

Connaître les pièges pré-analytiques et analytiques

L'hémoculture est négative (vraiment?)

Chiara Scotti^a, médecin diplômée; Dr méd. Julien Castioni^a; Dr méd. Antoine Garnier^a;
PD Dr méd. Laurence Senn^b; Prof. Dr méd. Gilbert Greub^c; Dr méd. David Gachoud^a

Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV), Lausanne

^a Service de médecine interne; ^b Service de médecine préventive hospitalière; ^c Institut de microbiologie

Vous trouverez l'éditorial relatif à cet article à la page 147 de ce numéro et l'article complémentaire «L'hémoculture est positive (vraiment?)» à la page 157.

Description du cas

Un patient de 59 ans se présente avec asthénie, sudations nocturnes et arthralgies, deux mois après un remplacement de valve mitrale par prothèse mécanique. A l'admission, il présente une fièvre à 39 °C, des frissons et un souffle holosystolique au foyer mitral, d'intensité 2/6, sans autre particularité. Trois paires d'hémocultures sont prélevées. L'échocardiographie transthoracique retrouve une légère insuffisance mitrale, sans végétations. Le CT thoraco-abdominal et l'examen rétinien ne montrent pas d'embolies septiques. Le sédiment urinaire est sans particularité. La suspicion d'endocardite sur valve prothétique, retenue en l'absence d'autre foyer, est traitée empiriquement par vancomycine et gentamicine.

Effectuée au 3^{ème} jour de traitement alors que le patient est afébrile, l'échocardiographie transoesophagienne n'amène pas d'élément supplémentaire. Les hémocultures sont pour l'instant en cours.

Question: Sur la base de ces résultats, quelle est votre attitude?

- Vous interrompez le traitement antibiotique en vue d'une fenêtre thérapeutique et optez pour une surveillance clinique quotidienne en milieu hospitalier.
- Vous maintenez la bithérapie antibiotique et proposez de l'interrompre si les trois paires d'hémocultures restent négatives au 5^{ème} jour d'incubation.
- Vous maintenez la bithérapie antibiotique et proposez de la poursuivre, même si les trois paires d'hémocultures restent négatives au 5^{ème} jour d'incubation.
- Vous maintenez la bithérapie antibiotique et proposez de suite deux paires supplémentaires d'hémocultures en suspectant un faux négatif.

Réponse:

La réponse correcte est c.

Discussion

Introduction

La capacité limitée à prédire une bactériémie en fonction de l'appréciation clinique et la crainte d'omettre ce

diagnostic génèrent une large prescription des hémocultures et un faible rendement, avec 92 à 96% des prélèvements qui reviennent négatifs [1]. Ce taux élevé de cultures stériles reflète le plus souvent l'absence de bactériémie. Cependant, il ne faut pas méconnaître le risque de faux négatif et évoquer cette possibilité lorsque la clinique suggère une infection endovasculaire ou un foyer infectieux non maîtrisé. Il existe en outre des contextes particuliers, comme la suspicion d'endocardite, qui imposent une documentation microbiologique et qui justifient des efforts particuliers pour identifier le germe en cause. Enfin, en cas de fièvre d'origine indéterminée, il paraît légitime de limiter le risque d'examen faussement négatifs susceptibles d'induire un retard diagnostique. Le taux de faux négatifs est estimé entre 0,3 et 15,3% [2].

Aspects pré-analytiques

Certaines bonnes pratiques aident à limiter les faux négatifs. Tout d'abord, un volume adéquat de sang permet d'augmenter la détection de pathogènes faiblement concentrés à un instant donné dans la circulation sanguine. La sensibilité des hémocultures augmente ainsi proportionnellement au volume de sang prélevé [3, 4]. La sensibilité cumulée pour la détection de bactériémies avérées à un seul germe s'élève à 73,1% et 89,7% après une et deux paires respectivement, alors qu'elle peut atteindre 98,2% et 99,8% après trois et quatre paires respectivement [4].

