
- Milieux de culture gélosés

Travailler sous PSM

1. Désinfecter le bouchon à l'alcool modifié
2. Piquer le bouchon avec un dispositif adapté
3. Mettre quelques gouttes dans un tube à hémolyse
4. Réaliser une lame et coloration de GRAM :
Identifier la lame (voir *Annexe 2*)
1 goutte sur une lame + 1 goutte d'eau distillée pour lyser les hématies
Étaler avec l'oëse
Sécher sur la plaque chauffante
Coloration de GRAM
5. Réaliser un Etat Frais entre lame et lamelle pour observer la mobilité (facultatif)
6. Ensemencer les géloses en déposant 1 goutte et en isolant par la technique des quadrants : (voir *Annexe 1*)

Systématiquement : 1 GS + 1 CHOCP sous CO₂ pour la première hémoculture positive du patient
Si flacon ANA : + GS en anaérobie (sauf si CG+ amas et déjà connu)

Remarque : Pour la traçabilité sur les boîtes, voir détails en *Annexe 2*.

7. Lire le GRAM, noter le résultat sur la feuille de travail et ranger la lame identifiée sur le portoir de lames spécifiques « Lames réalisées à partir des flacons d'hémocultures ».

⚠ Si possible pour les cocci Gram +, noter si amas ou chaînettes, diplocoques

8. Scanner la feuille de travail pour transmettre l'examen direct dans le SIL
Attention : Entrer l'examen direct manuellement si hémocultures différentielles ou C3S.

9. **Ajouter des milieux de culture** en fonction de la lecture du GRAM : A tracer sur la feuille de travail
 - Bacilles gram - : + BCP + CNA (+ CHOCP sous CO₂ si suspicion Haemophilus)
 - Bacilles gram + : + BCP + CNA
 - Cocci gram + en chaînettes / diplocoques : + GS avec disque d'Optochine sous CO₂
 - Cocci gram - : + CHOCP sous CO₂
 - Levures : + CAND
 - Examen Direct négatif : + CHOCP sous CO₂ → Et Ré incubé le flacon dans l'automate
 - Mélange gram + et gram - : + BCP + CNA

10. Incuber les géloses et le flacon

Si un flacon détecté positif par l'automate se révèle négatif lors de la lecture du GRAM:

Il est possible de réintroduire le flacon pendant 5 heures après son retrait.

Signaler au biologiste, à l'interne ou à un technicien référent du secteur de bactériologie qui réinitialisera le flacon et le ré incubera dans l'automate.

Noter « Absence » de germes à l'examen direct sur la feuille de travail

Scanner

 Laboratoire	Mode opératoire Prise en charge d'une hémoculture positive à J0	Référence : S/LAB/B/ANA/MAN/MO/020
		Révision : 005 Date de mise à jour : 17/08/2017

VI. Transmission au service clinique :

1. Téléphoner au service clinique

QUI ? Un biologiste ou un interne. Un technicien en leur absence.

QUOI ? - L'examen direct et le nombre de flacons positifs si plusieurs
- Demande de renseignements cliniques :

- Fièvre ?
- Porte d'entrée suspectée ?
- Présence ou non de matériel prothétique (important si Cocci gram + à l'examen direct notamment)
- Traitement antibiotique en cours ? Si oui, lequel et depuis quand ? Si non, envisagé ?

2. Traçabilité

Noter sur la feuille de travail :

- Les renseignements fournis
- Le nom et la fonction de l'interlocuteur
- L'heure de transmission
- Ses initiales

3. Scanner la feuille de travail pour transmettre l'examen direct dans le SIL

Attention : Entrer l'examen direct manuellement si hémocultures différentielles ou suspicion d'endocardite (C3S).



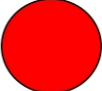
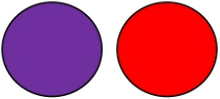

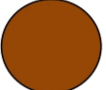
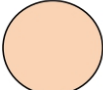
VII. Cas d'une hémoculture différentielle :

Comparer les heures de positivité des hémocultures prélevées au matériel par rapport à celles prélevées en périphérie pour connaître le site de l'infection suspectée :

- Délai différentiel supérieur à 2h en faveur d'une bactériémie ayant pour origine le matériel
- Délai différentiel de positivité inférieur à 2 h en faveur d'une bactériémie d'une autre origine que le matériel

 Laboratoire	Mode opératoire Prise en charge d'une hémoculture positive à J0	Référence : S/LAB/B/ANA/MAN/MO/020
		Révision : 005 Date de mise à jour : 17/08/2017

