



**مختبر زروال قواسم**  
**LABORATOIRE ZEROUAL KAWASSIM**

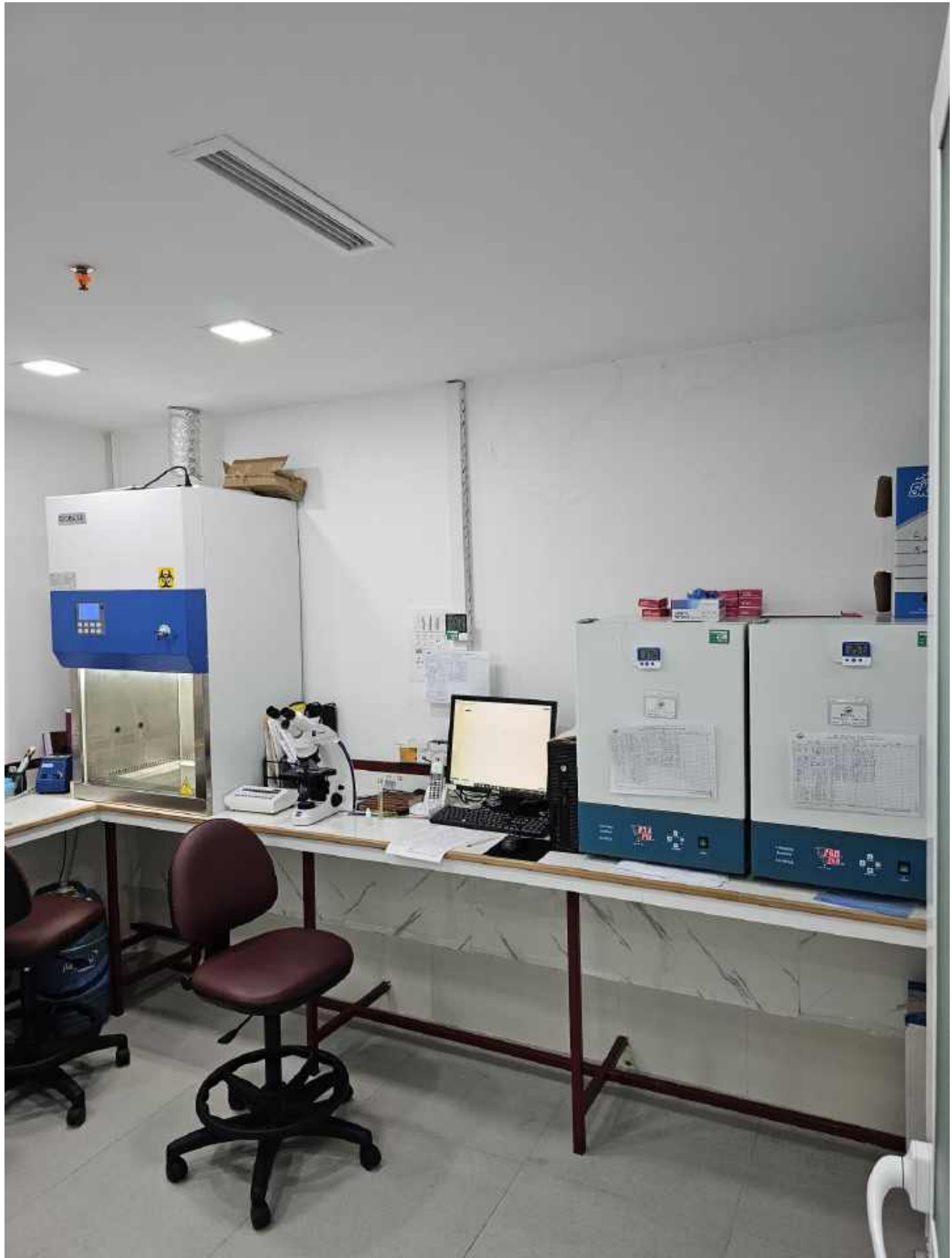
# **MANUEL DE PRELEVEMENT**

PRV-FORM-001 V1 04/04/2025

## SECRETARIAT DU LABORATOIRE



## PLATEAU MEDICO-TECHNIQUE DU LABORATOIRE



## Carte d'Identité de l'Etablissement

ICE :	003354141000012
IF :	18723216
TP :	50211907
INPE :	01365768
Directeur du Laboratoire :	Dr LAHLOU Taoufik l.taoufik@leslaboratoireszeroual.ma
Administrateur du Laboratoire :	Dr ZEROUAL Adel a.zeroual@leslaboratoireszeroual.ma
Fixe :	0539383557
Siteweb :	www.leslaboratoireszeroual.ma

## Contacts Utiles

<b>1. Coordonnées générales du Laboratoire :</b> ✓ <b>Adresse :</b> Al Moujahidine Complexe Kawassim Tranche N°7 Bloc 73 Magasin N°60-Tanger ✓ <b>WhatsApp :</b> +212 6 44 38 82 86 ✓ <b>Standard :</b> +212 5 39 38 35 37 ✓ <b>E-mail :</b> kawassimlab@gmail.com ✓ <b>Site web :</b> www.leslaboratoireszeroual.ma	
<b>2. Pôle Communication</b> ✓ <b>GSM :</b> +212 6 44 38 82 86 ✓ <b>Fixe :</b> +212 5 39 38 35 37 ✓ <b>E-mail :</b> kawassimlab@gmail.com	<b>3. Réclamations</b> ✓ <b>GSM :</b> +212 6 44 38 82 86 ✓ <b>Fixe :</b> +212 5 39 38 35 37 ✓ <b>E-mail :</b> kawassimlab@gmail.com
<b>4. Pôle Qualité et Recherche Biomédicale</b> ✓ <b>GSM :</b> +212 6 44 38 82 86 ✓ <b>Fixe :</b> +212 5 39 38 35 37 ✓ <b>E-mail :</b> kawassimlab@gmail.com	

## Documentations de référence

- Recommendations CLSI (Clinical laboratory standardisation institute) H3-A6 « procedures for the collection of diagnostics blood specimens by Venipuncture » et H21-A5 « collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma based coagulation assays and molecular hemostasis assays »- [www.clsi.org](http://www.clsi.org)
- Recommandations techniques de dosage 2007 du GEHT – [www.geht.org](http://www.geht.org)
- Simundic et al.: EFLM-COLABIOCLI (*European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) and Latin American Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE-LATAM) of the Latin America Confederation of Clinical Biochemistry (COLABIOCLI)*) Recommendation for venous blood sampling  
<https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0602>
- Becton-Dickinson [www.bd.com/fr-fr/offerings/specimen-collection](http://www.bd.com/fr-fr/offerings/specimen-collection)
- GREINER :  
[https://www.gbo.com/fileadmin/user\\_upload/Downloads/Brochures/Brochures\\_Preanalytic/French/980186\\_Preanalytikfibel\\_108x190\\_f\\_rev04\\_08\\_2012\\_lowres.pdf](https://www.gbo.com/fileadmin/user_upload/Downloads/Brochures/Brochures_Preanalytic/French/980186_Preanalytikfibel_108x190_f_rev04_08_2012_lowres.pdf)
- Notices des réactifs utilisées au Laboratoire Zeroual Kawassim : ABBOTT, DIASORIN, BECKMAN-COULTER, IL...
- Rémic : Référentiel en microbiologie médicale 5.1 et 5.2, SFM/SFP/SFMM, 7<sup>ème</sup> Edition 2022
- Bactériologie médicale Ed. F.Denis et colls. Elsevier Masson-Paris : 2016
- SH GTA01 : Guide technique d'accréditation en biologie médicale
- Norme = NF EN ISO 15189 : Laboratoires de biologie médicale : Exigences concernant la qualité et la compétence
- F. Trimoreau, N. Gachard , V. Leymarie, E. Frébet, P. Perrou, J. Feuillard, Etapes pré-analytiques pour la numération et Cytologie Sanguine  
Biologie Clinique : 90-15-15-0058-A, 2011
- F.BOTTEREL, ML.Dardé, A.DeBOURGOGNE, L.Delhaes, S. Houzé, F.Morio, Parasitologie et Mycologie Médicales, ANOFEL : 2017, Ed. Elsevier Masson
- C.Buffaz, E.Hodille, Y.Joury, C.Louvrier, A. Marijon, Parasitologie et Mycologie Médicale Pratique 2014, Ed. De Boeck Supérieur.

## SOMMAIRE

1.	AVANT-PROPOS : .....	14
2.	LISTE DES ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE : .....	15
3.	PRECAUTIONS DES PRELEVEMENTS LIEES AU PATIENT:.....	15
3.1.	IDENTIFICATION DU PATIENT .....	15
3.2.	FACTEURS D'INFLUENCE LIES AUX PATIENTS .....	15
3.2.1.	Facteurs d'influence non modifiables : Sexe.....	15
3.2.2.	Facteurs d'influence modifiables à long terme .....	15
3.2.2.1.	Age .....	15
3.2.2.2.	Mode de vie : Le stress professionnel ou l'activité physique .....	16
3.2.2.2.1.	Effort physique .....	16
3.2.2.2.2.	Stress.....	16
3.2.2.3.	Grossesse .....	16
3.2.2.4.	Rythmes journaliers et biorythmes.....	16
3.2.2.5.	Alimentation.....	17
3.2.2.6.	Stimulants : café, nicotine, alcool.....	18
3.2.2.7.	Drogues et médicaments .....	18
3.2.2.8.	Comportement du patient.....	19
3.3.	PRECAUTIONS A PRENDRE POUR LES PRELEVEMENTS DE SANG VEINEUX .....	19
3.3.1.	Communication avec le patient .....	19
3.3.2.	Position du patient : .....	19
3.3.3.	Matériels et date de péremption des tubes :.....	19
3.3.4.	Identification du patient par rapport au dossier de prélèvement :.....	19
3.3.5.	Durée et intensité de la stase : .....	20
3.3.5.1.	Précaution pour l'application du garrot .....	20
3.3.5.2.	Techniques de localisation de la veine inadaptées :.....	21
3.3.5.3.	Techniques de localisation de la veine adéquates :.....	21
3.3.5.4.	Désinfection du Site de Ponction .....	21
3.3.5.5.	Ponction Veineuse.....	21
3.3.5.6.	Prélèvement à partir d'un Cathéter .....	21
3.3.6.	Déroulement de l'activité de prélèvement:.....	21
3.3.6.1.	CHOIX DES TUBES : .....	21
3.3.6.2.	ORDRE DES TUBES DE PRÉLÈVEMENT : .....	24
3.3.6.3.	Etapas du prélèvement :.....	26
3.3.7.	FACTEURS D'INFLUENCE DE CENTRIFUGATION LIES A LA MANIPULATION DES ECHANTILLONS.....	27
3.3.7.1.	Précautions à prendre pour la centrifugation de l'échantillon .....	27



3.3.7.2. Conditions pour réaliser les centrifugations .....	27
3.3.7.2.1.Cas du Sérum : .....	27
3.3.7.2.2.Cas du Plasma issu de tube pour examen de coagulation : .....	28
3.3.7.2.3.Plasma issu de tube EDTA pour examen de Biologie moléculaire : .....	28
3.3.7.2.4.Sédiment urinaire :.....	28
3.3.7.2.5.Tubes pour analyse quantiféron.....	28
3.3.7.2.6.Particularité .....	28
3.3.7.3. Réglage des centrifugeuses.....	Erreur ! Signet non défini.
3.3.7.4. Chargement de la centrifugeuse.....	28
3.3.7.5. Calcul de la vitesse de rotation pour une centrifugeuse précise .....	29
3.3.8. Précautions à prendre pour éviter l'hémolyse :.....	30
3.3.9. Précautions à prendre pour éviter la formation de caillot de sang et pour uniformiser les sérums et plasma : .....	31
3.4. MODALITES DES PRELEVEMENTS POUR LES EXAMENS D'HÉMOSTASE : .....	31
3.4.1. Conditions générales pour les prélèvements pour l'hémostase :.....	31
3.4.2. Conditions optimales :.....	31
3.4.3. Taille optimale de l'aiguille : .....	31
3.4.4. Garrot :.....	32
3.4.5. Site de ponction : .....	32
3.4.6. Ordre de prélèvement des tubes : .....	32
3.4.7. Remplissage des tubes .....	32
3.4.8. Conditions de transport et de conservation AVANT CENTRIFUGATION .....	33
3.4.9. Délai entre la réalisation du prélèvement et la centrifugation/congélation.....	33
3.4.10. Congélation .....	33
3.4.11. Prélèvements et conservation .....	34
3.5. TEMPS DE SAIGNEMENT .....	34
3.5.1. Méthode de Duke.....	34
3.5.2. Méthode de IVY 3 points .....	34
3.6. Modalites des prelevements pour les examens de numeration et cytologie sanguine.....	34
3.6.1. Modalites des prelevement pour les examens de numeration et cytologie sanguine :.....	34
3.6.1.1. Matériel = anticoagulant (K2EDTA ou K3EDTA).....	34
3.6.1.2. Méthologie .....	35
3.6.1.3. Conservation des prélèvements .....	36
3.6.1.4. Réalisation des frottis sanguins .....	36
3.6.2. Modalites des prelevement pour les examens de numeration et cytologie sanguine :.....	36
3.6.2.1. CCMH .....	36
3.6.2.2. Signalisation des amas plaquettaires par alarmes.....	36
3.6.2.3. Etude du frottis :.....	36

3.6.2.4.	Connaissance des résultats antérieurs :.....	37
3.7.	Hémoculture : .....	37
3.7.1.	Conditions .....	37
3.7.2.	Technique.....	38
3.8.	TESTS BIOLOGIQUES FONCTIONNELS :.....	38
3.8.1.	Tests de tolérance au glucose : .....	38
3.8.1.1.	Glycémie à jeun: .....	38
3.8.1.2.	Glycémie post prandiale.....	38
3.8.1.3.	Méthode de dépistage du diabète gestationnel = .....	38
3.8.1.3.1.	Conditions de réalisation des tests utilisant la charge au glucose: .....	38
3.8.1.3.2.	Les tests HbA1c, Fructosamine, glucosurie, glycémie au hasard ou post prandiale ne sont pas recommandés .....	39
3.8.1.4.	1er Trimestre : .....	39
3.8.1.5.	Entre 24 et 28 semaines d'aménorrhée : .....	39
3.8.1.5.1.	Méthode en 2 temps : .....	39
3.8.1.5.2.	Méthode en un temps : HGPO 75 .....	39
3.8.2.	Tests Dynamiques d'exploration de la fonction cortico surrénale :.....	39
3.8.2.1.	Test dynamique dans l'hypocorticisme .....	39
3.8.2.1.1.	Test au synacthène immédiat .....	39
3.8.2.1.1.1.	Introduction .....	39
3.8.2.1.1.2.	Phase pré-analytique .....	39
3.8.2.1.1.3.	Protocole.....	39
3.8.2.1.2.	Test au synacthène à faible dose (1 mg).....	40
3.8.2.1.2.1.	Introduction .....	40
3.8.2.1.2.2.	Phase pré-analytique .....	40
3.8.2.1.2.3.	Protocole.....	40
3.8.2.2.	Tests dynamiques dans l'hypercorticisme.....	40
3.8.2.2.1.	Test de freinage minute à la dexaméthasone (Dectancyl) : .....	40
3.8.2.2.2.	Test de freinage faible ou standard : .....	40
3.8.2.2.3.	Test de freinage fort à la dexaméthasone .....	40
3.9.	PROCEDURES DE RECUEIL DES ECHANTILLONS D'URINES : .....	41
3.9.1.	Particularités Pré analytiques du recueil des urines: .....	41
3.9.1.1.	Modalités de recueil des différents types d'urines ;.....	41
3.9.1.1.1.	Urine aléatoire .....	41
3.9.1.1.2.	Urine matinale .....	41
3.9.1.1.3.	Urine des 24 heures ; .....	41
3.9.1.1.4.	SEDIMENT URINAIRE.....	43
3.9.1.1.5.	DEPISTAGE DE DROGUES.....	43



<b>3.10.</b>	<b>EXAMEN CYTOBACTÉRIOLOGIQUE DES URINES (ECBU) :</b>	<b>43</b>
<b>3.10.1.</b>	<b>Technique de recueil des urines</b>	<b>44</b>
<b>3.10.1.1.</b>	<b>Cas général habituel (recueil du milieu de jet) Chez l'adulte</b>	<b>44</b>
<b>3.10.1.2.</b>	<b>Chez le patient sondé à demeure :</b>	<b>44</b>
<b>3.10.1.3.</b>	<b>Chez le nourrisson et jeune enfant :</b>	<b>44</b>
<b>3.10.1.3.1.</b>	<b>Prélèvement d'urines en milieu de jet</b>	<b>44</b>
<b>3.10.1.3.2.</b>	<b>Utilisation d'un collecteur d'urines chez les enfants de moins de 2 à 3 ans</b>	<b>44</b>
<b>3.10.1.4.</b>	<b>Recueil des urines chez le patient incontinent</b>	<b>45</b>
<b>3.10.1.5.</b>	<b>Recueil des urines par ponction sus pubienne</b>	<b>45</b>
<b>3.10.1.6.</b>	<b>Cas particuliers</b>	<b>45</b>
<b>3.10.2.</b>	<b>Conservation et transport</b>	<b>45</b>
<b>3.11.</b>	<b>HLM ou Compte d'Addis :</b>	<b>45</b>
<b>3.12.</b>	<b>PRÉLÈVEMENT VAGINAL :</b>	<b>45</b>
<b>3.12.1.</b>	<b>Conditions</b>	<b>45</b>
<b>3.12.2.</b>	<b>Technique</b>	<b>46</b>
<b>3.12.3.</b>	<b>Transport</b>	<b>46</b>
<b>3.13.</b>	<b>PRÉLÈVEMENT VULVAIRE :</b>	<b>46</b>
<b>3.13.1.</b>	<b>Conditions</b>	<b>46</b>
<b>3.13.2.</b>	<b>Technique</b>	<b>46</b>
<b>3.13.3.</b>	<b>Transport</b>	<b>46</b>
<b>3.14.</b>	<b>PRÉLÈVEMENT POUR FROTTIS CERVICO VAGINAL :</b>	<b>47</b>
<b>3.14.1.</b>	<b>Conditions</b>	<b>47</b>
<b>3.14.2.</b>	<b>Protocole de prélèvement (pour frottis en couche mince) :</b>	<b>47</b>
<b>3.15.</b>	<b>TEST DE HUJNER OU TEST POST COÏTAL :</b>	<b>47</b>
<b>3.15.1.</b>	<b>Conditions :</b>	<b>47</b>
<b>3.16.</b>	<b>PRÉLÈVEMENT URÉTRAL :</b>	<b>47</b>
<b>3.16.1.</b>	<b>Conditions :</b>	<b>47</b>
<b>3.16.2.</b>	<b>Technique :</b>	<b>47</b>
<b>3.16.3.</b>	<b>Transport</b>	<b>47</b>
<b>3.17.</b>	<b>PRÉLÈVEMENT DE SPERME :</b>	<b>48</b>
<b>3.17.1.</b>	<b>Spermoculture :</b>	<b>48</b>
<b>3.17.1.1.</b>	<b>Conditions :</b>	<b>48</b>
<b>3.17.1.2.</b>	<b>Technique :</b>	<b>48</b>
<b>3.17.2.</b>	<b>Spermogramme et Spermocytogramme :</b>	<b>48</b>
<b>3.17.2.1.</b>	<b>Conditions :</b>	<b>48</b>
<b>3.17.2.2.</b>	<b>Technique</b>	<b>48</b>
<b>3.18.</b>	<b>ULCÉRATIONS GÉNITALES :</b>	<b>48</b>
<b>3.18.1.</b>	<b>La recherche de cette étiologie devra être orientée par la clinique :</b>	<b>48</b>

