

Microbiologie : les changements de l'automne !

La plate-forme analytique du laboratoire multisite Barla a choisi de s'équiper d'un module totalement automatisé pour l'ensemencement, l'identification et l'antibiogramme. Cet équipement est complété par l'utilisation des nouveaux kits eSwab qui augmentent les performances de prélèvement et de conservation durant le transport jusqu'au laboratoire.

Nomenclature : actualisation du diagnostic biologique des infections à Chlamydia.

La performance dès l'étape pré-analytique :

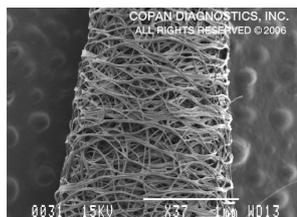
la solution mise en place par le laboratoire articule trois nouveautés : des kits de recueil/milieux de transports utilisés en cabinet médical lors du prélèvement et deux solutions automatisées qui prennent en charge l'ensemencement de l'échantillon puis l'identification du germe et la réalisation de l'antibiogramme.

1. Pourquoi utiliser les nouveaux kits eSwab ?

Le milieu liquide et l'écouvillon floqué permettent de collecter et de transporter dans des conditions optimales de survie tous les germes aérobies et anaérobies, y compris les plus fragiles.

Absorption améliorée : l'écouvillon classique capture en moyenne un volume de 105 µl contenant 229 CFU*. L'écouvillon de nylon floqué de microfibrilles creuses (eSwab) réalise une absorption par capillarité et capture en moyenne un volume de 131 µl contenant 286 CFU*.

Relargage amélioré : la récupération, au laboratoire, des germes prélevés par écouvillon classique est très limitée car les matériaux de l'écouvillon ne relarguent que environ 20% des microorganismes prélevés. Avec l'écouvillon eSwab, grâce au floquage perpendiculaire des fibres de nylon, l'échantillon reste contenu au niveau de l'extrémité des fibres. Lorsqu'elles se trouvent en contact du milieu de transport liquide, elles relarguent immédiatement jusqu'à 90% des microorganismes.



écouvillon classique : enchevêtrement serré des fibres qui ne relarguent que 20% des micro-organismes prélevés.



écouvillon eSwab : floquage perpendiculaire des fibres de nylon qui relarguent 90% des micro-organismes prélevés.

On obtient 1 ml de suspension homogène de l'échantillon en phase liquide

Viabilité et stabilité augmentées : Le milieu de transport liquide améliore la viabilité des germes aérobies, anaérobies, des levures et des bactéries fragiles, comme les gonocoques (*Neisseria gonorrhoeae*). Il préserve également les acides nucléiques et antigènes bactériens.

Réduit les risques de faux négatif.

Amélioration du Gram : le milieu de recueil des kits eSwab améliore aussi la qualité des étalements destinés à la coloration de Gram. L'interprétation des lames obtenues lors de l'observation microscopique est rendue plus franche, les éléments présents sont mieux visualisés que lors des étalements à partir de l'écouvillon classique.

Viabilité une fois prélevé : 48H à température ambiante

Le prélèvement en pratique :

pour la recherche de tout germe ou levure : utiliser un kit eSwab

prélever et décharger dans le milieu de transport.



Si recherche de mycoplasme : utiliser un autre kit eSwab

prélever et décharger dans le milieu de transport.



Pour la recherche des *Chlamydiae* trachomatis : rien ne change, utiliser le multicollector Abbott

prélever et décharger dans le milieu de transport.



Ne plus étaler de lame lors du prélèvement.



Les kits de prélèvement vous sont fournis sur simple demande au secrétariat de notre plateforme logistique : 04 92 00 43 20

2. Les apports d'un ensemencement automatisé.

Réalisée par le système *Walk Away Specimen Processor (WASP®)*, l'étape de l'ensemencement bénéficie d'une standardisation qui améliore les délais, la qualité et la sécurité.

