

# Suspicion de contamination bactérienne d'un produit sanguin

**L'analyse microbiologique est essentielle en cas de suspicion de contamination bactérienne d'un produit sanguin. D'une part, un microorganisme éventuellement présent doit être identifié le plus tôt possible pour permettre une thérapie antibiotique ciblée, et d'autre part, la cause de la contamination bactérienne du produit doit être éliminée. Nous décrivons ici la méthode pour l'analyse microbiologique, en y incluant la préanalytique (par ex. échantillonnage). La technique du prélèvement stérile de l'échantillon de la poche de sang est essentielle pour la qualité des résultats.**

Markus Jutzi

## Introduction

Depuis la fin des années nonante, on réalise mieux le risque de contamination bactérienne dues à des transfusions sanguines. Deux grandes études nationales menées aux Etats-Unis (étude Bacon) et en France (étude Bachthem) ont en effet souligné l'importance des infections bactériennes liées aux transfusions. Environ 1:6000 concentrés de plaquettes (CP) provoque des bactériémies, 1:140 000 CP est à l'origine de septicémies, et environ 1:500 000 CP provoquent des décès. Le risque de contamination des concentrés érythrocytaires (CE) est dix fois moindre. M. A. Blajchman estime l'incidence d'incidents bactériologiques à 1:500 000 pour les CE. Ces différences s'expliquent par les températures de stockage différentes (4°C pour les CE et 20–24 °C pour les CP)

Généralement, une analyse microbiologique du produit est recommandée lorsque la température corporelle atteint ou dépasse 38 °C avec une augmentation de 1 °C ou plus. Une approche plus nuancée tient compte des critères suivants:

Une analyse microbiologique du produit est indispensable lorsque:

1. la température corporelle dépasse 39 °C avec ou sans autres symptômes d'ordinaire pendant la transfusion ou dans les six heures qui la suivent.

2. la température corporelle dépasse 38 °C avec une augmentation de 1 °C ou plus d'ordinaire pendant la transfusion ou dans les six heures qui la suivent et l'augmentation de la température corporelle s'accompagne d'un ou de plusieurs symptômes suivants:

- frissons,
- hypotension,
- choc septique,
- tachycardie (augmentation du rythme cardiaque de > 40 battements par minute),
- dyspnée,
- malaises / vomissements,
- coagulation intravasculaire (CIVD),
- l'administration d'antipyrétiques n'entraîne pas de diminution de la fièvre.

Dans certains cas cliniques, une analyse microbiologique peut également être indiquée en cas d'élévation marginale de la température. En effet, en cas d'insuffisance médullaire ou de patient immunodéprimé, les symptômes classiques d'un syndrome de réponse inflammatoire systémique (SIRS) et d'une infection peuvent être larvés. Dans de rares cas, les premiers symptômes peuvent se présenter plus de 6 heures après la transfusion d'un produit sanguin bactériellement contaminé.

## Matériel nécessaire / aspects logistiques

Il convient de sceller la poche de sang à l'aide d'un bouchon Luer Lock stérile (voir fig. 1 et 2), et de l'envoyer avec ou

sans le kit de perfusion dans un sachet en plastique afin de la faire analyser par le laboratoire de microbiologie. En cas de forte suspicion d'infection chez le receveur, il y a lieu d'expédier le produit sanguin administré et de procéder à des hémocultures chez le patient dans les plus brefs délais afin de pouvoir initier rapidement une antibiothérapie ciblée. Si la poche de sang en question ne peut être examinée immédiatement, elle doit être conservée à 2–8 °C.

La préparation de l'échantillon destiné à l'analyse microbiologique – ainsi que le rinçage éventuel de la poche (voir ci-dessus), le prélèvement, et la mise en culture doivent être menés à bien en une seule étape et sans interruption. Soulignons que le fait d'avoir recours à une technique stérile de prélèvement et de supprimer toute manipulation inutile des échantillons prélevés contribue



**Le bouchon Luer Lock bleu est celui qui est utilisé habituellement pour reboucher les venflons par exemple. Photographies gracieusement mises à disposition par le Dr Züger.**

à réduire le risque de contamination secondaire.

N.B.: les segments de tubulure scellés et séparés de la poche ne doivent pas faire l'objet d'une analyse microbiologique car ils ne sont pas représentatifs.

### Pré-analytique

#### (laboratoire de microbiologie)

#### Cas de figure n° 1: il reste encore environ 10–20 ml de produit dans la poche

- ôter le kit de perfusion et fermer l'ouverture de façon stérile (bouchon Luer lock ou clampage);
- percer un des raccords inutilisés de la poche avec un perforateur relié à un embout terminal Luer lock mâle (par ex. Baxter REF EMC 1401) en respectant les règles de l'asepsie; si la poche ne présente qu'un seul raccord (déjà utilisé pour la transfusion), désinfecter celui-ci pendant au moins une minute avec un produit désinfectant (alcool à 70%) avant d'y introduire le perforateur;
- prélever stérilement à l'aide d'une seringue 20 ml ou l'ensemble du volume restant de produit, et suivre le processus détaillé à la section «Analyses microbiologiques».