Annexe 1 : Choix des géloses à ensemer à partir du flacon d'hémoculture

Quand ?	Sur quoi ?	Incubation
Toujours :	 Gélose au sang	≈ 35°C Aérobiose
+ <u>1^{er} flacon positif pour le patient :</u> <u>Ou Examen Direct négatif :</u>	 Chocolat + supplément poly-vitaminique	≈ 35°C sous CO ₂
+ <u>Si flacon ANA :</u> Sauf si cocci GRAM+ amas et déjà connu	 Gélose au sang	≈ 35°C sachet Anaérobiose
<u>Selon la lecture de l'ED, rajouter :</u>		
Bacilles GRAM – Bacilles GRAM + Mélange GRAM – et +	 BCP et Gélose au sang + Acide malidixique	≈ 35°C Aérobiose
Cocci GRAM + Chainettes/ Diplocoques	 Gélose au sang + disque optochine	≈ 35°C sous CO ₂
Cocci GRAM – Coccobacilles GRAM - (susp. <i>Haemophilus</i>)	 Chocolat + supplément poly-vitaminique	≈ 35°C sous CO ₂
Levures	 Milieu chromogène pour identification des levures	≈ 35°C Aérobiose

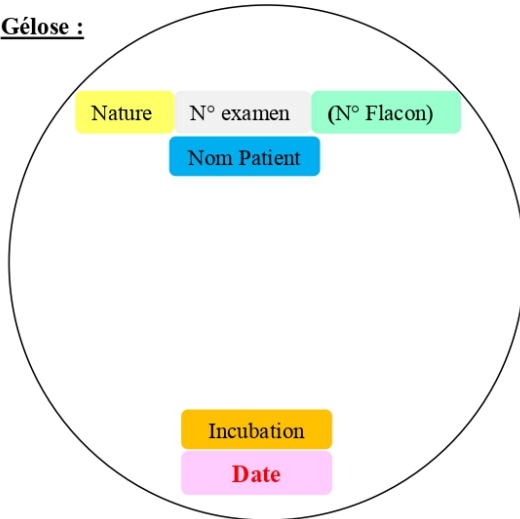
 Laboratoire	Mode opératoire Prise en charge d'une hémoculture positive à J0	Référence : S/LAB/B/ANA/MAN/MO/020
		Révision : 005 Date de mise à jour : 17/08/2017

Annexe 2 : Traçabilité des lames et des géloses ensemencées à partir du flacon d'hémoculture

⚠ Ne pas rééditer d'étiquettes de fractionnement

Possible d'utiliser des étiquettes blanches vierges si pas de crayon indélébile.

Gélose :



Nature du prélèvement :
AS Liquide ascite
LP Liquide pleural
LA Liquide articulaire
H Hémoculture

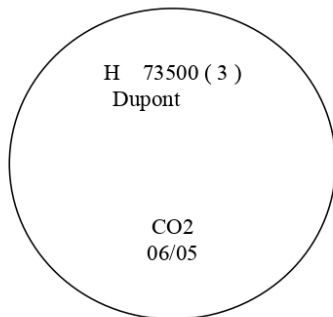
Noter le N° du flacon entre parenthèses :
Hémocultures sur veine périphérique :
(1) Flacon aérobie
(2) Flacon anaérobie
Hémocultures sur matériel :
(1) Flacon aérobie
(2) Flacon anaérobie
Hémocultures différentielles :
(1) Flacon Matériel aérobie
(2) Flacon Matériel anaérobie
(3) Flacon périphérique aérobie
(4) Flacon périphérique anaérobie
Hémocultures mycologiques :
(5) Flacon mycologie

Atmosphère d'incubation :
« Rien » Aérobiose
CO₂ Etuve CO₂
ANA Sachet Anaérobiose

Date d'ensemencement
⚠ Ne pas mettre la date de prélèvement


Lame :

(Au minimum)



Exemple :
Hémoculture différentielle N° 73500 (flacon périphérique aérobie)
Nom du Patient : Dupont
Boîte placée dans l'étuve à CO₂

Annexe 3 - Mode opératoire pour l'extraction des indicateurs qualité pour le suivi du processus "Hémoculture"

 Laboratoire	Mode opératoire Extraction des indicateurs qualité pour le suivi du processus « Hémoculture »	Référence : S/LAB/A/EVA/IND/MO/001
		Révision : 001
		Date d'application : 11/07/2019

PERSONNEL CONCERNE

- ▶ Les technicien(ne)s référents microbiologie, les biologistes, RAQ

I. OBJET

Ce mode opératoire décrit les modalités d'extraction et d'interprétation des indicateurs qualité permettant le suivi du processus « Hémocultures ».