L'étape de l'ensemencement des milieux de culture a pour but de faire croître les germes présents afin d'en obtenir une quantité suffisante et nécessaire pour rendre possible leur analyse. Elle permet aussi de déterminer la concentration initiale en germes du recueil biologique. Cette étape, lorsqu'elle est manuelle, est opérateur dépendante, et donc par voie de conséquence, la qualité des cultures obtenues par méthodes manuelles est inégale d'un opérateur à l'autre.

Apporte une standardisation optimum : grâce à la solution automatisée WASP®, l'aspect des cultures est considérablement amélioré et notamment la qualité de l'isolement des colonies, d'autant plus importante lors de cultures présentant plusieurs germes différents. En effet, lors de l'ensemencement manuel, il est très fréquent d'être obligé de « repiquer » une colonie dans le but de l'isoler d'avantage avant de pouvoir en étudier les caractéristiques qui permettront d'identifier l'espèce concernée et sa sensibilité aux antibiotiques. Cette étape supplémentaire, qui s'impose souvent pour rendre un résultat de qualité, demande 1 à 3 jours suivant le germe. Avec ce système d'ensemencement automatisé, les colonies sont désormais d'emblée bien isolées ce qui permet le plus souvent, de mettre en œuvre une identification et un antibiogramme sans délais.

Il apporte une sécurité optimale aux différents opérateurs durant le transport jusqu'au laboratoire, durant la phase analytique, en effet le WASP® débouche et rebouche automatiquement tous les échantillons. Le système assure une protection totale des opérateurs face aux risques d'aérosols.

Il procure une traçabilité totale des échantillons, des numéros de lots réactifs, des résultats analytiques (plus aucune saisie manuelle, contrôles de qualité automatiques) par la lecture code à barre des échantillons et l'étiquetage automatique de tous les milieux de culture ensemencés.

3. Les apports de l'automatisation de l'identification et l'antibiogramme.

C'est un bon choix pour détecter les résistances émergentes en routine.

L'automate Walk Away® de Siemens est un des premiers systèmes aux recommandations françaises et européennes. La technique d'antibiogramme en micro dilutions (vraies CMI*) est la plus proche de la technique de référence en micro-dilution recommandée par la CASFM. Cette mesure est non dépendante de l'identification et permet notamment la confirmation des BLSE par des tests de synergie réalisés en routine. Il apporte une amélioration pour la détection des résistances émergentes (KPC, BLSE, CTXM,...). Par ailleurs, les résistances de bas niveau sont directement détectées, cela évite des relances de tests complémentaires.

Il augmente la rapidité grâce à la technologie "read-when-ready" qui procure un résultat disponible dès que la croissance est suffisante et permet de rendre des résultats en temps réel. Le temps libéré permet d'utiliser des compétences de techniciens pour des tâches moins répétitives.

Il garantit une meilleure reproductibilité grâce à la standardisation des processus automatisés.



Acte 5257 :

Recherche d'ADN ou d'ARN de Chlamydia trachomatis par amplification génique in vitro sur tout type d'échantillons à partir de sites possiblement infectés **B 85**

Circonstances cliniques :

- diagnostic étiologique et suivi d'efficacité thérapeutique d'une infection génitale symptomatique, haute ou basse, ou d'une rectite ;
- diagnostic étiologique et du suivi d'efficacité thérapeutique d'une conjonctivite ou d'une pneumopathie néonatale ;
- dépistage des infections génitales asymptomatiques dans des circonstances particulières : dépistage des personnes à risque ; bilan d'hypofertilité ;
- diagnostic étiologique et du suivi d'efficacité thérapeutique des arthrites réactionnelles.