3.18.2.	Technique :.....	48
3.19.	PUS ET LIQUIDES D'ÉPANCHEMENTS : .....	48
3.19.1.	Démarches générales .....	48
3.19.2.	Pus d'oreille : .....	49
3.19.3.	Pus ophtalmique : .....	49
3.20.	LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN : .....	49
3.21.	PRÉLÈVEMENT DE GORGE : .....	49
3.21.1.	Conditions : .....	49
3.21.2.	Technique : .....	49
3.22.	EXPECTORATIONS: .....	Erreur ! Signet non défini.
3.23.	Prélèvements pour recherche des mycobactéries .....	50
3.23.1.	Prélèvement pour la recherche directe et culture.....	50
3.23.2.	Prélèvements pour la recherche de la Production d'interféron Gamma-Quantiferon :.....	50
3.24.	PRÉLÈVEMENTS DE PEAUX ET DES PHANÈRES : .....	51
3.24.1.	Conditions générales .....	51
3.24.2.	Prélèvement des lésions cutanées : .....	52
3.24.3.	Prélèvement de squames à la recherche de pityriasis versicolor : « Scotch test cutané » .....	52
3.24.4.	Prélèvement des follicules et Sycosis : .....	52
3.24.5.	Prélèvement des Teignes du cuir chevelu : .....	52
3.24.6.	Prélèvement d'ongle (Onyxis) : .....	52
3.24.7.	Prélèvement des Intertrigos : .....	52
3.25.	COPROCULTURE : .....	52
3.26.	PARASITOLOGIE DES SELLES : .....	52
3.27.	SCOTCH TEST ANAL : .....	53
3.28.	RECHERCHE D'ŒUFS DE BILHARZIOSE .....	53
3.29.	RECHERCHE DE PALUDISME : .....	53
3.30.	PRÉLÈVEMENTS POUR LES EXAMENS ELECTROPHORÉTIQUES .....	53
3.31.	ELECTROPHORÈSE SÉRIQUE .....	53
3.32.	ELECTROPHORÈSE DES URINES.....	53
3.33.	IMMUNOÉLECTROPHORÈSE SÉRIQUE.....	53
3.34.	IMMUNOÉLECTROPHORÈSE DES URINES ET RECHERCHE DES PROTEINES DE BENCE JONES : .....	54
3.35.	CRYOPRÉCIPITÉ ET SON IDENTIFICATION PAR IMMUNOFIXATION.....	54
3.36.	ISOFOCALISATION .....	54
3.37.	ELECTROPHORÈSE DE L'HÉMOGLOBINE ALCALINE OU ACIDE.....	54
3.38.	PRÉLÈVEMENT POUR LES EXAMENS EN BIOLOGIE MOLÉCULAIRE : .....	54
3.38.1.	CONDITIONS GENERALES.....	54
3.38.2.	Modalités des prélèvements pour les examens en biologie moléculaire pour recherche des bactéries	54

Recherche de Chlamydia trachomatis et de Neisseria gonorrhoeae par PCR en temps réel :.....	54
NEISSERIA GONORRHOEAE .....	55
Recherche de Neisseria gonorrhoeae par PCR en temps réel .....	55
HELICOBACTER PYLORI : .....	55
Résistance à la clarithromycine et aux fluoroquinolones.....	55
Résistance à la clarithromycine et aux fluoroquinolones par PCR / Hybridation inverse .....	55
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS :.....	55
Détection Qualitative du complexe tuberculosis par PCR en temps réel .....	55
Résistance à la rifampicine et l'isoniazide par PCR / Hybridation inverse.....	55
3.38.3. Modalités des prélèvements pour les examens en biologie moléculaire pour la recherche des virus	56
CYTOMÉGALOVIRUS.....	56
Recherche quantitative du Cytomégalovirus par PCR en temps réel .....	56
EPSTEIN BARR VIRUS .....	56
Recherche quantitative de l'Epstein Barr Virus par PCR en temps réel.....	56
HÉPATITE VIRALE B .....	56
Charge Virale du Virus de l'hépatite B par PCR en temps réel - HBVDNA.....	56
Génotypage du virus de l'hépatite B de A à H par PCR / Hybridation inverse- (HBVG) .....	56
HEPATITE VIRALE C .....	56
Charge Virale du Virus de l'hépatite C par PCR en temps réel - HCVRNA .....	56
Génotypage du virus de l'hépatite C de 1 à 7 par PCR / Hybridation inverse- (HCVG) .....	56
Interleukine IL28 B – Polymorphisme C/T RS 12979860 – Génotypage par PCR / Hybridation inverse..	56
HEPATITE VIRALE E .....	56
Diagnostic direct moléculaire du Virus de l'hépatite E par PCR en temps réel.....	56
HUMAIN HSV-1 ET/OU HSV-2 .....	56
Recherche Qualitative des virus simplex 1 & 2 par PCR en temps réel.....	56
Modalités des prélèvements pour les examens en biologie moléculaire pour la recherche des virus (Suite)	57
PAPILLOMAVIRUS HUMAIN (HPV) .....	57
Détection des types HPV à haut risque: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 66 & 68 .....	57
PARVOVIRUS B19.....	57
Recherche Qualitative du Parvovirus B19 par PCR en temps réel .....	57
POLYOMAVIRUS BK VIRUS.....	57
Recherche Qualitative du Polyomavirus BK virus par PCR en temps réel.....	57
RUBÉOLE .....	57
Détection Qualitative de l'ARN du virus de la Rubéole par PCR - .....	57
VIH .....	57
Charge Virale du Virus d'Immunodéficience Humaine par PCR en temps réel .....	57
VARICELLE – ZONA VIRUS .....	57

Recherche Qualitative du Varicelle – Zona Virus par PCR.....	57
3.38.4. Oncologie moléculaire .....	57
Détection Quantitative des transcrits BCR-ABL – Translocation t(9,22) par PCR – Variant p210 .....	57
Détection des mutations dans l'exon 9 du gène CALRETICULINE par PCR.....	57
Détection et quantification de la mutation V617F du gène JAK2 (exon 14) par PCR.....	58
3.38.5. Facteurs génétiques de risque de la Thrombophilie.....	58
Détection de la MUTATION P.ARG506GLN du Facteur V Leiden par PCR.....	58
Détection de la MUTATION G.20210G>A du Facteur II- Prothrombine par PCR.....	58
Détection conjointe de la MUTATION P.ARG506GLN du Facteur V Leiden et Détection de la MUTATION G.20210G>A du Facteur II- Prothrombine par PCR.....	58
Détermination du polymorphisme du gène méthylène tétrahydrofolate réductase MTHFR 677C>T et 1298A>C par PCR multiplex combinée avec une hybridation des puces à ADN.....	58
Joindre impérativement les renseignements cliniques. ....	58
3.38.6. Recherche simultanée de plusieurs agents pathogènes responsables des infections.....	58
3.38.7. Typage HLA par PCR .....	60
Détection de HLA B27 par PCR .....	60
Détection de HLA DQ2/DQ8 (la maladie Cœliaque) par PCR .....	60
7. CONDUITE A TENIR EN CAS DE DYSFONCTIONNEMENT RELATIF AU PRELEVEMENT :.....	61
7.1. Survenus sur échantillon : .....	61
7.2. Comment traiter le dysfonctionnement ? .....	61
7.3. Incidents survenus sur le patient : .....	61
Conduite A Tenir En Cas d'accident Avec Exposition Au Sang.....	63
8. TRANSPORT DES ECHANTILLONS ET CONVERSATION : .....	64
8.1. Prélèvements réalisés sur site du LIAB :.....	64
8.2. Prélèvements réalisés à l'extérieur du LIAB:.....	64
8.2.1. Réalisation des prélèvements : .....	64
8.2.2. Transport des prélèvements : .....	64
8.3. Conservation :.....	64
8.3.1. Températures et durée de conservation .....	64
8.3.2. Conditions de conservation.....	65
8.3.2.1. Conditions générales : .....	65
8.3.2.2. Conditions Spécifiques : .....	65
8.3.2.2.1.Echantillons étiquetés avec le nom et prénom du patient devant voyager congelés... Erreur ! Signet non défini.	
8.3.2.2.2.Transport des échantillons étiquetés avec le nom et prénom du patient de microbiologie à température ambiante (15-25°C) : .....	65
8.3.2.2.3. Les échantillons étiquetés avec le nom et prénom du patient doivent être mis dans des sachets identifiés avec le nom du laboratoire expéditeur : .....	65

8.3.2.3.	Identification des échantillons .....	65
9.	ELIMINATION DES DECHETS :.....	65
10.	CONSERVATION DES ECHANTILLONS : .....	66
10.1.	CONSERVATION PRÉ-ANALYTIQUE .....	66
10.2.	CONSERVATION POST-ANALYTIQUE.....	67
11.	SYNTHÈSE DE RECOMMANDATIONS POUR ÉVITER DES ERREURS AU NIVEAU DU PROCESSUS PRÉ ANALYTIQUE .....	68
11.1.	Préparation du patient .....	68
11.2.	Identification.....	68
11.3.	Prélèvement sanguin .....	68
11.4.	Stockage et transport .....	68
11.5.	Préparation des échantillons .....	68
11.6.	Hémoculture.....	69
11.7.	Diagnostics par PCR .....	69
11.8.	Urine matinale .....	69
11.9.	Urine collectée sur 24 heures .....	69
11.10.	Urine 2ème JET .....	69
11.11.	Sédiment urinaire .....	70
11.12.	Culture d'urine .....	70

## 1. AVANT-PROPOS :

Les progrès de la biologie médicale ont élargi les champs d'activité au-delà du diagnostic, à la prévention, à la prédisposition et au suivi thérapeutique des maladies.

De par le monde les analyses biomédicales contribuent aux :

- *Diagnostiques médicaux dans 70 à 80% des cas ;*
- *Décisions médicales et thérapeutiques dans la majorité des cas.*

Ainsi, les analyses médicales doivent être réalisées dans les meilleures conditions pour que les résultats soient corrects.

**Pour cela il y a le passage par trois phases ou processus :**

- ✓ **Phase pré analytique :** Série d'étapes avant analyse, comprenant la demande d'analyse, la préparation du patient, le prélèvement de l'échantillon, son acheminement, sa conservation jusqu'au site de la phase analytique et finissant au début de la phase analytique.
- ✓ **Phase analytique :** Etapes d'analyse à proprement parlé, débutant sur tout ou partie de l'échantillon biologique (aliquote), comprenant une préparation éventuelle du spécimen (incubation, coloration, ...) jusqu'à obtention d'un résultat d'analyse (mesure, lecture, identification) généralement à l'aide d'un instrument de mesure analytique.
- ✓ **Phase post analytique :** Toutes les étapes qui suivent l'obtention d'un résultat d'analyse (examen), comprenant le transfert de données, la revue systématique, la mise en forme et interprétation, la validation, le compte-rendu et la transmission des résultats et le stockage des échantillons biologiques examinés.

Ainsi, le processus pré analytique concerne les actions nécessaires pour traiter et faire arriver les échantillons à analyser au sein du laboratoire dans un état correspondant à leur état in vivo.

Pour cela différents facteurs d'influence et d'interférence sont susceptibles d'intervenir avant l'analyse de l'échantillon. Ceci peut engendrer des résultats d'analyses incorrects qui induisent des diagnostics médicaux erronés et des thérapies inadaptées.

De ce fait, toute personne impliquée dans la phase pré analytique doit être consciente de l'importance du processus pré analytique et des conséquences des erreurs commises durant cette phase qui peuvent être à l'origine de la non fiabilité du processus analytique.

**Le but de ce manuel consiste à sensibiliser les personnels concernés aux risques d'erreurs dans le processus pré analytique, et à leur expliquer comment les éviter.**

**Ce manuel s'adresse au personnel impliqué dans :**

- *La prescription médicale des analyses biomédicales,*
- *L'identification des échantillons d'analyses,*
- *Le prélèvement des échantillons d'analyses,*
- *La conservation et le transport des échantillons d'analyses.*
- *La préparation des échantillons d'analyses,*
- *L'interprétation des résultats d'analyses*

**Plusieurs personnes sont impliquées dans le pré analytique :**

Activités	Personnes impliquées
Prescription d'une analyse	Médecin traitant
Préparation du patient	Médecin traitant, Biologiste, Personnel infirmier, Personnel préleveur, patient
Identification des patients et des échantillons	Médecin traitant, Biologiste, Personnel infirmier, Personnel préleveur
Prélèvement de sang	Médecin traitant, Biologiste, Personnel infirmier, Personnel préleveur
Mélange avec des anticoagulants	Médecin traitant, Biologiste, Personnel infirmier, Personnel préleveur
Conservation jusqu'au transport	Médecin traitant, Biologiste, Personnel infirmier, Personnel préleveur
Transport	Coursier, Personnel préleveur, Personnel infirmier
Réception conservation et préparation des échantillons	Personnel de laboratoire, Biologiste

**Enfin, le processus pré analytique est responsable de 85% des NON CONFORMITES au sein des laboratoires de biologie médicale.**

## 2. LISTE DES ANALYSES DU LABORATOIRE :

✓ Se référer au Répertoire des analyses

## 3. PRECAUTIONS DES PRELEVEMENTS LIEES AU PATIENT:

### 3.1. IDENTIFICATION DU PATIENT

Avant le prélèvement sanguin, le patient doit s'identifier en indiquant les informations ci-dessous sont obligatoires :

- *Nom de famille et prénom,*
- *Date de naissance.*
- *Sexe.*
- *Numéro de téléphone et adresse (si possible)*
- *Service hospitalier s'il y a lieu*
- *N° de téléphone du médecin traitant.*
- *Date et heure du prélèvement.*
- *Semaine de grossesse ( Si applicable)*
- *Heure de prélèvement pour les profils journaliers et les tests fonctionnels.*
- *Prise de médicaments (y compris de vitamines et d'hormones).*

### 3.2. FACTEURS D'INFLUENCE LIES AUX PATIENTS

Les facteurs d'influence liés au patient peuvent être modifiables ou non modifiables.

#### 3.2.1. Facteurs d'influence non modifiables : Sexe

Des exemples de ces modifications sont dans le tableau ci-dessous :

Analyses	Homme	Femme	Unités
Alanine aminotransferase*	<del>&lt;50</del> 40	<35	U/L
Fer*	6,3 – 30.1	4,1 - 24	µmol/L
Ferritine*	<del>18-360</del> 20-200	<del>9-140</del> 30-300	µg/L
Acide urique*	3,6-7	2,3-6,1	mg/dL
Créatinine*, cinétique réaction de Jaffé	0,81-1,44	0,66-1,09	mg/dL
Hématocrite	40-53	36-48	%
Hémoglobine	13,5-17,5	12-16	g/dL
Vitesse de sédimentation des érythrocytes	<15	<20	mm/1Std

#### 3.2.2. Facteurs d'influence modifiables à long terme

##### 3.2.2.1. Age

- Le nombre total d'érythrocytes et donc les concentrations d'hémoglobine et de bilirubine sont significativement plus élevés chez les **nouveaux-nés** que chez les adultes.
- La phosphatase alcaline\* est très élevée durant la **période de croissance d'une jeune personne**.
- Le taux de cholestérol\*, notamment de cholestérol LDL, augmente avec l'âge.

Diminue avec l'âge	Augmente avec l'âge
Albumine*	Cholestérol*
Calcium*	Vitesse de sédimentation des érythrocytes
Clairance de la créatinine	Ferritine*
Phosphate inorganique*	Glucose*
pO2	
Temps de Quick*	



### 3.2.2.2. Mode de vie : Le stress professionnel ou l'activité physique

#### 3.2.2.2.1. Effort physique

Sous l'effort physique, de l'eau et de petites molécules sortent des vaisseaux sanguins et passent dans l'espace extravasculaire. Par conséquent, la concentration de structures de haut poids moléculaire comme des protéines ou des substances liées à la protéine augmente dans les vaisseaux. La même chose se produit lorsqu'une personne passe de la position allongée à la position assise ou durant la stase

- Tout patient en consultation externe doit se reposer environ 5 minutes avant le prélèvement sanguin.
- Un échantillon de sang ne doit jamais être prélevé après un effort physique, par exemple après le jogging du matin.
- Dans les 3 jours qui précèdent le prélèvement sanguin, toute activité physique épuisante doit être évitée.

La modification de différentes concentrations dans le sérum après une activité physique extrême (marathon)

	1 fois	1,5 fois	2 fois	2,75 fois	3 fois	4 fois
Glucose *						
Phosphate inorganique *						
Acide urique*						
Urée *						
Bilirubine						
Aspartate aminotransférase*						
Pyruvate kinase						
Kinase de créatine						
Les prestations rapportées dans ce document couvertes par l'accréditation (Accréditation N°8-4189. Portée disponible sur <a href="http://www.cofrac.fr">www.cofrac.fr</a> ) sont identifiées par le symbole(*)						

#### 3.2.2.2.2. Stress :

La peur de la prise de sang ou une opération imminente peuvent être à l'origine d'un stress mental extrême, qui déclenche la libération de différentes hormones, comme par exemple d'aldostérone, de catécholamine, de cortisol\*, de prolactine\* et de rénine.

Une augmentation des concentrations d'albumine, de fibrinogène, de glucose et d'insuline peut également être observée.

### 3.2.2.3. Grossesse

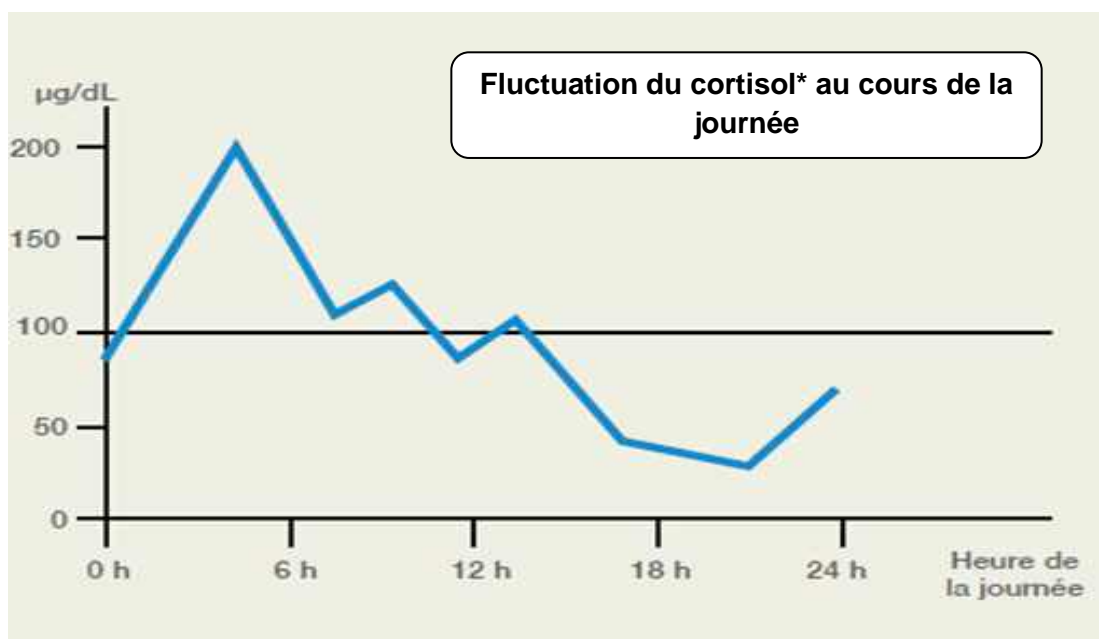
Pendant la grossesse, le volume de plasma augmente d'environ 50 %. Une modification de la concentration peut être observée sur une série de paramètres : la concentration d'électrolytes diminue, celle des lipides sanguins augmente, celle du cuivre double.