II. DOCUMENTS ASSOCIES

Formulaire « Calendrier de suivi des indicateurs « Hémoculture » - S/LAB/A/EVA/IND/FO/002
Tableau de bord des indicateurs - S/LAB/A/EVA/IND/ENR/001

III. DESCRIPTION

1. VOLUME DE REMPLISSAGE DES FLACONS D'HEMOCULTURES

a. VOLUME DE SANG MOYEN PAR FLACON VIA EPICENTER

Description:

Le **module BVM** du logiciel EpiCenter permet d'estimer les volumes de remplissage des flacons d'hémoculture **négatifs aérobies** incubés, sur la base de la vitesse de métabolisation du glucose par les globules rouges.

L'estimation ne pouvant se faire que sur une partie des flacons, celle-ci n'est pas une statistique sur l'ensemble des flacons incubés. C'est plutôt une tendance.

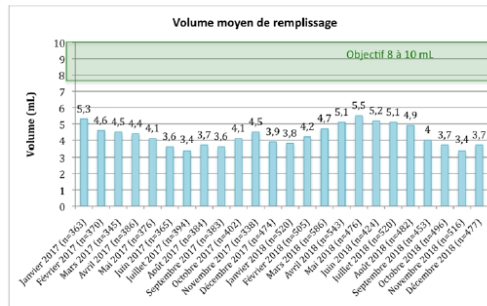
Fréquence: mensuelle

Mode opératoire:

- Ouvrir **EpiCenter** et se loguer
- Rapports
- Rapports standards
- Rapports instrument
 - o BACTEC FX
 - Rapports de surveillance du volume sanguin
 - Résumé du volume sanguin
- Sélectionner les dates
- Sélectionner les groupes
 - o Groupe 1 : ID correspondant
 - ID correspondant : Non spécifié
- Ap. avant impr. (aperçu avant impression)
- Imprimer
- Remplir le formulaire de suivi des indicateurs
- Ranger le rapport dans le classeur.

Objectifs :

- Avoir volume sanguin moyen suffisant (volume optimal par flacon adulte: 8 à 10 mL)
- Avoir un volume sanguin qui augmente d'un mois à l'autre
- Evaluation de l'impact d'un (re)-formation pré-analytique



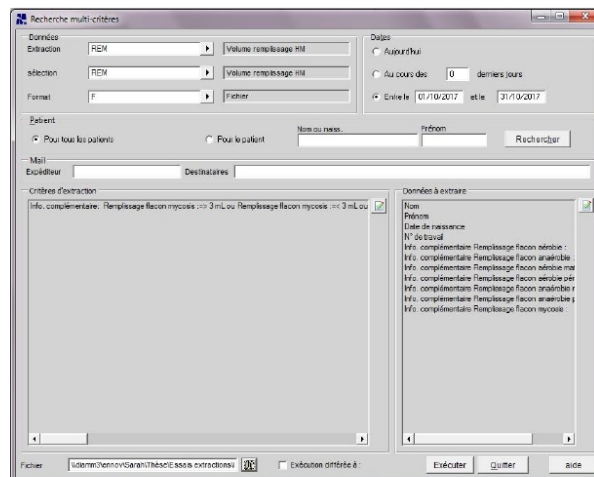
b. VOLUME DE SANG PAR FLACON VIA DXLAB

Description: Extraction de tous les dossiers ayant un volume de remplissage de flacon renseigné à l'enregistrement (estimation visuelle grâce aux abaques) et analyse statistique de cette extraction.

Fréquence: mensuelle

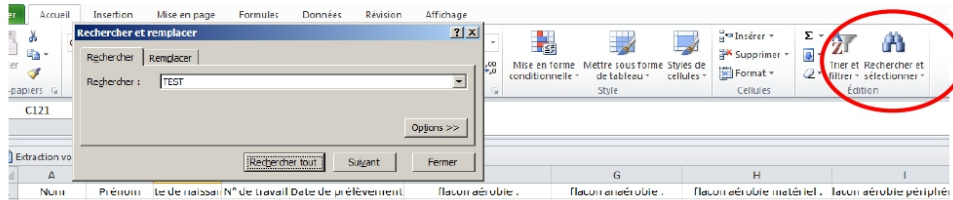
Mode opératoire :

- Ouvrir **DxLab** et se loguer
- Demande > Recherches multi-critères
- Dans « Données »
 - o Extraction : Sélectionner le code REM
 - o Sélection : Sélectionner le code REM
- Dans « Dates », sélectionner la période d'intérêt
- Dans « Patients », sélectionner « Pour tous les patients »
- Ne pas modifier les critères d'extraction ou les données à extraire
- Fichier : sélectionner l'emplacement du fichier créé
Dossier qualité commun / 02-EVALUATION DE LA QUALITE / Indicateurs / Indicateurs hémoculture / Volume de remplissage / [Année]
Nom : Extraction volume DxLab [mois] [année]
- Exécuter