D'une manière générale, en cas de suspicion de bactériémie, il est proposé d'effectuer deux paires d'hémocultures. Dans des contextes particuliers, comme ici la suspicion d'endocardite ou la fièvre d'origine indéterminée ou encore chez le patient neutropénique, il est recommandé de prélever trois paires. Il n'y a pas de recommandations claires pour des prélèvements répétés dans d'autres contextes. En cas de récurrence d'état fébrile au cours des 24 heures, le bénéfice de prélever une 4^{ème} paire est limité [4]. Il est recommandé de prélever 8 à 10 ml de sang par bouteille.

Il n'y a actuellement pas d'indication à respecter un intervalle de temps entre le prélèvement de chaque



Chiara Scotti



Figure 1: Exemple de système d'incubation des bouteilles d'hémocultures.

paire [1–3]. En effet, la notion de bactériémie intermittente n'est pas prouvée et il est intéressant de collecter en une fois un volume plus important de sang pour des raisons de sensibilité et de diminution du risque de contamination des prélèvements, d'exposition du personnel soignant aux liquides biologiques et d'inconfort pour le patient [2].

Un traitement antibiotique ou antifongique en cours baisse significativement la sensibilité des hémocultures [5]: Cheng et al. retrouvent une différence absolue de 12% de prélèvements positifs avant et après l'introduction du traitement dans une population adulte présentant un sepsis sévère [6]. Tout prélèvement doit par conséquent être effectué avant le début du traitement ou avant tout changement.

Concernant la technique de prélèvement, il est important de bien désinfecter le site de ponction et de laisser sécher l'antiseptique avant de procéder à la ponction [7]. La bouteille aérobie sera remplie en premier parce

que la présence dans la tubulure de bulles d'air pourrait empêcher la croissance des pathogènes strictement anaérobies [8].

Le risque de faux négatifs est fortement lié au temps écoulé avant la mise en incubation. Idéalement, les bouteilles doivent être acheminées au laboratoire directement après le prélèvement afin d'y être placées en incubation dans un automate (fig. 1). Si cela n'est pas possible, une conservation à température ambiante et un délai d'acheminement <12 heures minimisent ce risque [2].

Aspects analytiques

Après la mise en incubation des bouteilles, des systèmes automatiques détectent la production de CO₂, témoin de la croissance des microorganismes. Le temps nécessaire à la détection est influencé par la quantité de germes initialement présents dans l'échantillon. Il est également influencé par le type de germes, dont certains sont dit fastidieux en raison de leur croissance lente, comme p.ex. *Brucella*, les germes du groupe HACEK (*Haemophilus – parainfluenzae*, *Aphrophilus* et *paraphrophilus* –, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* et *Kingella kingae*) ou encore les champignons, mycobactéries et anaérobies stricts (*Bactéroïdes* spp., *Actinomyces* spp., *Fusobacterium* spp., etc).

Lorsqu'une bouteille d'hémoculture est positive, l'étape suivante est la réalisation d'une coloration de Gram. Au Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV), cette procédure est pratiquée en parallèle sur le bouillon natif, pour observer la disposition des colonies, et sur un culot à haute concentration microbienne, obtenu par centrifugation et hémolyse du contenu d'une bouteille.

En combinaison avec la mise en culture sur plaque d'agar, des méthodes de laboratoire récentes présentent l'avantage d'accélérer l'identification du germe. Ces méthodes comprennent les techniques ciblant les acides nucléiques des germes, p.ex. PCR («polymerase chain reaction»), l'hybridation in situ et le MALDI-TOF («matrix-assisted laser desorption ionisation – time of flight/mass spectrometry») [9]. Cette dernière utilise la spectrométrie de masse sur un échantillon bactérien pour définir un profil protéique qui sera spécifique à cette bactérie. Le contexte clinique doit être adéquatement communiqué au laboratoire en vue d'un usage optimal des méthodes à disposition.

Discussion du cas

Notre patient présente un tableau suspect d'endocardite, sans bactériémie documentée à 3 jours des premiers prélèvements. Cette situation doit faire évoquer

la présence d'un germe «fastidieux», même si trois paires d'hémocultures ont été prélevées tel qu'il est recommandé dans ce contexte. Un nouveau prélèvement n'est pas nécessaire à ce stade.