#### Cas de figure n° 2: il reste moins de 20 ml de produit dans la poche

- ôter le kit de perfusion et fermer l'ouverture de façon stérile (bouchon Luer lock ou clampage);
- si la tubulure contient encore du produit, celui-ci peut être recueilli et mis en culture indépendamment de ce qui suit;
- percer un des raccords inutilisés de la poche avec un perforateur relié à un embout terminal Luer lock mâle (par ex. Baxter REF EMC 1401) en respectant les règles de l'asepsie; si la poche ne présente qu'un seul raccord (déjà utilisé pour la transfusion), désinfecter celui-ci pendant au moins une minute avec un produit désinfectant (alcool à 70%) avant d'y introduire le perforateur;
- si possible, prélever avec une seringue d'abord du produit non dilué pour une préparation microscopique;
- rincer ensuite la poche en injectant env. 20 ml de NaCl, de bouillon ou de solution de PBS stérile en fonction du produit disponible dans le labora-

toire (il s'agit d'utiliser suffisamment de liquide pour rincer correctement la poche tout en évitant une dilution trop forte des bactéries éventuelles); agiter la poche;

- au moins cinq fois à 180° sur son axe sagittal resp. transversal en maintenant la connexion avec le perforateur et la seringue; le liquide devrait alors avoir rincé entièrement la surface intérieure de la poche;
- prélever le liquide de rinçage.

#### Analyses microbiologiques

- préparer une coloration de gram ou, si possible, une coloration à l'acridine orange (meilleure sensibilité);
- ensemercer deux flacons d'hémoculture (un flacon de culture aérobie et un flacon de culture anaérobie) et procéder comme pour les hémocultures du patient (incubation, sous-culture etc.);
- ensemercer directement sur une gélose chocolat, incubé à 35–37 °C sous atmosphère contenant 5% de CO<sub>2</sub>, et suivre ensuite la procédure habituelle du laboratoire pour les liquides de ponction d'origine stérile;
- conserver les éventuels liquides restants dans un récipient stérile (tube conique par exemple) jusqu'à la fin de l'analyse.

#### Interprétation

- La mise en évidence de micro-organismes par la coloration de gram est d'une grande importance pour le diagnostic. En effet, lors de l'étude Bacon, la coloration de gram était positive dans 26 des 28 (93%) produits ayant provoqué des chocs septiques. Un résultat positif témoigne non seulement d'une concentration non négligeable de bactéries dans le produit sanguin – ce qui explique l'importance clinique du résultat – mais livre également les premiers indices sur le type d'agent bactérien.
- Si le même germe est identifié dans le produit et dans l'hémoculture du patient, il est certain que la contamination bactérienne résulte de la transfusion.
- En revanche, si la culture du produit est négative, il est peu probable que le produit sanguin transfusé soit contaminé de manière significative par des bactéries.

#### Conservation des isolats

Tous les échantillons de sang du patient et des produits sanguins examinés dans le cadre de l'incident transfusionnel présumé doivent être conservés dans des conditions permettant la survie des microorganismes (dans un tube de gel d'agarose durcie ou par congélation) pendant au moins trois mois en vue d'éventuelles analyses supplémentaires (typage notamment).

#### Remarque

En Suisse, il n'existe pas, à l'heure actuelle, d'instructions obligatoires précisant les modalités techniques applicables aux analyses bactériennes des produits sanguins. Pour cette raison nous avons élaboré la présente recommandation en collaboration avec le «Mikrobiologie-Kolloquium Nordwest- und Zentralschweiz».

L'objectif de ce document est de permettre à tous les laboratoires de microbiologie de détecter une contamination d'un produit sanguin par des bactéries selon un mode opératoire standardisé mais adapté aux spécificités et aux contraintes locales (SOP).

Dr Markus Jutzi  
Microbiologie Médicale FAMH  
Swissmedic  
Hallerstrasse 7  
3000 Berne 9  
marianne.senn@swissmedic.ch  
Markus.jutzi@swissmedic.ch

#### Références

- 1 OAMéd, art 25, al. 1, let. d
- 2 Perez P et al. Determinants of transfusion-associated bacterial contamination: results of the French Bacthem Case-Control Study. *Transfusion*. 2001; 41(7):862.
- 3 Kuehnert MJ. et al., Transfusion-transmitted bacterial infection in the US, 1998–2000 (BaCon study). *Transfusion*. 2001;41:1493–9.
- 4 Weinauer F. Forum Hämotherapie: Sicherheit von Blutprodukten.
- 5 ISBT Working Party on Haemovigilance September 2006.
- 6 Nyström PO. *J Antimicrob Chemother*. 1998;41(Suppl A):1–7.
- 7 ASM Clinical Microbiology Procedures Handbook. 11.11.1-4, 1992, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 8 Montag T. Springer Verlag: Bundesgesundheitsblatt 1999;42:132–42.