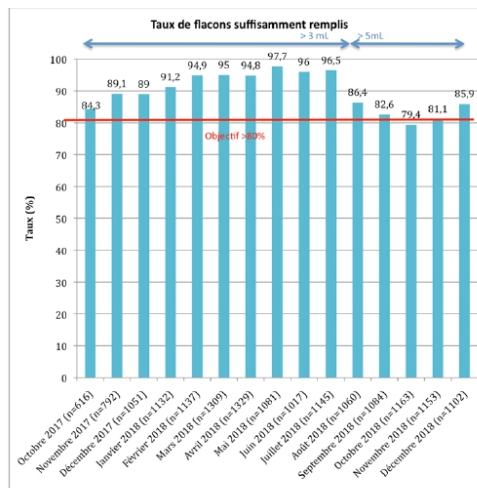


Réalisation des statistiques via Excel :

- Ouvrir le fichier nouvellement créé
- Supprimer toutes les lignes correspondant à des dossiers TEST grâce à la fonction « Rechercher »



- Copier la feuille entière et la coller dans la feuille correspondant au mois dans fichier Excel de statistiques (*Statistiques extraction volumes DxLab – Année n*) se trouvant dans le même dossier.
- Vérifier que les calculs se sont bien faits sur la première page.
- Sauvegarder le fichier de statistiques.




Objectifs :

- Pourcentage de flacons suffisamment remplis $\geq 80\%$

Saisir cet indicateur pré-analytique dans le tableau de bord des indicateurs
Dossier qualité commun / 02-EVALUATION DE LA QUALITE Indicateurs

Faire une communication aux préleveurs, voire rappel pré-analytique au besoin.

 Laboratoire	Mode opératoire	Référence : S/LAB/A/EVA/IND/MO/001
	Extraction des indicateurs qualité pour le suivi du processus « Hémoculture »	Révision : 001 Date d'application : 11/07/2019

2. TAUX DE POSITIVITE PAR INSTRUMENT ET TIROIR

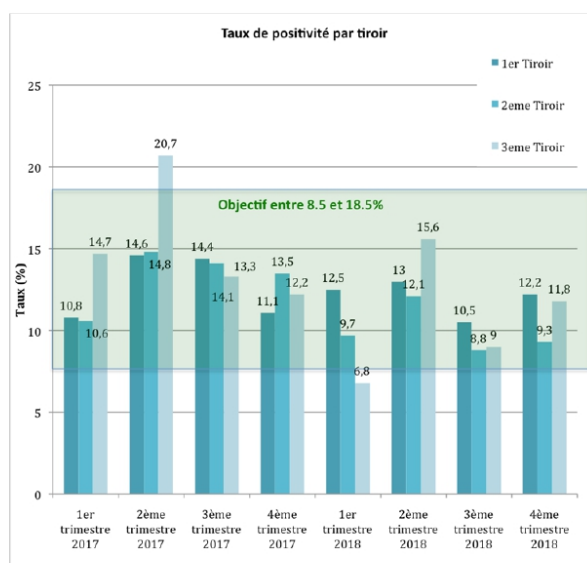
Description: Indicateur analytique permettant de suivre le pourcentage de flacons positifs par tiroir.

Fréquence trimestrielle:

- 1^{er} janvier au 31 mars
- 1^{er} avril au 30 juin
- 1^{er} juillet au 30 septembre
- 1^{er} octobre au 31 décembre

Mode opératoire :

- Ouvrir **EpiCenter** et se loguer
- Rapport
- Rapports filtres
- Prédéfini
 - o 4 – Activités hémocultures BACTEC
 - 2 – Performances des activités hémocultures
 - 27 – BACTEC FX – Taux de positivité par instrument et tiroir
- Ap. avant impr.
- Saisir impérativement les 3 premières lignes
 - o N° instrument BACTEC : 1
 - o Date/heure initiale
 - o Date/heure finale
- Exécuter
- Imprimer le rapport et le ranger dans le classeur
- Compléter le formulaire d'enregistrement des indicateurs



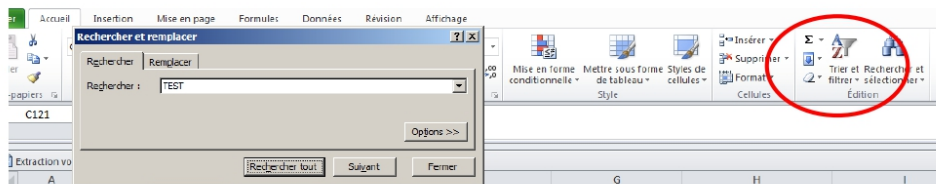
Objectifs :