L'exactitude des données du patient figurant sur la fiche de prescription représente une condition essentielle pour l'application correcte des plages de référence.

### 3.2.2.4. Rythmes journaliers et biorythmes

La concentration de certaines molécules varie en cours de journée. C'est ce que l'on appelle « le rythme circadien ». Ces variations sont bien connues pour certaines hormones : cortisol\*, prolactine\*, TSH\*.

- Cortisol\* : Prélèvement à 8 h ou à partir de 16 heures (en fonction de la prescription), chez un patient reposé, préciser l'heure de prélèvement.
- Prolactine\* : Prélèvement entre 8 h et 12 h, patient au repos depuis 15 minutes, en début de cycle chez la femme.
- T3 libre\*, T4 libre\*, TSH\* : prélèvement le matin de préférence.



L'influence des fluctuations qui se produisent au cours de la journée est minimisée si les échantillons sont prélevés aux heures recommandées, soit entre 7 h et 9 h du matin.

Fluctuations maximales au cours de la journée en %			
Maximum le matin			
Hormone corticotrope (ACTH)	200%	Adrénaline	20%
Rénine	140%	Hémoglobine*	20%
Noradrénaline	120%	Hématocrite*	20%
Prolactine*	100%	Leucocytes*	20%
Aldostérone	80%	Protéine	20%
Cortisol*	50%	Thyroxine (T4L*)	20%
Testostérone*	50%	Bilirubine	20%
Maximum à midi			
Fer*	100%		
Granulocytes éosinophiles*	30%		
Potassium*	15%		
Maximum le soir			
Créatinine*	100%		
Acide urique*	50%		
Thyrotropine (TSH)*	50%		
Phosphatase acide	200%		

Outre les fluctuations au rythme de la journée et le biorythme, on peut observer d'importantes fluctuations intra-individuelles d'un jour à l'autre pour différents paramètres.

### 3.2.2.5. Alimentation :

Différents paramètres peuvent changer après la prise d'un repas selon sa composition et le temps écoulé entre le repas et le prélèvement.

Après un repas riche en graisses, la lipémie se manifeste par l'aspect trouble du plasma. Des échantillons lipémiques n'ont qu'une utilité limitée au laboratoire.

Les paramètres qui exigent une abstinence alimentaire de 12 heures avant le prélèvement sont :

- Phosphatase alcaline\*
- Cholestérol (total\*, HDL\*, LDL)

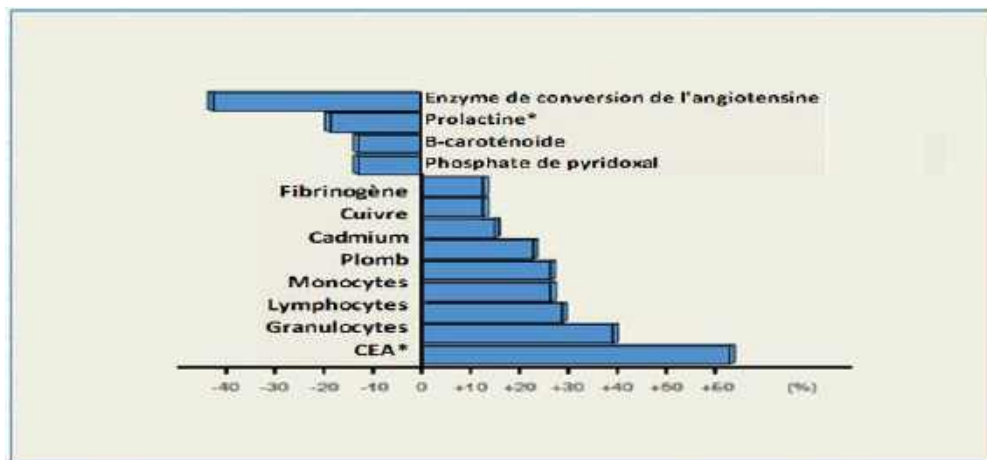
- *Triglycéride\**
- *Glucose\**
- *Ammonémie*
- *Fer\**
- *Acide urique\**
- *Potassium\**
- *Cortisol\**
- *Phosphate inorganique\**
- *Folates sériques\**
- *Vitamine B12\**
- *Dopamine*
- *Insuline*
- *Test de stimulation à la corticotropine*
- *Tests dynamiques : Test au Synacthène, Test LH-RH*
- *Numération de la formule sanguine\**

**Pour les tests de tolérance au glucose, un régime riche en glucides doit être suivi durant les 3 jours précédant le test, soit > 150 g de glucides par jour.**

### 3.2.2.6. Stimulants : café, nicotine, alcool

- La consommation de café peut provoquer une forte augmentation du cortisol\* - l'élévation peut atteindre 40 % après 200 mg de caféine (quantité contenue dans deux tasses de café).
- Une forte consommation de tabac entraîne également des changements concernant les leucocytes, les lipoprotéines, les activités enzymatiques, les hormones, les vitamines, les marqueurs tumoraux et les métaux lourds.

**!!! Des différences de plus de 10 % entre fumeurs et non fumeurs**



Les prestations rapportées dans ce document couvertes par l'accréditation (Accréditation N°8-4189, Portée disponible sur [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr)) sont identifiées par le symbole(\*)

### 3.2.2.7. Drogues et médicaments

- La consommation de drogues a des effets biologiques susceptibles d'influencer les examens de laboratoire. Ces effets varient d'une drogue à l'autre.  
A titre d'exemple, le cannabis peut provoquer une augmentation du sodium\*, du potassium\*, de l'urée\*, de l'insuline et du chlorure\* ainsi qu'une diminution de la créatinine\*, du glucose\* et de l'acide urique\*.
- **Renseignements cliniques indispensables : conformément à la nomenclature des actes de biologie médicale chaque résultat d'un dosage de médicament doit mentionner :**
  - L'âge, la taille, le poids du sujet lorsque cela est possible,
  - L'heure/date du prélèvement
  - L'heure et la date de la dernière prise de médicament
  - Les renseignements posologiques (nom du médicament, dose journalière), La date de début du traitement et/ou de l'éventuelle modification de la posologie,

- **Le motif de la prescription** : recherche d'efficacité et/ou de toxicité.
  - **Horaire de prélèvement** : dans le cas d'un traitement oral, le prélèvement doit être effectué avant la prise de médicament (détermination du taux résiduel). Hormis le cas où il s'agit de doser le médicament lui-même, il convient de ne pas changer le traitement du patient.
  - **Dosage de médicaments** : prélèvement à effectuer avant la dernière prise du médicament (en fonction de la prescription)  
**A titre d'exemple le dosage de la digoxine** : prélèvement à effectuer 6 à 8 h après la dernière prise.
- 3.2.2.8. Comportement du patient**
- Une préparation soigneuse du patient contribue à éviter des erreurs.
  - L'interrogatoire du patient contribue à révéler d'éventuels comportements inadaptés.
  - **Dans certaines circonstances, il peut être nécessaire de reporter le prélèvement de sang à une date ultérieure pour ces raisons.**

### 3.3. PRECAUTIONS A PRENDRE POUR LES PRELEVEMENTS DE SANG VEINEUX

#### 3.3.1. Communication avec le patient

- Il est recommandé de se présenter au patient : nom et fonction au Laboratoire. Il est important de mettre le patient à l'aise et en confiance et être à son écoute. Ceci permettra d'avoir le plus d'information possible (la veine usuelle pour ses prélèvements sanguins, s'il a peur de l'aiguille afin d'être vigilant à tout choc vagal).
- !!! **Le prélèvement ne peut être réalisé chez un patient « résistant »**
- S'informer sur la durée de jeun du patient : **12H recommandé**, si ce n'est pas le cas le mentionner sur la fiche de prélèvement.
- 15 minutes de repos est recommandées avant tout prélèvement pour les patients qui ne passent pas par la salle d'attente.
- Le meilleur horaire recommandé pour tout prélèvement est entre 7h et 9h du matin,
- **Boire de l'eau n'est pas interdit.**
- **Les interdits du matin sont : le café, la cigarette, le thé et le chewing-gum.**
- **Il est recommandé 24h d'arrêt de consommation d'alcool**
- **Il est recommandé 24h de repos après un effort physique pour réaliser le prélèvement.**
- **!!! NE PLUS REMETTRE DE MATERIEL UTILISE DANS LE HARICOT.**

#### 3.3.2. Position du patient :

Pour les patients en consultation externe, **les prélèvements sanguins** doivent - dans la limite du possible - être effectués dans **une position allongée et non assise**. En cas d'impossibilité, la position assise peut cependant être utilisée.

#### 3.3.3. Matériels et date de péremption des tubes :

- ✓ Utilisez toujours tous les tubes d'un carton avant d'en ouvrir le suivant.
- ✓ Utilisez les produits avec la date de péremption la plus proche en premier.
- ✓ Mettre tout le matériel dont la préleveuse aura besoin dans le haricot : la gaze, le sparadrap, le coton stérile, ainsi que les tubes sur un portoir
- ✓ Une fois un de ses matériels est utilisé, le jeter directement dans le contenant adéquat,

#### 3.3.4. Identification du patient par rapport au dossier de prélèvement :

Il faut s'assurer de la parfaite adéquation entre l'identité du patient et les mentions d'identification renseignées sur la fiche de prélèvement en lui posant la question :

**« MR (OU Mme) EST CE QUE VOUS POUVEZ ME RAPPELER VOTRE NOM ET VOTRE DATE DE NAISSANCE? »**

Ce point est capital du fait de la gravité des conséquences que peut entraîner une confusion entre patients.

Il est important que les préleveurs soient bien formées sur les conditions de **recueil des prélèvements** et de **transcription exacte des données d'identification** des patients.

L'identification des échantillons a pour but de respecter les procédures de prélèvement et de transmission des échantillons décrites par :

- ✓ **Le GBEA Marocain**
- ✓ **Norme ISO 15 189**
- ✓ **Procédures Qualité Internes**

**Tout prélèvement ou échantillon doit impérativement comporter :**

- ✓ **Nom de famille et prénom**
- ✓ **Date de naissance.**
- ✓ **Sexe**
- ✓ **La nature des analyses prescrites.**
- ✓ **La date et l'heure de prélèvement.**
- ✓ **Renseignements cliniques**
- ✓ **Le nom ou cachet du prescripteur habilité.**
- ✓ **L'Identification du prélèvement **urgent** en apposant un cachet **rouge**.**

Ces indications doivent être parfaitement lisibles. Ces éléments sont utilisés pour lier le patient à ses antécédents et attribuer des valeurs de références adaptées (Homme, femme, enfant, nouveau-né... etc.)

**NB : L'absence ou l'erreur d'identification du prélèvement constitue un critère de non-conformité, et enregistré comme telle dans le système qualité et peut entraîner la non réalisation des examens demandés.**

**Seul un biologiste peut déroger à une non-conformité sur un prélèvement tout en la justifiant**

L'aide des parties intéressées (cliniques, hôpitaux, laboratoires, centres médicaux) dans le respect des recommandations pré-analytiques garantissent en grande partie des résultats d'analyses fiables et justes. En effet 85% des erreurs dans un laboratoire d'analyse biomédicales sont imputées à la phase pré analytique.

### **3.3.5. Durée et intensité de la stase :**

#### **3.3.5.1. Précaution pour l'application du garrot**

L'application d'un garrot aide à localiser la veine et facilite la ponction veineuse. Elle provoque une pression de filtration dans la veine, qui entraîne une hémococoncentration.

Une stase d'un maximum de 60 secondes est acceptable et n'a aucun effet significatif sur l'échantillon. Au-delà il est observé une modification de différents paramètres selon le tableau ci-dessous :

<b>Augmentation comprise entre 6% et 12%</b>	<b>Diminution de jusqu'à 4%</b>
<b>Alanine aminotransférase*</b>	<b>Glucose*</b>
<b>Kinase de créatine</b>	<b>Phosphatase inorganique*</b>
<b>Bilirubine</b>	<b>Leucocytes</b>
<b>Déshydrogénase de lactate (LDH)*</b>	<b>Urée*</b>
<b>Albumine*</b>	<b>Créatinine*</b>
<b>Gamma-glutamyl transférase*</b>	<b>Chlorure*</b>
<b>Phosphatase alcaline*</b>	
<b>Protéine totale*</b>	
<b>Cholestérol*</b>	
<b>Triglycéride*</b>	

La pression du garrot doit toujours être inférieure à la pression systolique afin de limiter la perte de liquide dans la veine obstruée. Si le garrot est trop serré, la stase augmente la pression de filtration décrite ci-dessus et, par conséquent, les effets négatifs sur l'échantillon de sang. Par ailleurs, une stase trop longue ou trop forte peut entraîner une hémolyse.

Le garrot ne doit pas être serré trop fortement - le pouls du patient doit rester palpable.

Par ailleurs, si le garrot reste en place pendant toute la procédure de prélèvement sanguin, une hémolyse peut se produire, notamment dans le cas de patients avec de bonnes veines et une tension artérielle élevée.

En cas de bonnes veines, le garrot doit être relâché immédiatement après la ponction veineuse réussie et avant de commencer le prélèvement de sang.

### 3.3.5.2. Techniques de localisation de la veine inadaptées :

- ✓ Le patient ouvre et ferme le poing. Cette technique est aussi appelée « pompage ». Elle peut provoquer une augmentation substantielle du potassium.
- ✓ Tapoter trop fortement ou frotter fort le site de ponction peut altérer la qualité de l'échantillon (hémolyse, bleu)

### 3.3.5.3. Techniques de localisation de la veine adéquates :

Les techniques suivantes peuvent être utilisées pour faciliter la localisation de la veine.

- ✓ *Serrer le poing sans « pomper ».*
- ✓ *Appliquer de la chaleur en mettant le bras dans un bain chaud ou en utilisant un coussin chauffant.*

### 3.3.5.4. Désinfection du Site de Ponction

- ✓ Si la désinfection n'est pas effectuée correctement, le désinfectant peut passer dans l'échantillon de sang et altérer les résultats d'analyse.
- ✓ La solution désinfectante doit sécher complètement avant la ponction veineuse.

### 3.3.5.5. Ponction Veineuse

Des essais réitérés de localisation de la veine durant la ponction veineuse ou le déplacement réitéré de l'aiguille dans le tissu peuvent entraîner une contamination due à la thromboplastine tissulaire susceptible d'exercer, par exemple, une influence considérable sur les tests de coagulation.

- ✓ Evitez de déplacer l'aiguille plusieurs fois dans le tissu en essayant de localiser la veine. Si nécessaire, effectuez la ponction sur l'autre bras.

### 3.3.5.6. Prélèvement à partir d'un Cathéter

- ✓ Si le prélèvement à partir d'un cathéter horizontal est inévitable, procédez avec le plus grand soin pour éviter de contaminer l'échantillon avec des résidus de la solution de perfusion.
- ✓ Dans la limite du possible, ne prélevez pas de sang d'un cathéter horizontal.
- ✓ Les 10 premiers millilitres de sang provenant d'un cathéter ne doivent pas être utilisés en tant qu'échantillon et doivent être éliminés.





## 3.3.6. Déroulement de l'activité de prélèvement:

### 3.3.6.1. CHOIX DES TUBES :





Cette fiche d'instruction présente les tubes à utiliser en fonction des examens demandés. Elle s'applique à l'ensemble des prélèvements réalisés sous la responsabilité du Laboratoire.


	<p><b>Marqueurs tumoraux:</b> ACE*, AFP*, CA15-3*, CA19-9*, CA125*, PSA*, PSA libre*</p> <p><b>Chimie :</b> Créatinine*, Glucose*, Transaminases*, Cholestérol*, Triglycérides*, CRP*, Urée*, Acide urique*, Ferritine*, Fer*, Bilirubine, Phosphore*, Albumine*, Lipase, Calcium*, Ionogramme (Na*, K*, Cl*, Ca*, PT* )....etc.</p> <p><b>Protéines:</b> C3, C4, EPP, IEP, haptoglobine, IgG, IgA, IgM, B2 micro globuline, ferritine*, orosomucoïde, pré albumine, albumine*, céruléoplasmine...etc.</p>
--	--



 <p><b>TUBE SST SEC</b> avec gel séparateur et activateur de la coagulation</p>	<p><b>Hormones:</b> Cortisol*, HCG*, FSH*, LH*, œstradiol*, progestérone*, T3L*, T4L*, TSH*, testostérone*, prolactine*, PTH*, thyroglobuline...etc.</p> <p><b>Sérologie:</b> ASLO, CMV, mycoplasmes, HIV*, Hépatites A, Hépatites B et HCV*, Rubéole (IgG*, IgM), Toxoplasmose (IgG*, IgM), BW ...etc.</p> <p><b>Auto-immunité:</b> Ac antithyroïdiens, Ac antinucléaires ...etc.</p> <p><b>Allergie:</b> IgE totaux et spécifiques ;</p> <p><b>Vitamine:</b> vitamine B12*, vitamine D*, folates*...etc.</p> <p><b>Limites :</b> Interférence dosage médicaments</p> <p><b><u>Dysfonctionnement certains analyseurs</u></b></p>
 <p><b>TUBE SEC</b></p>	<p><b>Marqueurs tumoraux:</b> ACE*, AFP*, CA15-3*, CA19-9*, CA125*, PSA*, PSA libre*</p> <p><b>Chimie :</b> Créatinine*, Glucose*, Transaminases*, Cholestérol (total*, HDL*, LDL) Triglycérides*, CRP*, Urée*, Acide urique*, Ferritine*, Fer*, Bilirubine, Phosphore*, Albumine*, Lipase, Calcium*, Ionogramme (Na*, K*, Cl*, Ca*, PT*).....</p> <p><b>Protéines:</b> C3, C4, EPP, IEP, haptoglobine, IgG, IgA, IgM, B2 micro globuline, ferritine*, orosomucoïde, pré albumine, albumine*, céruléoplasmine...</p> <p><b>Hormones:</b> Cortisol*, HCG*, FSH*, LH*, œstradiol*, progestérone*, T3L*, T4L*, TSH*, testostérone*, prolactine*, PTH*, thyroglobuline...</p> <p><b>Sérologie:</b> ASLO, CMV, mycoplasmes, HIV*, Hépatites A, Hépatites B (AgHbs*, AcHbe, AgHbe, AcHbc totaux, AcHbcIgM) et HCV*, Rubéole (IgG*, IgM), Toxoplasmose (IgG*, IgM), TPHA ...</p> <p><b>Auto-immunité:</b> Ac antithyroïdiens (TPO*, ATG*), Ac antinucléaires , etc.</p> <p><b>Allergie:</b> IgE totaux et spécifiques ;</p> <p><b>Vitamines:</b> vitamine B12*, vitamine D*, folates*...etc.</p>
 <p><b>TUBE CITRATE :</b> (bien remplir le tube jusqu'au trait de jauge)</p>	<p><b>Hémostase :</b></p> <p>TP*, TCA*, fibrinogène, Antithrombine III, Héparinémie / anti Xa, D-Dimères (Toujours urgent), facteurs de coagulations, Acheminer le prélèvement à température ambiante dans un délai inférieur à 2 heures, si centrifugation le délai serait &lt; 4H.</p> <p><b>NB : Respect de la proportion sang /anticoagulant (bien remplir le tube jusqu'au trait de jauge)</b></p>
	<p><b>Ionogramme (prélèvement externe), troponine (toujours urgent), vitamine D* ...</b></p> <p><b>Limites :</b> inhibe réaction Ag-Ac, inhibe Taq polymérase</p>



<p><b>HEPARINE DE LITHIUM:</b> anticoagulant puissant</p>	
 <p><b>EDTA : anticoagulant</b></p>	<p><u>NFS*, Réticulocytes,</u>  <u>Paludisme,</u>  <u>Groupes sanguins, RAI, Coombs direct,</u>  <u>HBA1C,</u>  <u>Marqueurs cardiaques : BNP, ProBNP,</u>  <u>Immunosuppresseurs : Tacrolimus, Ciclosporine</u>  <u>Biologie moléculaire : HVB, HVC, HIV, IL 28B, BCR-ABL, HLA B27, HLA B51...</u></p>
 <p><b>CITRATE DE SODIUM 4N</b></p>	<p><b>Vitesse de Sédimentation</b></p>
 <p><b>Tube Acid Citrate Dextrose ou ACD</b></p>	<p><b>Pyruvate kinase érythrocytaire</b></p>
 <p><b>Tube Héparinate</b></p>	<p><b>Pour l'analyse des oligoéléments, aluminium, arsenic, plomb, chrome, fer, fluorure, cobalt, cuivre, lithium, manganèse, molybdène, mercure, sélénium, thallium, fer.</b></p>

de sodium	
 <p>PAX gene</p>	<p>Les tubes PAXgene Blood RNA (BRT) pour le prélèvement de sang total humain assurent la stabilisation d'ARN cellulaire jusqu'à 3 jours à une température comprise entre 18 et 25°C ou jusqu'à 5 jours entre 2 et 8°C, au moins 24 mois quand le sang stabilisé est conservé à – 20°C ou –70°C.</p>

### 3.3.6.2. ORDRE DES TUBES DE PRÉLÈVEMENT :

Il est important de respecter l'ordre des tubes pour éviter toute contamination / interaction avec les différents anticoagulants.