Sites de prélèvement :

Un seul site est à analyser sauf dans les cas suivants :

- selon le comportement sexuel : en cas de rapport sexuel anal et/ou pharyngé : rechercher C. trachomatis dans les deux ou trois sites : association prélèvements génital, rectal et/ou pharyngé ;
- si la symptomatologie clinique fait évoquer un syndrome de Flessinger Leroy Reiter : rechercher C. trachomatis dans deux ou trois sites : génital, conjonctival, articulaire ;
- dans l'exploration d'une infection haute, rechercher la bactérie au niveau du col et/ou du haut appareil génital (endomètre, liquide de Douglas, biopsie des trompes, par exemple) : un ou deux sites ;
- dans l'exploration d'une épididymite, d'une prostatite, d'une infertilité d'origine masculine : rechercher la bactérie dans le premier jet d'urine et dans le sperme ;
- dans l'exploration de la lymphogranulomatose vénérienne (LGV), rechercher dans le ganglion satellite et les éventuelles ulcérations.

Une seule cotation de l'acte 5257 par patient.

Actualisation du diagnostic biologique des infections à Chlamydia à la NABM :

Le 7 juillet dernier, l'Union Nationale des Caisses d'Assurance Maladie a actualisé les actes concernant les infections à Chlamydia, décision parue au journal officiel de mercredi 5 octobre. Evoqués jusqu'alors dans différents chapitres, ils figurent maintenant dans le nouveau chapitre 19 : « Microbiologie médicale par pathologie », rubrique « Infections à Chlamydia trachomatis » et sont réduits à deux actes :

Acte 1307

Sérologie de Chlamydia trachomatis
IgG chez l'adulte ou IgM chez le nouveau-né ou le nourrisson **B 40**

Circonstances cliniques :

n'est pris en charge que sur prescription explicite et limitée aux indications suivantes :

- chez l'homme et la femme, recherche d'IgG en cas de :
 - suspicion d'infections hautes ;
 - suspicion de lymphogranulomatose vénérienne (ulcération génitale, rectite) ;
 - bilan d'hypofertilité du couple ;
 - diagnostic d'une arthrite réactionnelle ou d'un syndrome de Flessinger Leroy Reiter ;
 - chez le nouveau-né ou le nourrisson, recherche d'IgM en cas de suspicion de pneumopathie atypique.

Une seule cotation de l'acte 1307 par patient.

Elle n'est pas cumulable avec celles des différents sérodiagnostics Chlamydia pneumoniae ou psittaci (actes 1308, 3308 1309 3309).

Ce qu'il faut aussi savoir :

- Lors de la réalisation des examens microbiologiques des sécrétions, exsudats et ulcérations de localisation génitale et ano-génitale :
 - o chez la femme (acte 5202, B140) : la recherche d'ADN ou d'ARN de Chlamydia trachomatis (acte 5257) se fait sur prescription explicite ou à l'initiative du biologiste et les deux actes sont cumulables.
 - o chez l'homme (acte 5203 B 120) la recherche d'ADN ou d'ARN de Chlamydia trachomatis (acte 5257) doit être systématiquement réalisée et facturée en plus.

- La recherche de Mycoplasma dans les urines (5253) est un examen exécuté uniquement sur prescription explicite. Sa cotation n'est pas cumulable en première intention avec celle de l'acte 5201 (ECBU). Elle n'est pas compatible avec un examen microbiologique du sperme (acte 5205).

- La recherche de Chlamydia trachomatis ne doit pas être effectuée et facturée lors de la réalisation d'un ECBU.

- La recherche de Mycobacterium par culture dans les urines est un examen de seconde intention, exécuté sur prescription spécifique ultérieure au vu des premiers résultats. Cette recherche doit être effectuée sur la totalité de la première miction du matin, trois jours consécutifs. Sa cotation est cumulable avec celle de l'acte 5202.

Responsable biologie moléculaire : Dr Lilli Pandiani
Responsable microbiologie : Dr Christophe Maruéjols

lilli.pandiani@labco.eu Mob : 06 03 01 65 50
christophe.maruejols@labco.eu Mob : 06 25 97 05 41