- Taux de positivité par tiroir avec incubation standard à **13,5% +/- 5%**

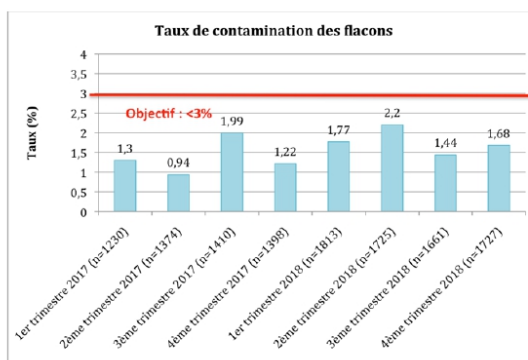
Saisir cet indicateur analytique dans le tableau de bord des indicateurs
Dossier qualité commun / 02-EVALUATION DE LA QUALITE\Indicateurs

Réalisation des statistiques via Excel:

- Ouvrir le fichier nouvellement créé
- Supprimer toutes les lignes correspondant à des dossiers TEST grâce à la fonction « Rechercher »




- Copier la feuille entière et la coller dans la feuille correspondant au trimestre dans fichier Excel de statistiques (*Statistiques extraction conta DxLab – Année n*) se trouvant dans le même dossier.
- Vérifier que les calculs se sont bien faits sur la première page.
- Sauvegarder le fichier de statistiques.



Objectifs: Taux de contamination <math>< 3\%</math>

Saisir cet indicateur pré-analytique dans le tableau de bord des indicateurs
Dossier qualité commun / 02-EVALUATION DE LA QUALITE\Indicateurs

 Laboratoire	Mode opératoire	Référence : S/LAB/A/EVA/IND/MO/001
	Extraction des indicateurs qualité pour le suivi du processus « Hémoculture »	Révision : 001 Date d'application : 11/07/2019

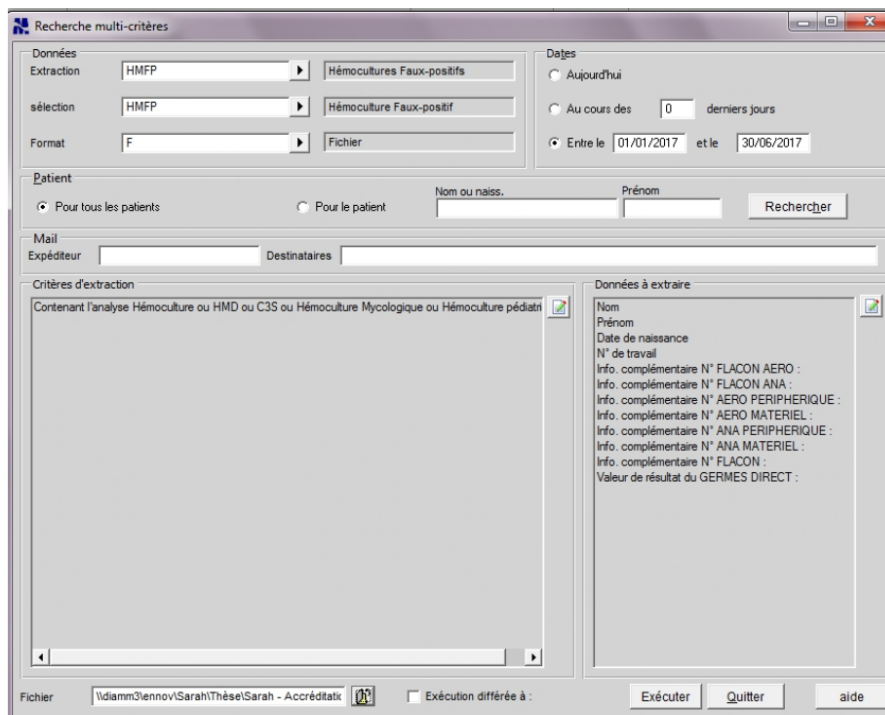
4. TAUX DE FAUX POSITIFS ANALYTIQUES

Description : Extraction de tous les dossiers d'hémoculture avec le résultat de l'examen direct et analyse statistique du résultat « ABS », absence de germe à l'examen direct.