Cet ordre pourra être modifié en fonction de la prescription médicale et des contraintes biologiques

Lors du prélèvement, il faut toujours commencer par les tubes destinés à une analyse microbiologique (hémoculture) pour éviter toute contamination possible.

Respecter strictement l'ordre des tubes :

Hémoculture → Tube citrate de sodium (bleu clair) → Tube avec gel séparateur (jaune) → Tube sec (rouge) → Tube avec héparinate de lithium (Vert) → Tube avec EDTA (mauve) → tube avec fluorure de sodium et oxalate de potassium (gris) → tube avec citrate de sodium à VS (noir) → autre tube (ACD...)

Hémoculture → Tube sec sans additif

## • Ordre de prélèvement des tubes

Recommandations CLSI (NCCLS), Déc. 2003, Doc. H3-A5 et GEHT 2007 ([www.qapfclm.com](http://www.qapfclm.com))

### AVEC UNE AIGUILLE (ponction franche)



### AVEC UNE UNITÉ A AILETTES



#### • Avec hémoculture



#### • Sans hémoculture



NB : veiller sur le bon remplissage des tubes (90%)

NB : Il est recommandé d'homogénéiser les tubes de sang par retournements successifs lents, sans générer de formation de mousse :

- Citrate : 3 à 4 retournements.
- SST : 5 à 6 retournements.
- Autres tubes : 8 à 10 retournements.

### Il y a lieu de respecter les prescriptions suivantes.

- Avec un examen d'hémostase et si aucun échantillon d'hémoculture n'est nécessaire alors il faut commencer par remplir un tube de purge en cas d'utilisation d'aiguille à ailettes. Dans le cas d'utilisation d'aiguille normal, le tube de purge n'est pas nécessaire.
- L'influence des anticoagulants sur une sélection de paramètre est décrite dans le tableau ci-dessous :

Paramètre	Anticoagulant interférant
Albumine*	Héparine
Phosphatase alcaline*	Citrate, EDTA, Fluorure, oxalate
Alpha-amylase	Citrate, EDTA, Fluorure
Alpha-1-antitrypsine	Citrate, EDTA, oxalate
Bilirubine	Citrate, Fluorure, oxalate
Vitesse de sédimentation (VS)	Héparine
Calcium*	Citrate, EDTA, oxalate
Cholestérol*	Citrate, Fluorure
Cholinestérase	EDTA, fluorure, héparine
Céruloplasmine	EDTA
Kinase de créatine (CK)	Citrate, Fluorure, oxalate
CK-MB	Citrate, EDTA, Fluorure, Héparine, oxalate
Fer*	Citrate, EDTA, Héparine, oxalate
Capacité de fixation du fer	EDTA
Gamma-GT*	Citrate, Fluorure, Héparine, oxalate
GLDH	Fluorure
Gucose*	Citrate, oxalate
GOT (ASAT)*	oxalate
GPT (ALAT)*	oxalate
Acide urique*	EDTA, citrate, fluorure
Urée*	Fluorure

HBDH	Oxalate
Cholestérol HDL*	Citrate, fluorure
Insuline	Oxalate
Potassium*	Oxalate
Créatinine *	Citrate, EDTA, fluorure
Cuivre	Citrate, EDTA, fluorure, oxalate
LAP	Citrate, EDTA, fluorure, héparine, oxalate
LDH*	Fluorure, oxalate
Cholestérol LDL	Oxalate
Lipase	EDTA
Lipides	EDTA
Electrophorèse des lipides	Oxalate
Lithium	Oxalate
Sodium*	Citrate, EDTA, Oxalate
Phosphate*	Citrate
Electrophorèse des protéines	Oxalate
Quick (temps de thromboplastine)*	Oxalate
Phosphatase acide	Citrate, EDTA, Fluorure, héparine, oxalate
T3L (triiodothyronine)*	Oxalate
Triglycérides*	Citrate, fluorure, oxalate
Vitamine B12*	Oxalate

### 3.3.6.3. Etapes du prélèvement :

- **Se désinfecter les mains par un lavage au savon (1 fois/5 patients) et avec une solution hydro-alcoolique entre deux patients.**
- Poser le garrot afin de favoriser une vasodilatation veineuse : le garrot doit être mis à 7.5 cm du site de prélèvement, et **sa pose ne doit pas excéder 1 minute.**
- Choisir la veine (ne pas trop frotter ni tapoter le site de prélèvement)
- Désinfecter le point de ponction avec un mouvement circulaire depuis le centre à l'éthanol à 70° et laisser sécher,
- **NE PLUS TOUCHER LE POINT DE PONCTION APRES DESINFECTION**
- Prévenir le patient que le geste est imminent
- Faire attention au retournement de la veine par extension de la peau
- Insérer l'aiguille de manière longitudinal dans la veine avec déterminisme et prudence et à un angle de 5 à 30 degré en fonction de la profondeur où se trouve la veine ainsi au moins 0,5 cm de l'aiguille est inséré dans la veine.
- Si veine non détectée procéder à un léger positionnement en avant et en arrière
- Réaliser le prélèvement en respectant l'ordre des tubes :
  - **HEMOCULTURE → BLEU → JAUNE → VERT → VIOLET → GRIS → NOIR**
  - **NB :** en cas d'utilisation d'aiguille à ailette, il est impératif d'utiliser un tube de purge avant le tube **BLEU (tube citraté)**
- Enfoncer le tube au fond du corps porte-tube dès que l'aiguille est en place de façon à percer le bouchon et maintenir le tube jusqu'à écoulement du sang.
- Oter le garrot dès que le sang s'écoule dans le tube. **Sa pose ne doit pas dépasser 1 minute)**
  - **!!! ASSUREZ VOUS QUE LE POIGNET DU PATIENT EST OUVERT DÈS QUE LE SANG COULE**
- FAIRE RETOURNER UNE FOIS chaque tube après qu'il soit bien rempli et le poser sur le portoir disponible à cet effet
  - **!!! AGITATION VIGOUREUSE DES TUBES EST STRICTEMENT INTERDITE**
- Après avoir retiré le dernier tube poser un morceau de la gaze sur le site de prélèvement sans appliquer une quelconque pression.
- Enlever l'aiguille doucement tout en évitant de causer toute sorte de blessure
- Appuyer dès le retrait de l'aiguille avec le morceau de la gaze sur le site de prélèvement puis demander au patient de mettre son doigt pour continuer à presser le point de prélèvement pendant 2 à 5 mn.

- Dites au patient de ne pas baisser le bras mais plutôt le lever car cela pourra aider à arrêter l'écoulement de sang.
- **PROCEDER AU RETOURNEMENT DE TOUS LES TUBES PRELEVES, 4 FOIS**
- vérifier que le sang s'est bien arrêté de s'écouler
- Mettre un sparadrap avec pansement sec sur le point de ponction
- Identifier les tubes par les étiquettes code à barre AVANT DE QUITTER LE BOX Cette étiquette doit être collée droite à quelque millimètre du bouchon de manière à éviter de cacher les niveaux de remplissage.
- Eviter de toucher les étiquettes code à barre avec de l'alcool car il y a un grand risque d'endommager les informations inscrites
- Mettre l'aiguille dans son capuchon pose préalablement sur un portoir puis jeter l'ensemble dans le contenant hermétique
  - Dès le retrait du système de prélèvement (à ailettes), il faut la mettre dans un contenant hermétique qui doit être à proximité du préleveur
  - **NB : Chez les nouveaux nés et nourrissons, en fonction de la quantité de sang nécessaire, le prélèvement est fait au niveau du : talon, veine de l'avant-bras, veines fémorales sous contrôle médical.**
  - **Cf. procédure Qualité : C1-PR-002 Gestion des analyses signalées urgentes**

### 3.3.7. FACTEURS D'INFLUENCE DE CENTRIFUGATION LIES A LA MANIPULATION DES ECHANTILLONS

#### 3.3.7.1. Précautions à prendre pour la centrifugation de l'échantillon

- ✓ Si la durée d'attente avant la centrifugation est trop courte et si le sang n'a pas pu coaguler entièrement, une post-coagulation peut se produire dans le sérum. Celle-ci produira des fibres de fibrine dans le sérum, qui risquent d'obstruer les conduites de l'analyseur.
- ✓ En outre, le gel contenu dans les tubes avec gel séparateur ne pourra pas former une barrière de séparation suffisante. En conséquence, les tubes de sérum ne doivent pas être centrifugés dans les 30 minutes suivant le prélèvement sanguin. Ces échantillons ne doivent être centrifugés que lorsque la rétraction est complètement finie (c'est-à-dire lorsque le caillot sanguin s'est contracté).
  - Laissez l'échantillon de sérum coaguler dans un tube en position debout selon les recommandations des fournisseurs des tubes :
    - Tube sec : 60 Minutes
    - Tube sec avec séparateur : 30 Minutes
  - Centrifugez uniquement des échantillons hermétiquement fermés.
  - Appliquez la durée et la vitesse de centrifugation recommandées dans le tableau ci-dessous.
- ✓ Aucune durée d'attente n'est nécessaire pour les échantillons de plasma.
- ✓ Un refroidissement ou un réchauffement extrême dans la centrifugeuse peut provoquer une hémolyse. La température dans la centrifugeuse doit être comprise entre 15 °C et 25 °C

#### Une centrifugation optimale doit être :

- Assez intense pour permettre une sédimentation totale des cellules afin d'avoir un surnageant sans cellules en suspension,
- Suffisamment douce pour ne pas lyser les cellules sanguines et par conséquent libération de leur contenu dans le liquide surnageant,
- Suffisamment douce pour ne pas lyser les éventuelles cellules présentes dans les urines.

#### 3.3.7.2. Conditions pour réaliser les centrifugations

##### 3.3.7.2.1. Cas du Sérum :

Après coagulation complète (au minimum 30 minutes si tube SST et 60 min si tube SEC sans gel séparateur, à température ambiante **15-25°C**, le temps peut être prolongé si le

patient est sous anticoagulant), centrifuger le tube entre **1300 et 2000 g** pendant **5 à 15 minutes**.

**3.3.7.2.2. Cas du Plasma issu de tube pour examen de coagulation :**

Centrifuger les tubes à **1500-2000 g** en moins **15min** ou à **2000-2500 g** en moins **10 min** à **15-25°C**

**NB :** Le délai maximal recommandé entre le prélèvement et l'analyse est de 4h pour la majorité des paramètres.

**3.3.7.2.3. Plasma issu de tube EDTA pour examen de Biologie moléculaire :**

Centrifuger le tube entre **1300 et 2000 g** pendant **10 minutes**, entre **15-24°C** ceci peut être fait immédiatement après le prélèvement.

**3.3.7.2.4. Sédiment urinaire :**

Centrifuger l'échantillon à **400 g** pendant **5 minutes**. Ne pas dépasser ces recommandations car les culots ont tendance à être trop compacts et les leucocytes à former des amas.

800-1200g pdt 10 min

**3.3.7.2.5. Tubes pour analyse quantiféron**

Après incubation, les tubes sont centrifugés pendant **15 min** à **2000-3000 g**. (Il n'y a pas de T° de centrifugation qui est recommandé par le fabricant). Nous appliquons une centrifugation à la Température ambiante (**15-25°C**).

La durée et la vitesse de centrifugation requises dépendent du type d'échantillon, du type de tube choisi, ainsi que de la centrifugeuse utilisée (rayon du rotor)

**3.3.7.2.6. Particularité**

- La centrifugation est en général réalisée à température ambiante, mais pour certains analytes labiles, il faut régler la température de centrifugation à la température adéquate (tenir aussi compte que la température augmente durant la centrifugation).

**NB :** En cas d'analyses particulières et rarement fréquentes, Cf au coordinateur d'activité/biologistes ou à défaut au répertoire des analyses.

- Tubes avec gel séparateur

**NB : Les tubes avec gel ne doivent jamais être re-centrifugés car la re-centrifugation de tels tubes peut avoir des conséquences sur les résultats, des particules de gel peuvent se détacher et se mélanger au sérum.**

**Si l'échantillon devait être re-centrifugé, transférer le sérum ou le plasma du tube primaire dans un autre tube propre et sec, puis le re-centrifuger.**

**3.3.7.2.7. La double centrifugation :**

L'objectif de la double centrifugation est d'éliminer facteur plaquettaire 4 (FP4) synthétisé par les plaquettes sanguines du plasma. Si les plaquettes résiduelles sont supérieures à 10 G/L, leurs phospholipides interagissent avec l'activité antiphospholipide des anticoagulants type lupique et peuvent entraîner des résultats faussement négatifs. La double centrifugation est donc obligatoire pour la recherche d'anticoagulant circulant de type lupique et/ou examens plus spécialisés d'hémostase (Cf à la procédure de centrifugation des échantillons pour plus de détail)

**3.3.7.2.8. Délai entre la réalisation du prélèvement et la centrifugation :**

Lorsqu'il est indiqué « Centrifuger immédiatement ou rapidement » sans précision de délai, la centrifugation doit se faire dans l'heure qui suit la réalisation du prélèvement. Sans précision de délai, la centrifugation doit se faire dans les 4 heures qui suivent la réalisation du prélèvement.

**3.3.7.3. Chargement de la centrifugeuse**

Les tubes doivent impérativement être disposés dans le rotor de façon à éviter tout déséquilibre. Ainsi le poids (en grammes) des tubes qui se font face dans le rotor doit être similaire.

Si le nombre de tubes à centrifuger est impair, on placera en face du tube unique un autre tube contenant le volume d'eau nécessaire pour obtenir un poids identique.

Un déséquilibre dans le chargement du rotor (tube plus lourd d'un côté que de l'autre) peut avoir des conséquences dramatiques : rupture de l'axe et expulsion du rotor car soumis à des vitesses énormes, d'où le risque de dommages dans le laboratoire et de blessures du personnel.

Il est recommandé de ne pas dépasser une force relative de centrifugation de 1300 g avec des tubes en verre.

#### 3.3.7.4. Calcul de la vitesse de rotation pour une centrifugeuse précise

Le nombre « g » indique la force requise pour obtenir une centrifugation optimale. Il est également dénommé force centrifuge relative (RFC) et permet de calculer la vitesse de rotation nécessaire pour un tube donné et une centrifugeuse donnée.

La relation entre la vitesse du rotor exprimée en tours ou en rotations par minute (rpm), la force centrifuge relative (RCF) ou « g » et la distance entre le centre du rotor et le fond du tube (r = rayon de rotation en mm) est décrite par la formule :

$$\text{rpm} = 1000 \times \sqrt{\frac{\text{RCF}}{r \times 1,118}}$$

➤ **Pour déterminer la vitesse de rotation :**

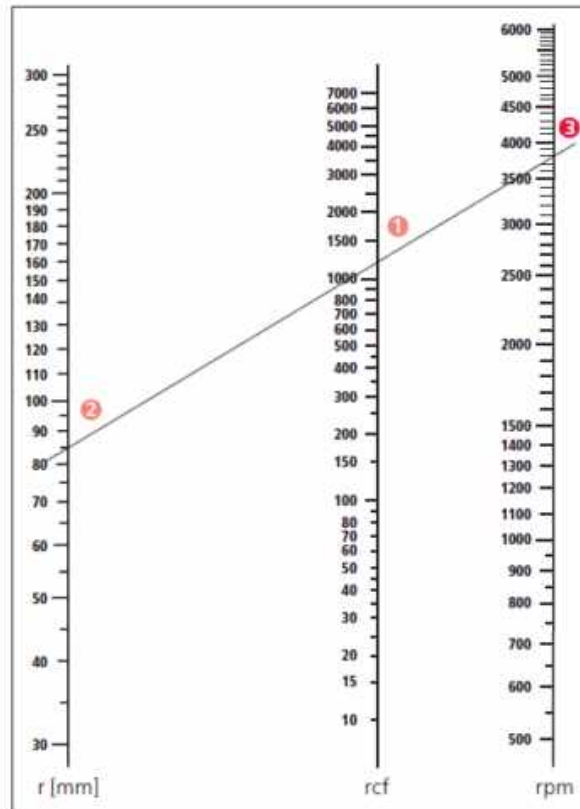
1. identifier la RCF nécessaire : se référer aux indications fournies par le fabricant du tube.
2. identifier le rayon (= la moitié du diamètre) du rotor de la centrifugeuse : consulter le mode d'emploi de la centrifugeuse ou lire directement sur le rotor.
3. appliquer la formule de calcul.