Bien que les hémocultures se positivent habituellement dans un délai de 6 à 72 heures, le laboratoire du CHUV poursuit la culture jusqu'au 5^{ème} jour [9]. Au-delà, seuls 2,7% des bouteilles se positivent [2]. Ainsi, en cas de suspicion clinique élevée de bactériémie, il est judicieux d'évoquer la présence de ces germes, produisant peu de CO₂ ou croissant lentement, et d'attendre au moins 5 jours, ce qui est en principe suffisant pour les bactéries du groupe HACEK [2]. La prolongation des hémocultures au-delà de 5 jours se fera au cas par cas, typiquement comme chez notre patient avec une suspicion élevée d'endocardite.

Le diagnostic différentiel des endocardites à hémocultures négatives d'origine infectieuse comprend *Coxiella burnetii* (fièvre Q), *Bartonella* spp., *Brucella* spp., *Tropheryma whippeli*, *Chlamydia* spp., *Legionella* spp. et les champignons. D'autres approches diagnostiques, impliquant notamment des sérologies ou des PCR, sont à considérer dans ces situations [10].

Finalement, à 7 jours d'incubation, les hémocultures reviennent positives pour un *Aggregatibacter acti-*

nomycetemcomitans du groupe HACEK (6/6b, 3/3p). Le traitement antibiotique est restreint à la ceftriaxone et poursuivi pendant 6 semaines avec évolution favorable. Contrairement au cas de ce patient, les bactéries du groupe HACEK infectent plus volontiers des valves natives.

Disclosure statement

GG reports acting as Medical advisor of Resistell and having grants & corresponding research agreements with Resistell and with Becton Dickinson (BD); Resistell is a start-up working on antibiotics susceptibility of bacteria based on nanomotion technology; with BD, the project is mainly related to automation of culture-based diagnosis; GG is also the Vice director of JeuPRO, a start-up distributing the game Krobs (see www.krobs.ch). The other authors reported no financial support and no other potential conflict of interest relevant to this article.

Références

- Coburn B, Morris AM, Tomlinson G, Detsky AS. Does this adult patient with suspected bacteremia require blood cultures? *JAMA*. 2012;308(5):502–11.
- Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the-art. *Front Microbiol*. 2016;7:697.
- Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol*. 1994;32(11):2829–31.
- Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol*. 2007;45(11):3546–8.
- McKenzie R, Reimer LG. Effect of antimicrobials on blood cultures in endocarditis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1987;8(3):165–72.
- Cheng MP, Stenstrom R, Paquette K, Stabler SN, Akhter M, Davidson AC, et al. Blood culture results before and after antimicrobial administration in patients with severe manifestations of sepsis: a diagnostic study. *Ann Intern Med*. 2019;171(8):547–54.
- 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*. 2015;43(11):1222–37.
- Greub G. Diagnostique étiologique des bactériémies. *Pipette* 2017 Juin;3:8–10.
- Opota O, Croxatto A, Prod'homme G, Greub G. Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21(4):313–22.
- Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, Bongioni MG, Casalta JP, et al. ESC Scientific Document Group, 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: the task force for the management of infective endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2015;36,issue 44(21):3075–128.

Correspondance:
Chiara Scotti,
médecin diplômée
Service de médecine interne
Centre hospitalier
universitaire vaudois
Rue du Bugnon 46
CH-1011 Lausanne
[chiara.scotti\[at\]chuv.ch](mailto:chiara.scotti[at]chuv.ch)

Messages principaux

- Le clinicien doit reconnaître que l'absence de croissance d'un germe après 3 jours d'incubation d'une ou plusieurs paires d'hémocultures n'est pas suffisant pour exclure une bactériémie face à un problème soit pré-analytique (mauvaise technique de prélèvement de sang, volume prélevé insuffisant ou délai d'acheminement supérieur à 12 heures), soit analytique (germe dit «fastidieux»). Ainsi, l'incubation des hémocultures à 5 jours ou plus peut représenter le moyen de documenter une bactériémie qui passerait autrement inaperçue.
- La discussion des cas complexes avec un spécialiste en maladies infectieuses permet d'établir une prise en charge optimale sur les plans diagnostique et thérapeutique.