Fréquence semestrielle : 1^{er} janvier au 30 juin 1^{er} juillet au 31 décembre

Mode opératoire :

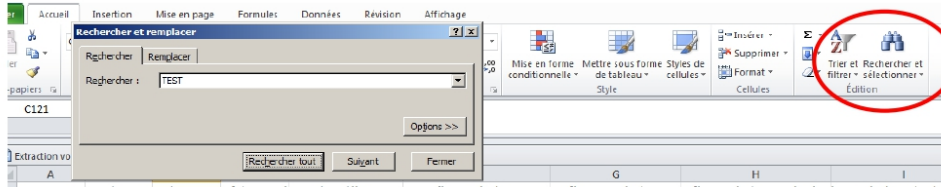
- Ouvrir **DxLab** et se logger en bactério
- Demande / Recherche multi-critères



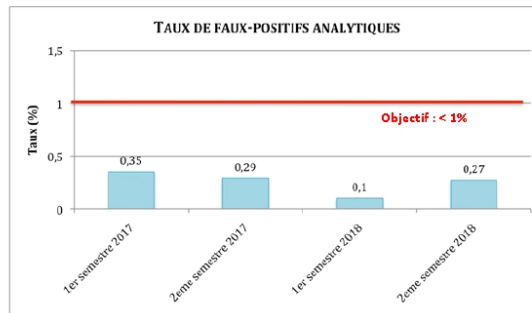
- Dans « Données » Extraction : Sélectionner le code HMFP
Sélection : Sélectionner le code HMFP
- Dans « Dates », sélectionner la période d'intérêt
- Dans « Patients », sélectionner « Pour tous les patients »
- Ne pas modifier les critères d'extraction ou les données à extraire
- Fichier : sélectionner l'emplacement du fichier créé
Dossier qualité commun / 02-EVALUATION DE LA QUALITE / Indicateurs / Indicateurs hémoculture / Faux positifs analytiques / [Année]
Nom : Extraction FP analytiques [semestre] [année]
- Exécuter

Réalisation des statistiques via Excel :

- Ouvrir le fichier nouvellement créé
- Supprimer toutes les lignes correspondant à des dossiers TEST grâce à la fonction « Rechercher »



- Copier la feuille entière et la coller dans la feuille correspondant au semestre dans fichier Excel de statistiques (*Statistiques extraction FP analytique DxLab – Année n*) se trouvant dans le même dossier.
- Vérifier que les calculs se sont bien faits sur la première page.
- Vérifier dans DxLab que les dossiers d'hémoculture avec « Absence » à l'examen direct sont bien stériles, et modifier le résultat au besoin en traçant les fichiers retirés.
- Sauvegarder le fichier de statistiques.



Objectifs : Taux de faux positifs analytiques < 1%

Saisir cet indicateur analytique dans le tableau de bord des indicateurs
Dossier qualité commun / 02-EVALUATION DE LA QUALITE\Indicateurs

5. PROPORTION DES ESPECES RETROUVEES

Description : Extraction de tous les germes (bactéries et levures) isolés des hémocultures sur l'année via le logiciel de gestion épidémiologie/Hygiène INFECTIOGLOBAL.
= Ecologie annuelle des hémocultures.

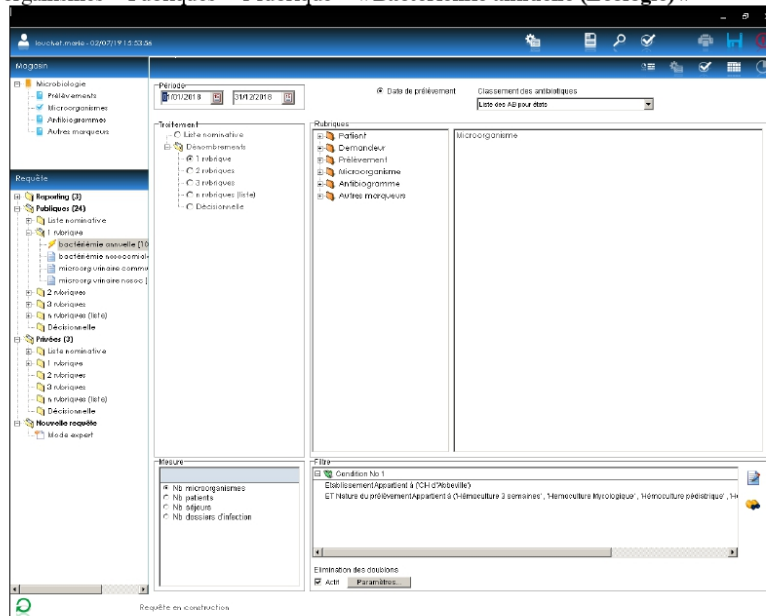
Fréquence: annuelle

Mode opératoire:

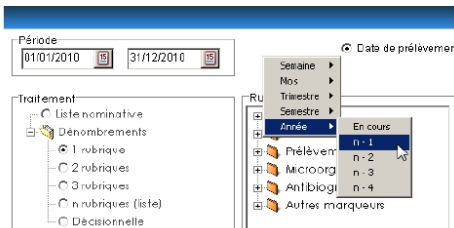
Ouvrir le logiciel **InfectioGlobal**


Dans Onglet « Statistiques », choisir la requête :


Microorganismes > Publiques > 1 rubrique > « Bactériémie annuelle (Ecologie) »



Choisir la période : Clic droit à côté des dates et choisir **Année n-1**.



puis cliquer sur valider .