➤ **La vitesse de rotation peut également être déterminée en ayant recours à un nomogramme :**

1. Identifier la force centrifuge et le rayon de la centrifugeuse comme ci-dessus :
2. sur l'échelle représentant la force centrifuge, marquer la valeur de la force centrifuge requise.
3. sur l'échelle représentant le rayon, marquer la valeur du rayon de la centrifugeuse.
4. relier les deux marques en prolongeant le trait pour couper l'échelle représentant les rotations par minute.



5. lire la valeur indiquée par le point d'intersection sur l'échelle des rotations par minute pour obtenir la vitesse de rotation à régler sur la centrifugeuse.



Lors de la centrifugation, observez les points suivants :

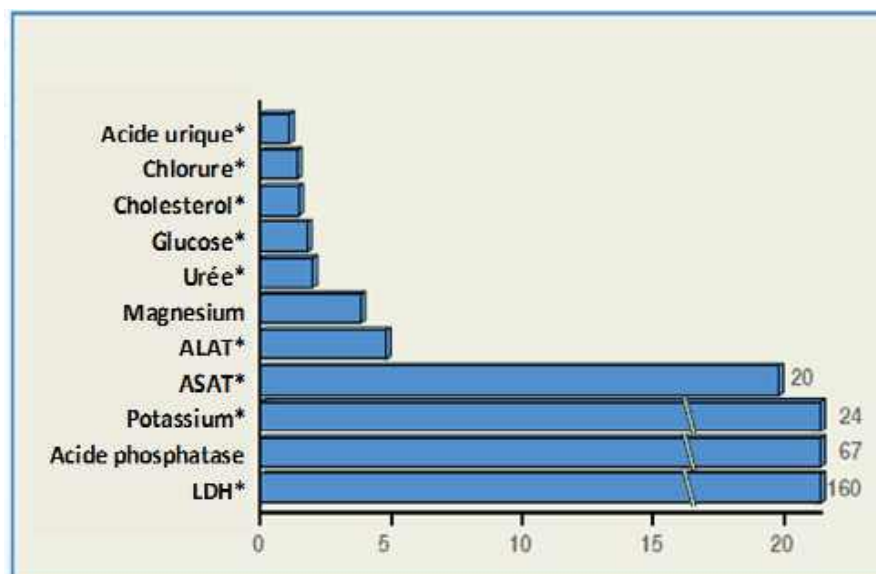
### 3.3.8. Précautions à prendre pour éviter l'hémolyse :

Une hémolyse se produit s'il y a une lyse de la membrane des érythrocytes. Ainsi les composants intracellulaires passent dans le plasma et sérum ce qui augmente le taux de certains paramètres dont la concentration est élevée dans les érythrocytes par rapport à celle du sérum et plasma est élevé.

Ainsi, il est rapporté que la concentration de différents paramètres dans les érythrocytes et dans le sérum.

**La figure ci-dessous montre que la concentration de :**

- LDH\* est 160 fois plus élevée dans les érythrocytes que dans le sérum.
- Potassium\* est de 67 fois plus élevée dans les érythrocytes que dans le sérum
- Les transaminases\* est 20 fois plus élevée dans les érythrocytes que dans le sérum
- ...etc.



### **L'hémolyse a un triple effet :**

- La libération de composants intracellulaires modifie la concentration dans le sérum ou le plasma comme décrit ci-dessus.
- La coloration rouge causée par l'hémoglobine interfère avec les mesures photométriques.
- Les réactions chimiques qui se déroulent au cours des analyses peuvent être influencées par des substances cellulaires.

### **Les erreurs suivantes entraînent une hémolyse et doivent donc être absolument évitées :**

- Garrot trop serré.
- Aiguilles d'un diamètre trop petit.
- Aspiration de liquide tissulaire après la ponction veineuse.
- Transfert de sang à d'autres récipients à l'aide d'une seringue.
- Agitation de l'échantillon au lieu de mélanger doucement.
- Séparation des cellules du sérum ou plasma après plus de 2 heures.
- Centrifugation trop longue ou trop forte.
- Exposition à des températures trop élevées ou trop basses, par exemple lors du contact des échantillons avec des éléments réfrigérants.
- Congélation de sang total.

### **3.3.9. Précautions à prendre pour éviter la formation de caillot de sang et pour uniformiser les sérums et plasma :**

- **Le sang total doit être homogène avant d'être introduit dans l'analyseur.** A titre d'exemple, **le sang total EDTA doit être soigneusement mélangé** avant son utilisation. L'utilisation de mixeurs mécaniques est préférable.
- Un problème particulier peut se présenter en cas d'utilisation de tubes de prélèvement sanguin avec un petit diamètre, comme par exemple de tubes pour la vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS). L'homogénéisation insuffisante de ces échantillons entraîne une augmentation de la vitesse de sédimentation.
- **Mélangez toujours soigneusement avant les analyses** - non seulement les échantillons décongelés mais tous les échantillons qui viennent d'arriver.

## **3.4. MODALITES DES PRELEVEMENTS POUR LES EXAMENS D'HÉMOSTASE :**

### **3.4.1. Conditions générales pour les prélèvements pour l'hémostase :**

Pour tout examen ou bilan d'hémostase, nous vous prions de respecter les précautions pré-analytiques suivantes. Pour toute précaution pré-analytique supplémentaire, merci de vous référer aux différents examens concernés (D'après recommandations octobre 2015 du GEHT).

Il y a lieu de **procéder à un petit interrogatoire au patient avant le prélèvement.**

- *Avez-vous pris de l'aspirine ces dernières 48 heures ?*
- *Saignez –Vous Souvent ? par exemple en vous brossant les dents ;*
- *Vérifier si la notion d'hémophilie n'est pas évoquée sur la prescription médicale.*

### **3.4.2. Conditions optimales :**

- *Le matin, au repos depuis plus de 5 minutes, en position assise*
- *Un repas léger sans matières grasses est autorisé*
- *Tabac, exercice physique, caféine sont à éviter*

### **3.4.3. Taille optimale de l'aiguille :**

Diamètre compris entre 19 G (1mm) et 22 G (0.7mm). Prélèvements pédiatriques : aiguilles de diamètre 23 G acceptables.

Les aiguilles à ailettes de type « épicroténienne » peuvent être utilisées si la tubulure est courte (longueur < 6cm et volume mort < 150 µl). Elles sont recommandées chez l'enfant et chez l'adulte en présence de veines fines ou difficiles.

#### 3.4.4. Garrot :

**Peu serré, maintenu à moins d'1 minute.**

**Si les veines sont fines ou difficiles, le laisser en place en le serrant modérément.**

Avec les tubes sous vide, dès que le sang afflue dans le tube, le garrot doit être desserré.

#### 3.4.5. Site de ponction :

**Eloigné de toute perfusion**

#### 3.4.6. Ordre de prélèvement des tubes :

Il y a lieu de respecter les prescriptions contenues dans le paragraphe 4.6

En résumé, avec un examen d'hémostase et si aucun échantillon d'hémoculture n'est nécessaire, il faut commencer par remplir un tube de purge en cas d'utilisation d'aiguille à ailettes.

Dans le cas, d'utilisation d'aiguille normal, le tube de purge n'est pas nécessaire.

#### 3.4.7. Remplissage des tubes

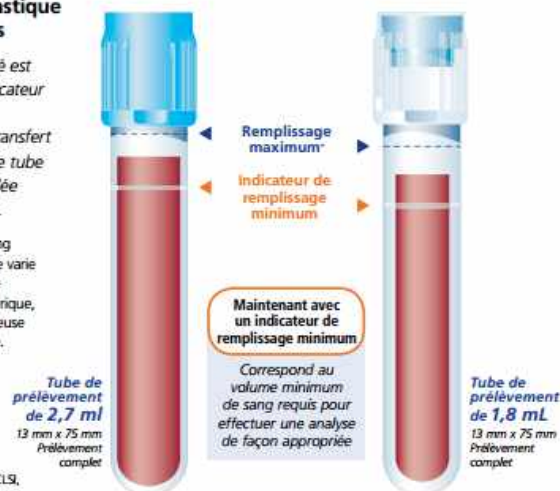
- Il est absolument essentiel de remplir les tubes (et notamment ceux qui contiennent des anticoagulants) avec précision et en observant les tolérances de remplissage.
- Des erreurs particulièrement graves peuvent s'ensuivre si des tubes citrate pour les tests de la coagulation sont trop ou insuffisamment remplis.
- Remplissez les tubes avec précision afin d'assurer un rapport de mélange correct les remplissages valides sont :

##### Guide de remplissage des tubes citratés en plastique BD Vacutainer® Plus

Le volume de sang prélevé est suffisant s'il dépasse l'indicateur de remplissage minimum. Si l'on doit effectuer un transfert de sang, **ne pas** remplir le tube au-delà de la ligne pointillée de remplissage maximum.

**Remarque :** Le volume de sang prélevé dans un tube sous vide varie selon l'altitude, la température ambiante, la pression barométrique, l'âge du tube, la pression veineuse et la technique de remplissage.

\*Conformément à la directive du CLSI, déc. 2003, doc. H1-A5, vol. 23, n° 33.





### 3.4.11. Prélèvements et conservation

**Il est de la responsabilité du laboratoire demandeur :**

- *D'effectuer et de conserver les prélèvements biologiques selon les modalités indiquées dans le présent manuel.*
- *D'informer les préleveurs laboratoire demandeur des modalités pré analytiques relatives aux prélèvements et à la manipulation des échantillons*

## 3.5. TEMPS DE SAIGNEMENT

**Pour les conditions pour les prélèvements des examens de coagulation cf chapitre 4.5**

### 3.5.1. Méthode de Duke

#### ➤ Conditions

**Procéder à un petit interrogatoire au patient avant l'incision:**

- Avez-vous pris de l'**aspirine** ces dernières 48 heures ?
- Saignez –Vous Souvent ? par exemple en vous brossant les dents ;
- Vérifier si la notion d'hémophilie n'est pas évoquée sur la prescription médicale.

#### ➤ Technique

- Nettoyer le lobule de l'oreille à l'éther ou à l'alcool (laisser sécher dans ce dernier cas) ;
- A l'aide d'un vaccinostyle stérile faire une incision franche horizontale d'environ 5 mm de longueur et 1 mm de profondeur ;
- Dès l'apparition de la première goutte de sang, déclencher le chronomètre ;
- Toutes les 30 secondes, recueillir les gouttes de sang sur une feuille de papier buvard sans toucher à l'incision ;
- Arrêter le chronomètre dès que le sang cesse de couler ;
- Noter le temps de saignement.

**La valeur normale est comprise entre 2 et 5 minutes.**

### 3.5.2. Méthode de IVY 3 points

#### ➤ Conditions :

**Procéder à un petit interrogatoire au patient avant l'incision:**

- Avez-vous pris de l'**aspirine** ces dernières 48 heures ?
- Saignez –Vous Souvent ? par exemple en vous brossant les dents ;
- Vérifier si la notion d'hémophilie n'est pas évoquée sur la prescription médicale.

#### ➤ Technique :

- ✓ Placer le brassard au niveau du bras et mettre la pression du tensiomètre à 40 mm Hg;
- ✓ Nettoyer l'avant-bras avec l'éther (éviter le passage de la veine) ;
- ✓ A l'aide d'un **vaccinostyle piquer en 3 points** au niveau de la zone nettoyée ;
- ✓ Dès l'apparition de la première goutte de sang, déclencher le chronomètre ;
- ✓ Toutes les 30 secondes, recueillir les gouttes de sang sur une feuille de papier buvard sans toucher aux points de piqûre ;
- ✓ Arrêter le chronomètre dès que le sang cesse de couler ;
- ✓ Noter le temps de saignement ;

**La valeur normale est comprise entre 2 et 6 minutes**

## 3.6. MODALITES DES PRELEVEMENTS POUR LES EXAMENS DE NUMERATION ET CYTOLOGIE SANGUINE\* :

### 3.6.1. MODALITES DES PRELEVEMENT POUR LES EXAMENS DE NUMERATION ET CYTOLOGIE SANGUINE\* :

#### 3.6.1.1. MATERIEL = ANTICOAGULANT (K2EDTA ou K3EDTA)

- **Effet sur les Globules Rouges :** au-delà de 24H00 0 T° ambiante l'EDTA induit une augmentation du VGM

- **Effets sur les leucocytes** : Des modifications morphologiques, des PNN et des Monocytes apparaissent à partir de 2 Heures après les prélèvements avec :

- une vacuolisation des cellules,
- perte des ponts entre les lobes des PNN

**Le remplissage incomplet du tube accentue ces effets et les rend plus rapide**

- **Effets sur les plaquettes** :

- Changement de forme de discoïde à sphérique avec modification du VMP
- Agrégation des plaquettes entre elles qui n'est qu'un phénomène artéfactuel induit par l'EDTA, s'amplifiant avec le temps après le prélèvement et ne traduisant aucune pathologie, ceci entraîne :

- ✓ **Diminution du taux des plaquettes**
- ✓ **Parfois les amas s'assimilent par l'automate en leucocytes d'où la nécessité de contrôler les histogrammes**
- ✓ **La reproduction de ce phénomène est très probable pour les prélèvements des jours suivants**

La recherche des amas est indispensable devant toute valeur basse de plaquettes rendue par l'automate alarmée ou non, chez un sujet sans antécédents de thrombopénie, ou devant une aggravation importante d'une thrombopénie connue (surtout lorsqu'elle est proche du seuil transfusionnel théorique de 30 G/l)

- ✓ **En cas d'amas il est préconisé de réaliser un prélèvement sur citrate de sodium.**
  - ✓ Le tube doit être parfaitement rempli
  - ✓ Effectuer une correction du nombre de plaquette obtenu en ajoutant 10%
  - ✓ Les autres paramètres de la numération peuvent être rendus à partir d'un tube citraté avec aussi une correction de 10%
- ✓ **En cas de persistance d'amas avec prélèvement sur citrate de sodium EFFECTUER LA DETERMINATION SUR UN SANG CAPILLAIRE RECUEILLI AU BOUT DU DOIGT dans une solution de lyse des hématies puis comptage au microscope en cellule Malassez**

- **Type de tube :**

- Tube sous vide en plastique de 2ml ou 4ml avec une vigilance sur la date de péremption du lot
- Conditions de stockage : T° ambiante 15°-25°c avec une absence d'exposition à la lumière

**Le Tube de 2ml est recommandé car suffisant pour les analyses de routine**

### 3.6.1.2. Méthodologie

- **Réalisation des prélèvements : Cf prélèvement de sang veineux**

- **Prélèvement sang capillaire en pédiatrie = micro prélèvements :**

- 1<sup>ère</sup> goutte de sang est à écarter
- Le niveau du tube de remplissage théorique est compris entre deux traits sur la paroi du tube entre 250-500 ul
- Attention à la formation d'amas plaquettaire
- **LA NOTION DE MICROPRELEVEMENT DOIT APPARAÎTRE SUR LE COMPTE RENDU**

- **Prélèvement sang au pli du coude par technique « à l'écoulement »**

- Tube EDTA 2 ml

- Durée maintien du garrot :

Au-delà d'une minute de pose de garrot génère une hémolyse et une hémococoncentration

- Remplissage des tubes :

Niveau préconisé +/- 10%

- Mélange anti coagulant /sang :

- Retournements 8 à 10 fois le tube juste après le prélèvement
- Un prélèvement coagulé ne peut en aucun cas être utilisé pour la NFS\*



- Recherche de caillot devant toute valeur basse des plaquettes

### 3.6.1.3. Conservation des prélèvements

- Méthode sang veineux : 6 heures après prélèvement à T° ambiante
- Micro Méthode : 4 heures après prélèvement à T° ambiante
- Attendre 30mn sous agitation automatisée pour réaliser le comptage sinon augmentation du CCMH
- La conservation des tubes au-delà de 24 Heures n'est recommandée. Le délai de 24H permet une éventuelle réanalyse des NFS\*
- Pour les frottis le délai de 2H après le prélèvement est recommandé. Toute fois un délai de 6 à 8 heures est toléré.

### 3.6.1.4. Réalisation des frottis sanguins

- Etalement 2H après le prélèvement est recommandé. Toute fois un délai de 6 à 8 heures est toléré
- Identification des lames par une étiquette code à barre
- Séchage des frottis à l'air libre sans séchoir ni agitation
- Coloration au MGG standardisé
  - ✓ L'eau pour le rinçage doit être tamponné (PH entre 6.8 et 7.2)
  - ✓ Les lames doivent être immergées dans les bains de colorant et non recouvertes par le colorant sur un portoir
  - ✓ Le bain de colorant doit être renouvelé régulièrement pour la stabilité du colorant et surtout en été.

## 3.6.2. MODALITES DES PRELEVEMENT POUR LES EXAMENS DE NUMERATION ET CYTOLOGIE SANGUINE :

### 3.6.2.1. CCMH

CCMH > 36 prouve une sous-estimation des GR dont les causes peuvent être :

- ✓ Dysfonctionnement de l'automate d'où l'intérêt de suivre la moyenne mobile
- ✓ Hémolyse, lactescence,
- ✓ Agglutinines froides
- ✓ Hématies déshydratés (Chimiothérapie)

### 3.6.2.2. Signalisation des amas plaquettaires par alarmes

La présence d'amas plaquettaires suite aux alarmes automate et/ou devant un nombre de plaquettes inférieur à la normale obtenu chez un patient sans antécédent de thrombopénie

**LA REGLE EST DE RECHERCHER SYSTEMATIQUEMENT LA PRESENCE D'UN CAILOT LORSQUE L'UNE OU PLUSIEURS LIGNEES SONT ABAISSEES**

### 3.6.2.3. Etude du frottis :

**Non conformités entraînant un rejet du résultat sont :**

NON CONFORMITE	CAUSES	REJET
Nombreux échinocytes (sans étiologie précise)	Conservation prolongée	Morphologies des Erythrocytes
Amas plaquettaires	Induit par EDTA	Numération plaquettaire
Satellisme plaquettaire	Induit par EDTA	
Amas des leucocytes	Induit par EDTA	Rejet de leucocytes
Nombreuses ombres		



cellulaires (hors LLC)	1- Délais conservation allongé	Rejet de la formule ou résultats avec réserves
PNN à cytoplasme de contours flous hypogranuleux	2- Tube peu rempli (concentration élevée en EDTA)	
Polynucléaires apoptotiques	3- Choc thermique	
Lymphocytes apoptotiques	4- Défaut de confection de frottis ou coloration	
Lymphocytes activés apoptotiques		
Grains de PNN non visibles	Défaut de coloration	Formule sous réserve
Amas de fibrine	Equivalent de prélèvement coagulé	Rejet de l'échantillon

ités

#### 3.6.2.4. Connaissance des résultats antérieurs :

- Ceci est d'une grande importance
- Une variation du VGM entre deux analyses rapprochées dans le temps et en dehors de toute transfusion peut témoigner d'une erreur d'étiquetage.