Sélectionner toutes les cases en cochant chaque germe et re-cliquer sur .

Exporter le fichier en cliquant sur Enregistrer , sélectionner le format de fichier EXCEL (.xls)

Enregistrer le fichier dans le fichier :


Ordinateur > ennov (\\DIAMM3) (Z:) > 02-EVALUATION DE LA QUALITE > Indicateurs > Indicateurs hémoculture > Espèces isolées des hémocultures

En le nommant « *Espèces isolées des hémocultures – Année X* »

Laboratoire

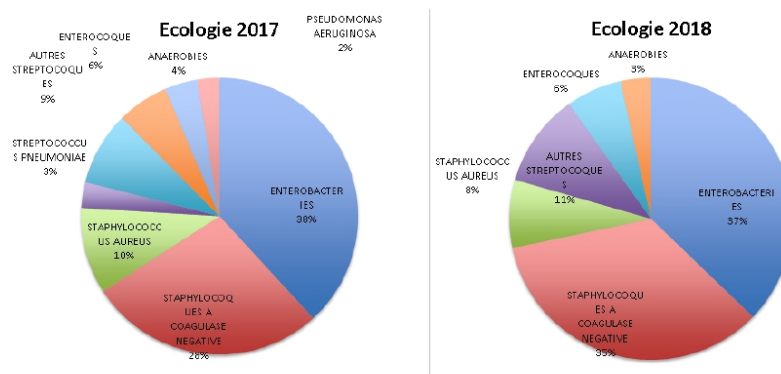
Page 9 sur 10

La version électronique intégrée dans ENNOV fait foi. Toute diffusion externe au service doit être soumise à l'avis de la Direction.

 Laboratoire	Mode opératoire	Référence : S/LAB/A/EVA/IND/MO/001
	Extraction des indicateurs qualité pour le suivi du processus « Hémoculture »	Révision : 001 Date d'application : 11/07/2019

Comparaison des fréquences par catégorie dans Excel:

- Ouvrir le fichier nouvellement créé
- Reporter manuellement la fréquence de chaque espèce retrouvée dans le fichier Excel “*Ecologie annuelle des hémocultures*” dans la colonne “Détail” de l’année correspondante dans la feuille “Détails”.
- Les microorganismes isolés des hémocultures sont classés par catégories, définies comme :
 - Entérobactéries
 - Pseudomonas aeruginosa*
 - Autres bacilles à gram négatif non fermentants
 - Staphylococcus aureus*
 - Staphylocoques à coagulase négative
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Autres Streptocoques
 - Entérocoques
 - Haemophilus / Moraxella / Neisseria / HACCEK*
 - Corynéformes et Actinomyces
 - Anaérobies
 - Levures
 - Bactéries environnementales
 - Pasteurella sp*
 - Campylobacter sp*
- Créer une nouvelle ligne dans la famille correspondante en cas de première identification de cette espèce
- Vérifier que les totaux des colonnes “Détail” et “Par famille” soient les mêmes, et que le total de la colonne “Pourcentage” soit bien à 100.
- Créer les graphiques dans la feuille “Familles”
- Sur la ligne “Autres <2%”, faire la somme des pourcentages inférieurs à 2% (s’aider au besoin d’un code couleur)
- Créer un graphique par section à partir du tableau



Objectifs :

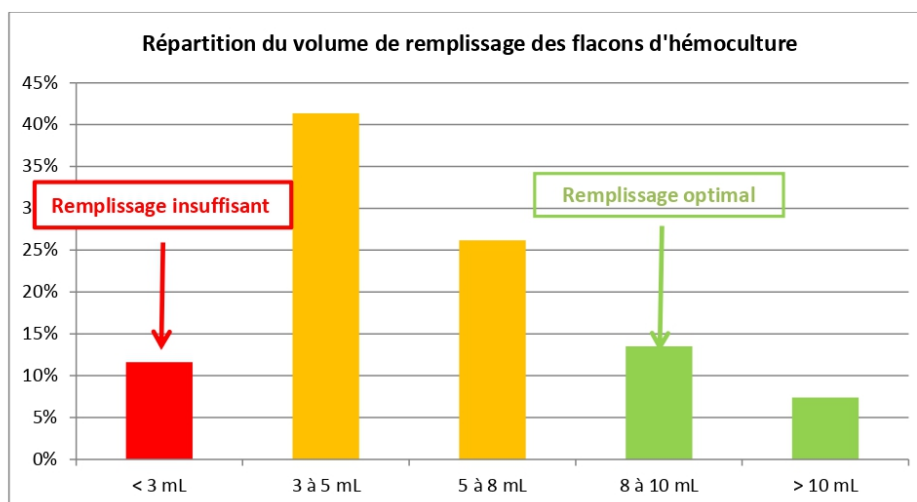
- Diversité des espèces retrouvées
- Capacité de l’automate à détecter les bactéries à croissance fastidieuse, aérobie stricte et anaérobie stricte
- Répartition sensiblement identique d’une année à l’autre