### 3.7. HÉMOCULTURE :

#### 3.7.1. Conditions

Ce prélèvement doit être réalisé selon les conditions suivantes :

- De préférence, en dehors de toute antibiothérapie ;
- A distance des prises alimentaires pour éviter les bactériémies post prandiales ;
- Au moment des pics fébriles (à partir de 38,5°C) ou en cas d'hypothermie chez le nourrisson (< 36°C).
- Les contaminations sont une cause particulièrement fréquente d'interférences dans les examens microbiologiques d'échantillons de sang. Des germes de la peau contaminent souvent l'intérieur des flacons d'hémoculture.
- Si l'échantillon n'est pas manipulé correctement, ces germes peuvent se reproduire plus rapidement que l'agent pathogène, et cette croissance excessive des germes empêchera le laboratoire d'identifier l'agent pathogène.
- D'habitude, le nombre d'agents pathogènes présents dans le sang est limité. Le nombre total d'agents pathogènes atteint son maximum pendant que la fièvre est en train d'augmenter. Ce fait doit être pris en considération lors de la prise d'une décision au sujet du moment du prélèvement.
- Un refroidissement de l'échantillon et une modification du pH altèrent les chances de survie de certains agents pathogènes. Il est donc essentiel d'assurer des conditions de transport optimales.
- Des durées de transport limitées sont essentielles car des germes sensibles – qui peuvent être encore affaiblis par un traitement aux antibiotiques – peuvent périr rapidement tandis que le nombre des contaminants peut augmenter pendant une durée de transport prolongée.

Par conséquent, une durée de transport prolongée entraîne souvent des résultats faux positifs.

### **3.7.2. Technique**

- Utilisez des flacons d'hémoculture avec le milieu de culture approprié.
- Stockez les flacons d'hémoculture conformément aux instructions du fabricant.
- Laissez les flacons d'hémoculture s'adapter à la température ambiante avant de les utiliser.
- Effectuez le prélèvement sanguin toujours avant de commencer un traitement aux antibiotiques.
- Prélevez l'échantillon pendant la phase de frissons, quand le patient a de la fièvre. La densité des germes est à son maximum pendant cette phase.
- Si un traitement aux antibiotiques a déjà été entamé, l'échantillon doit être prélevé à la fin de l'intervalle entre deux prises.
- Il est essentiel de désinfecter la peau soigneusement avant le prélèvement de l'échantillon. Appliquez le désinfectant, puis laissez-le agir pendant. Ne pas essuyer. Une fois la désinfection terminée, ne touchez plus la peau.
- Les bouchons en caoutchouc des flacons d'hémoculture doivent également être désinfectés après le retrait du capuchon de protection.
- Si plusieurs échantillons doivent être prélevés, commencez par les échantillons destinés aux hémocultures.
- Ne prélevez pas des échantillons à partir d'un cathéter horizontal.
- Utilisez un système fermé sans décantation pour le prélèvement et tenez le flacon d'hémoculture au-dessous du site de ponction veineuse.
- Pour prévenir toute pénétration d'air dans le flacon anaérobie, commencez par remplir le flacon aérobie.
- Les renseignements cliniques supposés doivent être mentionnés sur la fiche d'accompagnement.
- Identifier les échantillons et les faire parvenir au LIAB le plus rapidement possible ;
- Assurez un transport immédiat au laboratoire.
- Stockez à température ambiante mais jamais au réfrigérateur.

**Si la multiplication in vitro d'un agent pathogène est difficile ou prendrait trop de temps, il est préférable d'utiliser une méthode de détection de la biologie moléculaire, comme par exemple la PCR.**

## **3.8. TESTS BIOLOGIQUES FONCTIONNELS :**

### **3.8.1. Tests de tolérance au glucose :**

#### **3.8.1.1. Glycémie à jeun\*:**

L'échantillon pour glycémie à jeun doit être prélevé après un **jeûne de 8 heures**.

Le diabète est défini par une glycémie supérieure à 1,26 g/l (7 mmol/l) après un jeûne de 8 heures et vérifiée à deux reprises.

#### **3.8.1.2. Glycémie\* post prandiale**

**Le prélèvement pour la glycémie\* post prandiale doit être effectué 2 heures après ingestion d'une charge de 75g de glucose ou d'un repas.**

- Ne pas effectuer le test chez les sujets de plus de 70 ans ;
- Ne pas effectuer chez le sujet diabétique ;

Le patient ne doit rien changer de ses habitudes alimentaires et doit prendre ses médicaments s'il a un traitement en cours.

#### **3.8.1.3. Méthode de dépistage du diabète gestationnel =**

Permet un dépistage précoce du diabète gestationnel.

##### **3.8.1.3.1. Conditions de réalisation des tests utilisant la charge au glucose:**

- Cet examen se fait exclusivement le matin ;
- Sujet à jeun depuis 8 H, au repos physique pendant l'épreuve ;

- Ne pas effectuer le test chez les sujets de plus de 70 ans ;
- Ne pas effectuer chez le sujet diabétique ;
- Contre indiqué en cas de médication par :
  - Hyperglycémiant : Corticoïdes, Estrogènes, diurétiques thiazidiques,
  - Hypoglycémiant : aspirine, quinine ...etc.

**3.8.1.3.2. Les tests HbA1c, Fructosamine, glucosurie, glycémie\* au hasard ou post prandiale ne sont pas recommandés**

**3.8.1.4. 1er Trimestre :**

**En présences de facteurs de risque de diabète** il est recommandé de réaliser une Glycémie\* à jeun et l'HGPO n'est pas recommandée.

**3.8.1.5. Entre 24 et 28 semaines d'aménorrhée :**

**3.8.1.5.1. Méthode en 2 temps :**

Permet un dépistage précoce du diabète gestationnel. Il est effectué entre 24 et 28 semaines d'aménorrhée (environ 6ème mois de grossesse) , chez une femme présentant un facteur de risque du diabète. C'est un test d'hyperglycémie simplifié.

➤ **Protocole O'Sullivan 50 g de glucose**

- Faire ingérer au patient **50 g de glucose** dans 250 ml d'eau
- **Prélever au bout de 60 minutes pour pratiquer un test de glycémie.**

Si lors du test de O'Sullivan la glycémie\* est :

- ✓  $\geq 2$  g/l (11 mmol/l), le diagnostic du diabète gestationnel est posé.
- ✓  $\geq 1,30$  g/l (7,2 mmol/l), un test diagnostique est réalisé le lendemain ou dans les jours qui suivent, en demandant à la femme de ne pas modifier son alimentation spontanée. La charge orale en glucose est de 100 g = HGPO à 100/180mn

➤ **HGPO à 100g de glucose**

Le test est réalisé chez le patient au repos.

- Faire un prélèvement sanguin chez le patient à jeun (temps T0).
- Faire absorber au patient **100g de Glucose dans 250 ml d'eau.**
- Recueillir des échantillons dans des tubes secs aux temps suivants :
  - T0 + 60 min
  - T0 + 120 min
  - T0 + 180 min

**3.8.1.5.2. Méthode en un temps : HGPO 75**

- **Mesurer la Glycémie\* à jeun.**
- Faire ingérer au patient **75 g de glucose** dans 250 ml d'eau
- **Mesurer la Glycémie\* à 1H, 2H**

**3.8.2. Tests Dynamiques d'exploration de la fonction cortico surrénale :**

**3.8.2.1. Test dynamique dans l'hypocorticisme**

**3.8.2.1.1. Test au synacthène immédiat**

**3.8.2.1.1.1. Introduction**

Le synacthène correspond à la fraction 1-4 de l'ACTH, permet de stimuler directement l'activité sécrétoire de la corticosurrénale afin de quantifier la réponse cortisolique à l'ACTH dans l'insuffisance surrénalienne, ou pour dépister une anomalie de la biosynthèse du cortisol\* par dosage des précurseurs avant et après stimulation en cas de bloc de la stéroïdogénèse.

Pour le dépistage du déficit en 21-hydroxylase, il est dosé le cortisol\*, la 17-OH-progesterone, et pour les formes hétérozygotes, le 21-désoxycortisol.

**3.8.2.1.1.2. Phase pré-analytique**

- -Le test est réalisé à jeun, le matin à 8h, après arrêt des traitements corticoïdes depuis 48 heures. Le sujet est au repos allongé pour minimiser les effets du stress.
- -Le test au Synacthène immédiat ne sera pas réalisé en cas d'hypersensibilité au Synacthène, en cas d'infection virale ou en même temps que le test au LH-RH (l'élévation du cortisol\* tend à diminuer transitoirement la libération de la LH\*).

**3.8.2.1.1.3. Protocole**

- Prélever le sang à To.
- Injecter en IV une ampoule de synacthène immédiat à la dose de 0,025 mg/m<sup>2</sup> sans dépasser 0,025 mg.

- Prélever au temps 60 min,
  - Les dosages réalisés sont le **cortisol\*** et l'**ACTH à T0**, et selon le déficit enzymatique recherché, les dosages suivants :
    - **La cortisolémie\* à 8h < 30 µg/L** (82 nmol/L) permet le **diagnostic d'un hypocortisolisme**. Un taux d'ACTH à 8h (normal 20 à 50 pg /ml), > 60 pg /ml et associé à des taux bas de cortisol permet le diagnostic d'une **insuffisance surrénalienne**.
    - **Un pic de cortisol > 200µg/L** (550nmol/L) élimine une insuffisance surrénalienne, mais pas une **insuffisance corticotrope partielle**, qui sera mise en évidence par le test au Synacthène à faible dose ou par un test d'hypoglycémie insulinique, ou également par un test à la métopirime (uniquement chez l'adulte).
    - **Un pic de 17-OH-progesterone > 20 ng/ml** (soit 60nmol/L) permet le diagnostic de **déficit en 21-hydroxylase**.
    - **Un taux de 21-désoxycortisol > 0,5 ng/mL** permet le diagnostic d'une forme hétérozygote de déficit en 21-hydroxylase.
- 3.8.2.1.2. Test au synacthène à faible dose (1 mg)**
- 3.8.2.1.2.1. Introduction**
- Ce test permet la recherche d'une insuffisance corticotrope en particulier après une corticothérapie prolongée ou en cas d'insuffisance hypophysaire.
- 3.8.2.1.2.2. Phase pré-analytique**
- -Le test est réalisé à jeun, le matin à 8 h00
  - -Chez les enfants, le test n'est réalisé qu'après l'âge d'un an.
- 3.8.2.1.2.3. Protocole**
- -Prélever le sang à T0
  - -Injecter en IV 1µg (=1mL) d'une ampoule de Synacthène immédiat dilué dans 250 ml de sérum physiologique (solution à 1µg/ml)
  - **prélever au temps 30 et 60 min pour le dosage du cortisol\*.**
  - **-Un taux de cortisol\* > 180 µg /L (500 nmol/L) est considéré comme normal.**
- 3.8.2.2. Tests dynamiques dans l'hypercorticisme**
- ✓ **Le dépistage de l'hypercorticisme se fait sur les urines de 24h par le dosage de cortisol libre.**
  - ✓ Un dosage de créatinine urinaire permettra de confirmer un recueil correct.
  - ✓ **L'exploration dynamique fait appel aux tests de freinage.**
- 3.8.2.2.1. Test de freinage minute à la dexaméthasone (Dectancyl) :**
- La dexaméthasone est un glucocorticoïde d'action 30 fois supérieure à celle du cortisol.
  - Elle inhibe la sécrétion hypophysaire d'ACTH et donc la sécrétion surrénalienne du cortisol.
  - Le sujet administre à **minuit 2 comprimés de Dectancyl 0.5 mg** (20 µg/kg, maximum 1mg).
  - Le cortisol\* est dosé le lendemain matin à 8h ,
  - **Un taux < 20µg/L (55 nmol /L) élimine un hypercorticisme.**
  - **Ce test permet d'éliminer un hypercorticisme lorsque le cortisol libre urinaire est élevé > 30 µg/m<sup>2</sup> /24h.**
- 3.8.2.2.2. Test de freinage faible ou standard :**
- Ce test est réalisé pour confirmer l'existence d'un hypercorticisme en l'absence de freinage au test minute de Dectancyl.
  - Le recueil des urines de 24h est réalisé à **Jo pour le dosage de cortisol\* libre.**
  - Le lendemain à **J1 un prélèvement à 8h pour les dosages de cortisol et d'ACTH.**
  - Le sujet prend ensuite per os **10 µg/kg (maximum 0 ,5 mg) de Dectancyl à 8h, 12h, 18h et 24h.**
  - **A J2, le sujet prend Dectancyl à 6h, 12h, 18h et 24 h avec le recueil des 24h.**
  - **A J3, un prélèvement pour dosage du cortisol\* et ACTH est réalisé à 8h.**
  - **Le test permet d'éliminer un hypercorticisme lorsque :**  
« la cortisolémie à J3 est < 20 µg / L (55 nmol/L) et le cortisol libre urinaire < 10µg / 24h (27,5nmol/l). »
- 3.8.2.2.3. Test de freinage fort à la dexaméthasone**
- Ce test permet d'aider au diagnostic étiologique des hypercorticismes ACTH-dépendants, essentiellement de **différencier une maladie de Cushing d'un syndrome de Cushing paranéoplasique.**

En effet les cellules des adénomes corticotropes ne sont pas entièrement autonomisées et restent freinables, contrairement aux cellules des tumeurs endocrines responsables des sécrétions ectopiques d'ACTH.

- **Le recueil des urines de 24h est réalisé à J0 pour le dosage du cortisol libre.**
- **Le lendemain à J1 un prélèvement est réalisé à 8h pour les dosages de cortisol\* et d'ACTH.**
- **Le sujet prend ensuite per os 50 µg/Kg (maximum 2 mg) de Dectancyl à 8h, 12h, 18h et 24h.**
- **A J2, le sujet prend Dectancyl à 6h, 8h, 12h, 18h et 24h avec recueil des urines de 24h.**
- **A J3, un prélèvement pour dosages du cortisol\* et ACTH est réalisé à 8h.**
- Une réponse normale entraîne un effondrement des taux urinaires de 17-cétostéroïdes et une diminution des taux de 17-hydroxycorticostéroïdes. Cette réponse est également observée en cas d'hyperfonctionnement par bloc enzymatique (hyperplasie des surrénales) entraînant une insuffisance en cortisol avec hypersécrétion d'ACTH.
- Dans la maladie de Cushing, le freinage est positif et se traduit par une diminution des taux de cortisol\* et d'ACTH de plus de 50% des valeurs de base.
- Lors d'une sécrétion ectopique d'ACTH, la sécrétion n'est pas freinée par le Dectancyl. Lors du freinage rapide, le cortisol\* est élevé et n'est pas diminué sous Dectancyl, ce qui est en faveur d'un syndrome de Cushing.

### **3.9. PROCEDURES DE RECUEIL DES ECHANTILLONS D'URINES :**

Il est préférable que le recueil des urines soit réalisé au laboratoire. A défaut, ce recueil est effectué au domicile du patient, en respectant les conditions inscrites sur le manuel de prélèvement ci-dessous.

NB : Pour les patients sous sondes, les biologistes et les infirmiers préleveurs sont les seuls habilités à effectuer le prélèvement.

#### **3.9.1. Particularités Pré analytiques du recueil des urines:**

Des substances normalement éliminées dans l'urine y sont analysées. Dans des cas pathologiques, on y détecte même des substances qui ne sont normalement pas présentes dans l'urine, comme par exemple des métabolites et des substances exogènes ainsi que des cellules dans le sédiment urinaire.

Seul un échantillon d'urine propre et correctement prélevé peut fournir des résultats précis.

##### **3.9.1.1. Modalités de recueil des différents types d'urines ;**

**On distingue urine aléatoire, urine matinale et urine prélevée sur une période donnée.**

###### **3.9.1.1.1. Urine aléatoire**

L'urine aléatoire est prélevée à n'importe quel moment de la journée.

C'est la forme la plus simple du prélèvement urinaire. D'habitude, elle n'est utilisée que si les symptômes cliniques indiquent la nécessité d'une analyse immédiate, par exemple en cas de soupçon d'infection de l'appareil urinaire ou d'intoxication.

###### **3.9.1.1.2. Urine matinale**

Ici, on distingue entre première et deuxième urine matinale.

- **La première urine matinale** est souvent acide et concentrée et donc adaptée à la détection de bactéries.
- **La deuxième urine matinale** est prélevée quelque temps après le vidage matinal de la vessie. Ce type d'échantillon est recommandé pour la détermination de l'hyper glycosurie et pour l'examen du sédiment urinaire. Lors du prélèvement de la deuxième urine matinale, observez les points suivants :

- *Si nécessaire, le patient doit être à jeun.*
- *Pas d'activité physique avant le prélèvement.*

###### **3.9.1.1.3. Urine des 24 heures ;**

L'urine est collectée pendant une période de 24 heures afin d'équilibrer les fluctuations qui se produisent tout au long de la journée.

Les erreurs de prélèvement sont fréquentes mais peuvent être évitées en fournissant des instructions précises et claires au patient.

Observer les points suivants lors d'un prélèvement urinaire 24 heures :

- **Se procurer au laboratoire un bidon spécifique** (fourni gratuitement), comprenant une étiquette mentionnant : Nom, prénom et Numéro du dossier pour le recueil des urines.
- **Ne pas laver le bidon** utilisez le tel qu'il vous a été livré au laboratoire (LIAB)
- **!!!! Pour les femmes, éviter la période de menstruation.**
- **Evitez toute activité physique intense pendant les 24 Heures avant le début du recueil des urines.**
- **Comment réaliser le prélèvement :**
  - ✓ Recueil des urines pendant 24H
  - ✓ Vider la vessie et noter la date et l'heure du début de recueil pour vous rappeler le début du recueil des urines.
  - ✓ Consommer 1.5 à 2L de liquide au cours des 24 heures du recueil.
  - ✓ A partir de ce moment, recueillez la totalité des urines de la journée et de la nuit dans le bidon remis par le laboratoire **TOUT EN GARDANT LE BIDON DES URINES RECUEILLIS AU REFRIGERATEUR**
  - ✓ Après 24 Heures c'est à dire à la même heure du début du recueil la veille, urinez une dernière fois dans le bidon puis l'acheminer au Laboratoire zeroual kawassim.
- **Acheminement du bidon contenant les urines recueillis pendant 24 heures :**
  - ✓ Le bidon doit être acheminé au laboratoire dans les plus brefs délais.
  - ✓ S'il n'y a pas de possibilités de l'acheminer de suite conservez le bidon contenant les urines recueillis pendant 24 heures au réfrigérateur (+4°C) au maximum.
- **Pour les dosages chimiques dans les urines de 24H00, utiliser un bocal de deux litres pour le recueil des urines de 24 heures et remettre une fiche de préconisation au patient.**

Certains paramètres nécessitent l'ajout d'un agent conservateur (Cf. le tableau ci-dessous):



Paramètre	Conditions de recueil des urines
Glucose urinaire	Conserver les échantillons de 24 heures en ajoutant 5 ml d' <b>acide acétique glacial</b> dans le récipient avant de commencer le prélèvement.
Ionogramme urinaire	Sans conservateurs
Phosphore urinaire	Recueillir les échantillons d'urine dans un flacon contenant <b>20 à 30 ml d'HCl à 6 mol/l</b> afin d'éviter une précipitation des complexes de phosphate.
Calcium urinaire	Recueillir les échantillons d'urine spontanée dans un flacon contenant <b>1 à 2 ml d'HCl à 6 mol/l</b> afin d'éviter la précipitation des sels de calcium
Acide urique urinaire	Utiliser de préférence des échantillons d'urines de 24 heures. Afin d'éviter la précipitation de l'urate et <b>d'ajuster le pH, ajouter 10 ml d'hydroxyde de sodium [500 g/l (12,5 N)] au flacon de recueil avant le prélèvement de l'échantillon.</b>
Magnésium urinaire	Recueillir les échantillons d'urine de 24 heures dans un flacon contenant <b>20 à 30 ml d'HCl à 6 mol/l</b> afin d'éviter une précipitation des complexes de magnésium.

**NB :** - Si Le bocal est plein avant les 24 heures, le patient peut

continuer dans un autre pot propre et sec puis déposer les deux récipients au LIAB.

**!!!** si le patient ne dispose pas d'un flacon du LIAB les produits chimiques de traitement de l'échantillon seront rajoutés à la réception des urines.

#### 3.9.1.1.4. SEDIMENT URINAIRE

- ✓ Pour préparer un sédiment urinaire, commencez par centrifuger une fraction définie de l'échantillon d'urine.
- ✓ Décantez le surnageant. Le sédiment est homogénéisé et finalement examiné au microscope.
- ✓ Le prélèvement de l'échantillon ne doit pas remonter à plus de 2 heures. Dans le cas contraire, la sédimentation des cristaux d'acide urique, la lyse et le changement morphologique de cylindres et de cellules pourraient influencer l'analyse.

#### 3.9.1.1.5. DEPISTAGE DE DROGUES

Il n'est pas rare, lors du dépistage de drogues, qu'un toxicomane ou une personne sous expertise essaie de manipuler les échantillons d'urine pour obtenir des résultats faussement négatifs.

Ces tentatives de manipulation peuvent inclure une dilution de l'urine, une consommation excessive de boissons voire même la fourniture de l'urine d'une autre personne.

Elles peuvent dans une large mesure être empêchées, par exemple par un contrôle de l'identité, par une surveillance du prélèvement urinaire ainsi que par la détermination de la concentration de créatinine en tant que valeur de contrôle.

### 3.10. EXAMEN CYTOBACTÉRIOLOGIQUE DES URINES (ECBU) :

#### 3.10.1. Conditions

- En dehors de toute antibiothérapie ou après une fenêtre thérapeutique.
- De préférence recueillir les urines ayant séjournées au moins 4 heures dans la vessie (Rémic 5.1 édition 2015)
- Si le prélèvement est réalisé à l'extérieur acheminer le prélèvement au Laboratoire dans les 2 heures à température ambiante en précisant l'heure de prélèvement (Rémic 5.1 édition 2015)



### 3.10.1. Technique de recueil des urines

#### 3.10.1.1. Cas général habituel (recueil du milieu de jet) Chez l'adulte

- Le patient réalise le plus souvent le prélèvement lui-même après avoir été correctement informé. (C1-DOC-004 : Préconisations preanalytiques et conditions de prélèvement à respecter).
- Identifier le flacon en l'étiquetant (étiquette code à barre) ;
- Effectuer un lavage hygiénique des mains au savon.
- Verser l'antiseptique sur la compresse (les deux délivrés par le LIAB) et effectuer une toilette locale soigneuse de la région vulvaire chez la femme et du méat urinaire chez l'homme.
- Eliminer le premier jet urinaire dans les toilettes
- Puis ouvrir le flacon délivré par le Laboratoire puis recueillir le 2ème jet urinaire dans le flacon propre.
- Refermer immédiatement le pot afin d'éviter sa contamination,
- Remettre le prélèvement au préleveur

#### 3.10.1.2. Chez le patient sondé à demeure :

Chez ces patients, la collecte ne doit pas se faire au niveau du sac collecteur du fait de la pullulation bactérienne. Il ne faut pas non plus déconnecter le système de drainage.

Le prélèvement se fait par ponction à la seringue sur la tubulure en dessous de la pastille, après clampage du tuyau d'évacuation pendant au moins 10 min afin de laisser l'urine s'accumuler, et désinfection de la surface à l'alcool iodé.

Il est recommandé d'effectuer le prélèvement au moment du changement de la sonde.

#### 3.10.1.3. Chez le nourrisson et jeune enfant :

##### 3.10.1.3.1. Prélèvement d'urines en milieu de jet

Après désinfection soigneuse de la vulve et du pré-puce ou du gland.

Chez le nourrisson et le jeune enfant ayant des mictions volontaires, le mode opératoire est le même que pour l'adulte.

##### 3.10.1.3.2. Utilisation d'un collecteur d'urines chez les enfants de moins de 2 à 3 ans

- Désinfecter soigneusement la vulve, méat urinaire, périnée, gland ou prépuce ;
- Dans le cas où le nourrisson se trouve dans une certaine salubrité il y a lieu de le nettoyer dans le bac tout en le savonnant du bas du dos aux genoux et en le rinçant à grand jet d'eau. Puis l'essuyer avec du papier essuie tout puis avec la gaze stérilisée.
- Placer une poche à urine, **changer la poche tout en re-nettoyant toutes les 30 minutes jusqu'à émission des urines.**
- Dès que la miction est terminée, le collecteur est retiré et les urines sont transvasées soigneusement dans un flacon stérile. (Rémic 7.1 édition 2022)
- Identifier l'échantillon (Nom, prénom, code patient, date de naissance).
- Déposer le prélèvement par l'infirmière à l'unité de tri des prélèvements avec la fiche de paillasse tout en notant la méthode de prélèvement sur la fiche de paillasse.

#### 3.10.1.4. Recueil des urines chez le patient incontinente :

Il est préférable d'éviter au maximum le recueil d'urines par sondage urinaire aller/retour. Cette technique impose une désinfection soigneuse préalable de la zone uro-génitale et l'élimination des premières gouttes d'urine recueillies. Chez la femme, ce geste n'est acceptable que lorsque le recueil des urines lors d'une miction est impossible. Chez l'homme, il est préférable d'effectuer le recueil par un collecteur pénien, voire par un cathétérisme suspubien en cas de rétention d'urine, afin d'éviter le risque de prostatite lié au sondage.

#### 3.10.1.5. Recueil des urines par ponction sus pubienne

- A réaliser après une désinfection soigneuse des téguments, par ponction directement dans la vessie. - La vessie doit être pleine et repérable (la dernière miction doit remonter à 4-5 heures).
- Vérifier la présence d'un globe vésical par pression de la région sus-pubienne.
- Utiliser une aiguille type ponction lombaire ou intra-musculaire.
- Réaliser une toilette minutieuse de la zone sus-pubienne avec de l'eau et du savon.
- Rincer, puis réaliser l'antisepsie de la zone sus-pubienne avec une compresse stérile imbibée d'antiseptique.
- Eliminer l'excès d'antiseptique à l'aide d'une compresse stérile.
- Introduire l'aiguille au-dessus de la symphyse, dans le plan de la ligne blanche (l'aiguille dirigée vers le bas)

#### 3.10.1.6. Cas particuliers

Le recueil des urines du 1er jet est intéressant en cas de suspicion d'infection urétrale ou prostatique ou pour la recherche de des infections sexuellement transmissibles (mycoplasmes urogénitaux, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*.....etc.), mycobactéries, *Schistosoma*....etc.

#### 3.10.2. Conservation et transport

- Les urines doivent être acheminées rapidement au laboratoire et ne doivent jamais être conservées plus de 2 heures à T° ambiante.
- Des milieux de conservation contenant l'acide borique permettent la conservation des urines à T° ambiante pendant 48h.
- En l'absence de conservateur, les urines doivent être conservées à une T° comprise entre 2-8 °C pendant 24 heures. Au-delà de 12 heures, la bactériurie n'est pas modifiée mais les leucocytes peuvent s'altérer et se grouper en amas faussant les résultats de la leucocyturie.

#### 3.11. HLM ou Compte d'Addis :

- A une heure choisie H=T0 (généralement 3 heures avant le lever habituel), le patient vide sa vessie, et note sur le flacon fourni par le laboratoire l'heure (H=T0).
- Le patient doit boire 250 ml d'eau (un grand verre d'eau), il se recouche, reste pendant 3 heures au repos total et à jeun.
- Pendant ces 3 heures les urines sont recueillies dans le flacon,
- A H+3h, le patient urine une dernière fois dans le récipient pour recueillir ses dernières urines et note sur le flacon l'heure de fin de recueil.

**NB : Chez les femmes :**

- ✓ La vulve doit être nettoyée avant chaque miction, pour éviter toute contamination vaginale.
- ✓ Le recueil de l'échantillon doit être effectué loin de la période des menstruations.

#### 3.12. PRÉLÈVEMENT VAGINAL :

##### 3.12.1. Conditions

- ✓ Ne pas être en période de règles au moment de l'examen.

- ✓ Ne pas faire de toilette intime le jour de l'examen.
- ✓ Ne pas avoir de rapports sexuels la veille et le jour de l'examen.
- ✓ En dehors de tout traitement : ovules, crème, antibiotiques, antifongiques etc.), dans le cas contraire faire une fenêtre thérapeutique > 15j.

### 3.12.2. Technique

- Mettre en confiance la patiente et lui expliquer ce geste.
- Identifier deux écouvillons
- Etaler un carré de drap d'examen sur la table gynécologique,
- Installer la patiente en position gynécologique,
- Eclairer avec la lampe d'examen,
- Porter les gants stériles,
- Placer un spéculum stérile dans le vagin de sorte que le col de l'utérus soit visible,
- Après pose du speculum, le prélèvement vaginal est réalisé sur les lésions (s'il y en a) ou au niveau des leucorrhées anormales. En l'absence de lésion, il faut recueillir les sécrétions sur l'écouvillon en balayant l'ensemble de la cavité vaginale.
- Retirer le spéculum,
- Renseigner la partie « Examen macroscopique » de la feuille de paillasse : Noter l'identité de l'opérateur, la date et l'heure de prélèvement ainsi que toute autre information utile,
- Après avoir libéré la patiente, jeter le drap d'examen utilisé dans la poubelle des objets non contaminés
- Acheminer échantillon et la feuille de paillasse vers la salle de tri des prélèvements.
- Une alternative possible à la mise en place du spéculum est l'auto-prélèvement vaginal, qui est réalisée par la patiente à son domicile ou au laboratoire. Il peut être utilisé pour le dépistage de la vaginose bactérienne, streptocoque du groupe B ou la recherche de *Chlamidia trachomatis* par biologie moléculaire

### NB : Prélèvement spécifiques chez la femme enceinte

- ✓ En cas d'antécédent ou de menace d'accouchement prématuré, il faut réaliser un frottis vaginal à l'écouvillon (sans pose de speculum) en début de grossesse pour rechercher une vaginose.
- ✓ En cas de recherche de portage de *streptococcus agalactiae*, le prélèvement est réalisé par écouvillonnage (sans pose de speculum) au niveau du tiers inférieur du vagin entre la 34<sup>ème</sup> et la 35<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée

### 3.12.3. Transport

Les prélèvements doivent être transportés rapidement au laboratoire dans les 2 heures.

**NB : Pour la recherche de chlamydiae et/ ou de mycoplasmes, il faut décharger l'écouvillon prévu à cet effet dans un milieu de transport.**

## 3.13. PRÉLÈVEMENT VULVAIRE :

Il est effectué chez les jeunes filles et les enfants. **Le spéculum n'est pas utilisé.**

### 3.13.1. Conditions

Ne pas nettoyer la zone vulvaire le jour de l'examen, et effectuer le prélèvement en dehors de la période de menstruation chez la jeune fille.

### 3.13.2. Technique

- Couvrir la table gynécologique avec un drap d'examen,
- Installer la patiente en position gynécologique,
- Ecarter les grandes lèvres,
- Poser le bout de l'écouvillon stérile sur la vulve, faire quelques rotations afin de prélever les sécrétions,
- S'il y a des lésions inflammatoires, frotter dessus avec un autre écouvillon stérile,
- Identifier les écouvillons
- Renseigner la feuille de paillasse puis l'envoyer au laboratoire avec les échantillons.

### 3.13.3. Transport

Les prélèvements doivent être transportés rapidement au laboratoire dans les 2 heures.

### **3.14. PRÉLÈVEMENT POUR FROTTIS CERVICO VAGINAL :**

#### **3.14.1. Conditions**

Effectuer le prélèvement en dehors de la période de menstruation

#### **3.14.2. Protocole de prélèvement (pour frottis en couche mince) :**

**Cette technique permet d'effectuer des frottis monocouches :**

- Etaler un carré de drap d'examen sur la table gynécologique,
- Installer la patiente en position gynécologique,
- Eclairer avec la lampe d'examen,
- Porter les gants,
- Placer un spéculum stérile dans le vagin de sorte que le col de l'utérus soit visible,
- Recueillir un échantillon cellulaire du col de l'utérus en introduisant la partie centrale de la brosse dans le canal endocervical, afin que les poils latéraux entrent en contact avec l'exocol ; tourner la brosse (2- 5 tours),
- Décharger la brosse dans le flacon contenant la solution de conservation,
- Visser le bouchon à fond,
- Retirer le spéculum,
- Identifier le flacon avec l'étiquette code à barre, de la patiente
- Déposer le tout à l'unité de tri des prélèvements.

### **3.15. TEST DE HUHNER OU TEST POST COÏTAL :**

#### **3.15.1. Conditions :**

- Être au milieu du cycle menstruel (12ème ou 13ème jour du cycle).
- Abstinence des 2 conjoints de 3 à 5 jours.
- Le jour du test, après le rapport sexuel la patiente doit rester allonger pendant 30 min puis se rendre au laboratoire dans le délai indiqué par le prescripteur (à défaut d'indication 6h à 12h après le rapport).

**3.15.2.** La patiente ne doit ni uriner ni effectuer de toilette intime avant le recueil de la glaire.

#### **3.15.3. Technique de prélèvement :**

- Installer la patiente en position gynécologique
- Placer un spéculum stérile dans le vagin de façon à bien mettre le col en évidence
- Noter le degré d'ouverture du col : punctiforme, ouvert ou béant ;
- Noter l'abondance de la glaire : minime, en gouttes ou en cascade ;
- Aspiration de la glaire endocervicale à l'aide d'une pipette stérile
- Acheminement immédiat du prélèvement.

### **3.16. PRÉLÈVEMENT URÉTRAL :**

#### **3.16.1. Conditions :**

- Ce prélèvement est effectué en dehors de toute antibiothérapie
- Doit être réalisé le matin avant toute toilette ou au moins 2 heures après la dernière miction.
- Il est préférable d'effectuer le prélèvement au laboratoire.

#### **3.16.2. Technique :**

- Nettoyage du méat avec une solution antiseptique.
  - En présence d'un écoulement « fin », récupérer la goutte matinale avec un écouvillon, puis exercer une pression sur le pénis en partant de la partie proximale vers la partie distale ; le pus ainsi extrait sera recueilli avec un deuxième écouvillon fin.
  - En absence d'écoulement franc introduire deux écouvillons fins, et recueillir la majorité des cellules.
- Avec l'un des écouvillons effectuer un frottis sur une lame porte objet.
- Acheminer le tout vers l'unité de tri des examens en mentionnant l'urgence de l'examen.

#### **3.16.3. Transport**

Les prélèvements doivent être transportés rapidement au laboratoire dans les 2 heures.

### 3.17. PRÉLÈVEMENT DE SPERME :

#### 3.17.1. **Spermoculture :**

##### 3.17.1.1. **Conditions :**

De préférence en absence de toute antibiothérapie.

Abstinence de 2 à 8 jours.

##### 3.17.1.2. **Technique :**

- Se nettoyer rigoureusement les mains et le gland avec un antiseptique, ensuite avec de l'eau stérile.
- Recueillir mécaniquement par masturbation le sperme dans le réceptacle stérile fourni
- Identifier le flacon.

**NB :** Dans le cas où le prélèvement est effectué en dehors du laboratoire, il doit être acheminé dans les 2 heures maximum à T° ambiante

#### 3.17.2. **Spermogramme et Spermocytogramme :**

##### 3.17.2.1. **Conditions :**

- Prendre un rendez-vous au laboratoire.
- Après **une abstinence sexuelle de trois à cinq jours.**
- Le prélèvement doit se faire de préférence au laboratoire ; dans le cas contraire l'acheminer dans les 30 min.
- Abstinence de 2 à 8 jours.

##### 3.17.2.2. **Technique**

- Se nettoyer rigoureusement les mains et le gland avec un antiseptique, ensuite avec de l'eau stérile.
- Recueillir mécaniquement par masturbation la totalité du sperme dans un flacon stérile.
- Si le prélèvement est effectué en dehors du laboratoire, le porter au laboratoire en maintenant le flacon contre le corps (à l'intérieur d'une veste par exemple), le plus rapidement possible.

### 3.18. **ULCÉRATIONS GÉNITALES :**

#### 3.18.1. **La recherche de cette étiologie devra être orientée par la clinique :**

- Le chancre syphilitique est caractérisé par un diamètre de 5 à 20 mm, une base indurée et des contours nets. Il est souvent unique et totalement indolore.
- Le chancre mou dû à *Haemophilus ducreyi* a une base souple œdémateuse et des contours irréguliers. Dans un tiers des cas, les ulcérations sont multiples, consécutives à une auto-inoculation. Ces ulcérations sont douloureuses.
- Les ulcérations d'origine herpétique sont également douloureuses et multiples mais de taille plus petite et faisant suite à des vésicules.

#### 3.18.2. **Technique :**

- Imbiber la compresse de sérum physiologique stérile.
- Nettoyer l'ulcération.
- A l'aide d'un vaccinostyle stérile faire sourdre la sérosité du chancre sans faire saigner.
- Prélever à l'aide d'un écouvillon et déposer à l'unité de tri des prélèvements.

**NB :** Très souvent, une sérologie syphilitique y est associée pour le diagnostic différentiel.

### 3.19. **PUS ET LIQUIDES D'ÉPANCHEMENTS :**

#### 3.19.1. **Démarches générales**

Il existe une grande diversité de germes isolés dans les pus, liée à la grande diversité des sites et de la nature des produits pathologiques. Les prélèvements peuvent être séparés en trois classes :

**Classe 1 :** ceux provenant de zones profondes fermées normalement stériles (liquide pleural, liquide articulaire, péricardique, synoviale abcès du cerveau...etc.). Leurs prélèvements sont obtenus au cours d'un acte chirurgical, à l'aide d'une aiguille montée d'une seringue. En cas d'infection, ils sont normalement monomicrobiens.

Une odeur fétide et une couleur « chocolat » doivent inciter à une recherche de germes anaérobies et l'utilisation de milieu de transport adéquat.

**Classe 2 :** ceux provenant de zones profondes communiquant avec des surfaces possédant une flore commensale (abcès fistulisés)

- Désinfecter l'orifice extérieur avec une solution bactéricide.

- A l'aide d'une seringue montée d'une aiguille, essayer de prélever le plus profondément possible. On peut également utiliser un cathéter. La quantité de liquide prélevée doit être suffisante pour permettre la recherche de germes anaérobies.

**Classe 3 :** collections suppurées provenant de zones superficielles possédant leur propre flore commensale (escarres, brûlures).

- Enlever les débris cellulaires et tissulaires par lavage avec de l'eau physiologique.
- Plusieurs techniques sont alors possibles :
  - aspiration à la pipette stérile.
  - biopsie cutanée.
  - **Prélèvement à la seringue.**
  - écouvillon (technique à éviter car non précise).

**NB :** dans chacun de ces cas, **les renseignements cliniques sont indispensables** pour orienter la recherche bactériologique et différencier les contaminants des germes infectieux. En cas de traitement antibiotique, la ou les molécules utilisées doivent être indiquées. Les prélèvements doivent être rapidement acheminés au laboratoire.