Lettre d'information aux cadres et référents pré-analytiques dans les services

Une étude récente a été réalisée au laboratoire du CH d'Abbeville pour faire un état des lieux du taux de remplissage des flacons d'hémoculture.

Pour rappel, le volume optimal de remplissage est de **8 à 10 mL**, et en dessous de 3 mL, il existe une perte de sensibilité de l'analyse, avec un **risque de rendre une culture stérile à tort**.

L'étude a concerné la période du 30 août au 4 octobre 2017, soit 474 flacons provenant de tous les services. Les résultats sont les suivants :



Afin d'améliorer les pratiques, le laboratoire a mis en place un contrôle systématique du niveau de remplissage des hémocultures arrivant au laboratoire, et un commentaire sera systématiquement rendu pour les flacons stériles et trop faiblement remplis, afin d'alerter le prescripteur pour l'interprétation du résultat de l'analyse.

Merci de faire un rappel au personnel préleveur afin d'optimiser au mieux cette analyse.

Pour toute information complémentaire, n'hésitez pas à vous rapprocher du laboratoire au 5278.

S.POLVECHE Interne du laboratoire

M.LOUCHET-DUCOROY Biologiste

Annexe 5 - Calendrier pour le relevé des indicateurs d'hémoculture



Calendrier de suivi des indicateurs « Hémoculture »

Référence : S/LAB/A/EVA/IND/FO/002
 Révision : 001
 Date d'application : 11/07/2019

Année :

MO : Extraction des indicateurs qualité pour le suivi du processus « Hémoculture » - S/LAB/A/EVA/IND/MO/001

Rappel de fréquence des indicateurs :

- Volume de remplissage : Via Epicenter et via DxLab : **mensuelle**
- Taux de positivité par tiror : **trimestrielle**
- Taux de contamination : **trimestrielle**
- Taux de faux-positifs analytiques : **bi-annuelle**
- Proportion d'espèces retrouvées : **annuelle**

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Aout	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
Volume de remplissage via Epicenter	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL
Volume de remplissage via DxLab	>5ml : %	>5ml : %	>5ml : %	>5ml : %	>5ml : %	>5ml : %	>5ml : %	>5ml : %	>5ml : %	>5ml : %	>5ml : %	>5ml : %
Taux de positivité par tiror	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %	A : % C : % D : %
Taux de contamination	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %
Taux de faux-positifs analytiques	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %	/ %
Proportion d'espèces retrouvées	Cf. Statistiques INFECTIO et diagramme											

Reporter les résultats dans le tableau de bord de suivi des indicateurs :

[Dossier qualité commun\02-EVALUATION DE LA QUALITE\Indicateurs](#)

**Accréditation des hémocultures au laboratoire du centre hospitalier
d'Abbeville : mise en place et suivi d'indicateurs**

Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie
Faisant office de mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Études Spécialisées de Biologie
Médicale

Université de Picardie Jules Verne
Année 2019

Mots clés : hémoculture, bactériologie, microbiologie, indicateurs de qualité, septicémie, volume de remplissage, taux de contamination, taux de positivité, taux de faux-positifs analytiques, écologie microbienne.

RÉSUMÉ

L'incubation automatisée du processus des hémocultures est une étape critique pour l'analyse et doit être maîtrisée au mieux. Pour ce faire, le laboratoire du centre hospitalier d'Abbeville a décidé de mettre en place des indicateurs de qualité afin de suivre différents paramètres de l'analyse : le taux de flacons suffisamment remplis, le volume moyen de remplissage, le taux de contamination, le taux de positivité, le taux de faux-positifs analytiques et l'écologie microbienne des hémocultures. Ces indicateurs ont été suivis pendant plusieurs mois afin d'évaluer la pertinence de leur mise en place, des objectifs fixés et de la fréquence de relevé.

Président du jury : Professeur Gilles DUVERLIE

Membres du jury : Professeur Sandrine CASTELAIN
Docteur Emilie PLUQUET
Docteur Christine SEGARD

Directrice de thèse : Docteur Marie LOUCHET – DUCOROY