### 3.19.2. Pus d'oreille :

- Le prélèvement se fait par écouvillonnage dans les cas d'otites externes
- En cas d'otites moyennes, le prélèvement est réalisé par le spécialiste (ORL)

### 3.19.3. Pus ophtalmique :

A l'aide d'un écouvillon le prélèvement se fait au niveau de l'angle interne, dans le cul-de-sac lacrymal.

## 3.20. LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN :

C'est un acte médical, le prélèvement est effectué par le médecin et envoyé au laboratoire avec les renseignements cliniques essentiels :

- Nom du patient
- Date de naissance
- Date et heure du prélèvement
- Diagnostic clinique ou symptomatologies à l'origine du prélèvement
- Existence d'une éventuelle antibiothérapie (préciser la nature de l'antibiotique utilisé)
- Dès réception du LCR identifier correctement le tube avant d'être envoyé au laboratoire.

**NB : Le LCR est une urgence technique, donc faire acheminer le plus rapidement possible au LIAB ou bien conserver à 37 °C en attendant l'acheminement.**

## 3.21. PRÉLÈVEMENT DE GORGE :

### 3.21.1. Conditions :

De préférence en dehors d'antibiothérapie qu'elle soit locale ou générale.

### 3.21.2. Technique :

Sous un bon éclairage :

- Le patient doit ouvrir la bouche la langue tirée,
- Dégager la cavité buccale à l'aide d'une abaisse langue,
- L'émission du « AAAHH » diminue des réflexes nauséux,
- A l'aide d'un écouvillon, bien racler les amygdales des 2 cotés, la muqueuse pharyngée ou toute zone présentant une inflammation en évitant de toucher la langue, la muqueuse jugale et les zones réflexogènes,
- Il est recommandé d'utiliser au moins 2 écouvillons l'un va servir l'étalement et l'autre pour la culture
- Si possible réaliser un frottis sur lame au moment du prélèvement (recherche d'association fusospirillaire dans l'angine de Vincent),
- Pour la recherche de bacille diphtérique, soulever la fausse membrane et écouvillonner sous celle-ci,
- Noter l'aspect des amygdales.



### 3.22. EXPECTORATIONS :

Le prélèvement d'expectoration consiste à collecter l'exsudat purulent produit par l'arbre bronchique lors d'un effort de toux tout en diminuant le plus possible l'influence de la flore oro-pharyngée.

Le patient doit être informé de la finalité de l'examen pour l'inciter à produire des mucosités et non la salive.

Pour cela, les crachats doivent être recueillis :

- Le matin au réveil : ce qui permet de récupérer les mucosités accumulées au cours de la nuit dans un pot stérile.
  - Après un rinçage de la bouche avec de l'eau pure de façon à éliminer une partie de la flore oro-pharyngée avant le prélèvement.
  - Dans un effort de toux profond, produire les mucosités dans le flacon tout en évitant la salive.
  - Le prélèvement doit être acheminé le plus rapidement possible au laboratoire ou conservé au réfrigérateur pour éviter la prolifération des germes commensaux au niveau du flacon.
- Après rinçage de la bouche avec un antiseptique (bain de bouche)

### 3.23. Prélèvements pour recherche des mycobactéries

#### 3.23.1. Prélèvement pour la recherche directe et culture

Le prélèvement doit être réalisé avant tout traitement antibiotique.

La recherche des mycobactéries est réalisable sur :

- Les sécrétions bronchiques (expectorations, aspiration bronchique, liquide broncho-alvéolaire) (minimum 5mL)
- Les liquides biologiques (gastriques, pleuraux, d'ascites, articulaires et céphalorachidiens) (minimum 2mL)
- Urines 1er jet matinal (50-100mL)
- Selles (minimum 20g)
- Biopsies. (Ne pas ajouter de liquide de conservation)
- Moelles osseuses

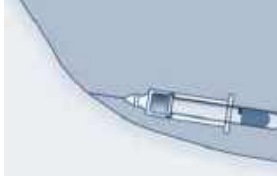
**NB : Les prélèvements doivent être acheminés en triple emballage étanche. Transporter à température ambiante le jour même, si > 24h, transporter à 2-8°C.**

#### 3.23.2. Prélèvements pour la recherche de la Production d'interféron Gamma-Quantiféron :



- 4 tubes spécifiques au test à demander 3 jours avant la prise de sang par fax ou par mail au Laboratoire.
- Mitogène = bouchon violet, Témoin négatif = bouchon gris, TB 1 antigène bouchon vert, TB2 antigène bouchon jaune.





### Etape 1

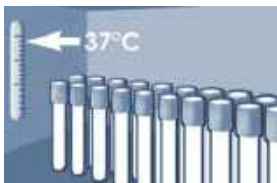
- Prélever le sang par ponction veineuse.
- Remplir les 4 tubes jusqu'à la marque noire.
- Noter que le vide est prévu pour un prélèvement de 1 mL et que le tube se remplit lentement.

**NB : En cas d'utilisation d'un épi crânienne, purger préalablement la tubulure avec un tube sec.**



### Etape 2

- Le délai entre le prélèvement et le traitement doit être le plus court possible, il ne doit pas excéder 16 heures.
- Agiter doucement les tubes 4 à 5 fois.



### Etape 3

- Immédiatement après l'agitation, incuber les tubes verticalement à 37°C pendant 16h à 24 heures (non-conforme au-delà).

### Etape 4

- Après l'incubation, centrifuger les tubes pendant 15 mn.
- Un gel séparateur isolera le plasma des globules rouges.
- Ne pas ouvrir ou décanter les tubes.

### Etape 5

- Conserver et envoyer les tubes à +4°C.
- (Stabilité 4 semaines à +4°C).

**ne seront pas acceptés.**

**NB : le prélèvement peut être effectué sur 2 tubes héparinés de 5 ml et envoyé rapidement au laboratoire, le transfert vers les tubes spéciaux sera être effectué par le technicien au Laboratoire.**

## **3.24. PRÉLÈVEMENTS DE PEAUX ET DES PHANÈRES :**

### **3.24.1. Conditions générales**

- Le prélèvement doit être effectué au laboratoire, avant tout traitement spécifique qu'il soit local ou général. En cas de traitement, il est important d'arrêter le traitement pendant 2 semaines.
- Pas de vernis sur les ongles
- Se laver les cheveux 3 jours avant le prélèvement ;
- L'interrogatoire du patient est obligatoire : fiche de paillasse à remplir (partie renseignement clinique) en précisant les renseignements cliniques suivants :
  - Mode de vie : habitat, profession, loisir, animaux de compagnie
  - Facteurs favorisants : antécédents pathologiques (diabète, immunodépression,...), traitements médicamenteux
  - La description des lésions

#### **3.24.2. Prélèvement des lésions cutanées :**

- Identifier la zone lésée.
- A l'aide d'une curette, d'un vaccinostyle ou d'une lame de bistouri, gratter la peau,
- Prélever les squames cutanées en périphérie de la lésion,
- Les déposer dans une petite boîte de pétri stérile.
- En cas de lésion suppurée, recueillir la suppuration à l'aide d'un écouvillon stérile.
- Acheminer le prélèvement vers l'unité de tri des prélèvements après identification

#### **3.24.3. Prélèvement de squames à la recherche de pityriasis versicolor : « Scotch test cutané »**

- Il est réalisé en dehors de tout traitement (8 jours de fenêtre thérapeutique).
- Prendre un ruban adhésif transparent.
- Appliquer la partie centrale de la face collante directement sur une ou plusieurs lésions.
- Etaler le bout du ruban adhésif utilisé sur une lame, le coté collant en contact direct avec le verre
- Appliquer plusieurs rubans adhésifs sur des lésions d'aspect différent, afin d'augmenter la probabilité d'observer le champignon

#### **3.24.4. Prélèvement des follicules et Sycosis :**

- Les poils et les duvets seront prélevés à la pince à épiler.
- Appliquer un écouvillon stérile en cas de lésions suintantes.

#### **3.24.5. Prélèvement des Teignes du cuir chevelu :**

- Identifier la zone lésée.
- Examiner le cuir chevelu sous la lampe de Wood à la recherche de fluorescence verte.
- A l'aide d'un vaccinostyle ou d'un bistouri, gratter la peau : prélèvement en périphérie.
- A l'aide d'une curette et d'une pince à épiler prélever les squames, les cheveux cassés et les croûtes en zone proximale (à la limite de la peau saine et de la peau malade).
- Sur les plaques d'alopecie, un écouvillon humidifié sera appliqué en cas de lésions suppurées.
- Identifier et acheminer le prélèvement à l'unité de tri et dispatching des prélèvements.

#### **3.24.6. Prélèvement d'ongle (Onyxis) :**

- Couper et éliminer la périphérie de l'ongle à la pince ou au coupe ongle.
- A l'aide d'une pince, d'une curette ou d'un vaccinostyle, prélever la zone unguéale pathologique à la lisière de la partie saine et de la partie malade (où le Dermatophyte est le plus actif).
- Racler le lit de l'ongle, déposer l'ensemble dans une boîte de pétri stérile.
- Identifier et acheminer vers l'unité de tri des prélèvements.

#### **3.24.7. Prélèvement des Intertrigos :**

- Gratter à la curette la périphérie des lésions.
- En cas de lésions suppurées, écouvillonner les bords de la lésion avec un écouvillon stérile.
- Identifier et acheminer le prélèvement vers l'unité de tri et dispatching des prélèvements.

### **3.25. COPROCULTURE :**

- Recueillir des selles fraîches dans un flacon correctement étiqueté remis par le laboratoire et les transmettre rapidement au laboratoire.
- Le prélèvement est réalisé dans les premiers jours de la maladie, et si c'est possible, avant le début de l'antibiothérapie.
- Indiquer : notions de voyages, vie en crèche pour les enfants, les renseignements cliniques (troubles digestifs,...) etc.
- Acheminer rapidement le flacon de selles au laboratoire dans un délai inférieur à 2 h à 15-25°C ou si l'analyse est différée la durée maximale est de 12 heures à une température de 2 à 8°C (réfrigérateur)

### **3.26. PARASITOLOGIE DES SELLES :**

- Selles fraîches : transmises rapidement à cause de la fragilité des formes végétatives.
- **Précautions particulières :**

- Flacon à récupérer au préalable au laboratoire étiqueté avec votre nom, prénom et numéro du dossier
- En dehors de tout traitement antiparasitaire,
- L'examen parasitologique des selles doit se pratiquer 3 à 4 jours après l'arrêt de certaines substances médicamenteuses pouvant gêner son interprétation (huile de paraffine, charbon, laxatifs, pansements intestinaux, baryte)
- Recueillir les selles dans le flacon stérile fourni par le laboratoire,
- Noter la date et l'heure du prélèvement
- Indiquer : notions de voyages anciens ou récents dans des zones d'endémie, les renseignements (troubles digestifs,...)
- Apporter rapidement le flacon de selles au laboratoire dans un délai inférieur à 2 h à 15°-25°C, ne pas conserver les selles à 2-8°C

### **3.27. SCOTCH TEST ANAL :**

- ✓ Le prélèvement doit être effectué le matin avant la toilette.
- ✓ Manipuler avec des gants.
- ✓ Ecarter les fesses du patient et placer le scotch sur la marge anale.
- ✓ Retirer le scotch à l'aide d'une pince.
- ✓ Coller le scotch sur une lame porte objet.

### **3.28. RECHERCHE D'ŒUFS DE BILHARZIOSE**

Réaliser un effort physique ou un massage sus-pubien (pour décrocher les œufs de la paroi vésicale) puis recueillir les urines de la 1ère miction du matin, ou recueillir les urines de 24h

### **3.29. RECHERCHE DE PALUDISME :**

- ✓ En cas de suspicion de paludisme, sans attendre le pic fébrile, un à deux tubes de sang périphérique sur un anticoagulant (EDTA) doivent être prélevés.
- ✓ Il est préférable d'effectuer le prélèvement au moment du pic thermique et de renouveler l'examen 24 à 48 heures après un examen négatif si la fièvre persiste.
- ✓ Il faut noter les renseignements cliniques utiles : notion de séjour dans la zone d'endémie (Toute fièvre venant de zone d'endémie est un paludisme jusqu'à l'épreuve du contraire), prise de prophylaxie, moyens de protection, signes cliniques (fièvre) signes biologiques d'orientations (thrombopénie, anémie hémolytique,)
- ✓ Noter aussi, les Complications dans l'accès palustre grave : signes neurologiques (troubles de conscience et convulsions, Anémie profonde, insuffisance rénale, détresse respiratoire, défaillance multiviscérale, ictère, hémoglobinurie macroscopique
- ✓ Les prélèvements doivent être acheminés rapidement au laboratoire afin de pouvoir rendre un résultat dans les trois heures suivant le prélèvement.

### **3.30. PRÉLÈVEMENTS POUR LES EXAMENS ELECTROPHORÉTIQUES**

#### **3.31. ELECTROPHORÈSE SÉRIQUE**

- Type de prélèvement : Sérum à partir de sang prélevé sur tube sec ou SST fraîchement prélevé.
- Eviter les sérums hémolysés. L'hémolyse peut produire une bande anormale dans la zone alpha 2 (dédoublment des pic alpha 2).
- Eviter les échantillons de plasma. Le Fibrinogène apparaît comme une bande qui peut être interprétée à tort comme une bande monoclonale au niveau des gammaglobulines.

#### **3.32. ELECTROPHORÈSE DES URINES**

- Type de prélèvement : échantillon d'urines de 20 ml à partir des urines de 24H fraîchement récoltées.
- Préciser la diurèse.

#### **3.33. IMMUNOELECTROPHORÈSE SÉRIQUE**

- Type de prélèvement : Sérum à partir de sang prélevé sur tube sec ou SST fraîchement prélevé.

- Eviter les sérums hémolysés. **L'hémolyse** peut produire une bande anormale dans la zone alpha 2.
- Eviter les échantillons de plasma. **Le Fibrinogène** apparaît comme une bande étroite dans la zone bêta qui peut être interprété à tort comme une bande monoclonale.

### 3.34. IMMUNOÉLECTROPHORÈSE DES URINES ET RECHERCHE DES PROTEINES DE BENCE JONES :

- Type de prélèvement : échantillon d'urines de 20 ml à partir des urines de 24H fraîchement récoltées.
- Préciser la diurèse.

### 3.35. CRYOPRÉCIPITÉ ET SON IDENTIFICATION PAR IMMUNOFIXATION

Les Cryoglobulines sont des immunoglobulines sériques précipitant au froid de façon réversible.

- Sérum prélevé au laboratoire sur tube sec sans séparateur préchauffé à 37°C chez un sujet à jeun (12 heures).
- Le tube doit être immédiatement acheminé à l'étuve enveloppé avec coton cardé.
- Garder le tube enveloppé avec coton cardé à l'étuve à 37°C pendant 2 heures
- Mettre le tube enveloppé avec coton cardé dans un thermos et mettre à nouveau à l'étuve 37°C jusqu'à sa remise au coursier transporteur qui le mettra dans l'enceinte à T° ambiante 25°.
- SI au bout de 7 jours l'échantillon est positif, une IEP sera réalisée sur le cryoprécipité pour son typage immunologique.

### 3.36. ISOFOCALISATION

**Types de prélèvement :**

- Sérum à partir de sang prélevé sur tube sec ou SST.
- LCR fraîchement prélevé.
- Le sérum et le LCR peuvent être conservés pendant une semaine entre 2-8 C° et congelés à -20 C° pour une période d'un mois.

### 3.37. ELECTROPHORÈSE DE L'HÉMOGLOBINE ALCALINE OU ACIDE

**Type de prélèvement :**

- Sang total sur tube EDTA
- Le prélèvement peut être conservé pendant une semaine entre 2-8 C°.
- Eviter les prélèvements hémolysés.

### 3.38. PRÉLÈVEMENT POUR LES EXAMENS EN BIOLOGIE MOLÉCULAIRE :

#### 3.38.1. CONDITIONS GENERALES

- Les tubes en verre sont à proscrire ;
- Décanter les échantillons de sérum et plasma ;
- Veiller à envoyer les quantités suffisantes pour doser l'ensemble des paramètres demandés.
- Refermer correctement les flacons.

#### 3.38.2. Modalités des prélèvements pour les examens en biologie moléculaire pour recherche des bactéries

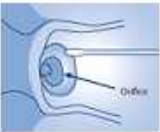



<p><b>CT/NG</b></p> <p><b>(Chlamydia trachomatis Et Neisseria gonorrhoeae)</b></p>	<p><b>Recherche de Chlamydia trachomatis et de Neisseria gonorrhoeae par PCR en temps réel :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Urines premier jet :</li> <li>• Récupérer les urines matinales « premier jet » (10 à 50 mL) dans un récipient stérile en polypropylène sans agent de conservation.</li> </ul> <p><b>!!! D'après les recommandations internationales, seule la biologie moléculaire avec amplification génique (PCR), qui constitue la méthode de référence et qui est capable de signer une infection transmissible</b></p>
--	---

<b>NEISSERIA GONORRHOEAE</b>	<b>Recherche de Neisseria gonorrhoeae par PCR en temps réel</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Récupérer les urines matinales « premier jet » (10 à 50 mL) dans un récipient stérile en polypropylène sans agent de conservation.</li> </ul>
<b>HELICOBACTER PYLORI :</b> Résistance à la clarithromycine et aux fluoroquinolones	<b>Résistance à la clarithromycine et aux fluoroquinolones par PCR / Hybridation inverse</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Biopsie réfrigérée avec milieu de transport gélosé</li> <li>• Joindre la fiche de renseignements cliniques et thérapeutiques actualisés</li> </ul>
<b>MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS :</b>	<b>Détection Qualitative du complexe tuberculosis par PCR en temps réel</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Prélèvements pulmonaires, tissulaires, liquide de ponction : Urines (30 mL), LCR (1 mL), biopsies réfrigérées</li> <li>• Joindre la fiche de renseignements cliniques</li> </ul>
	<b>Résistance à la rifampicine et l'isoniazide par PCR / Hybridation inverse</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Prélèvements pulmonaires, tissulaires, liquide de ponction : Urines (30 mL), LCR (1 mL), biopsies réfrigérées</li> <li>• Joindre la fiche de renseignements cliniques et thérapeutiques actualisés</li> </ul>

3.38.3. Modalités des prélèvements pour les examens en biologie moléculaire pour la recherche des virus	
<b>CYTOMÉGALOVIRUS</b>	<b>Recherche quantitative du Cytomégalo virus par PCR en temps réel</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>5 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA.</li> </ul>
<b>EPSTEIN BARR VIRUS</b>	<b>Recherche quantitative de l'Epstein Barr Virus par PCR en temps réel</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>5mL (minimum) sang total EDTA, 0.5ml LCR (minimum)</li> </ul>
<b>HÉPATITE VIRALE B</b>	<b>Charge Virale du Virus de l'hépatite B par PCR en temps réel - HBVDNA</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>2 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA</li> </ul>
	<b>Génotypage du virus de l'hépatite B de A à H par PCR / Hybridation inverse- (HBVG)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>2 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA</li> </ul>
<b>HEPATITE VIRALE C</b>	<b>Charge Virale du Virus de l'hépatite C par PCR en temps réel - HCVRNA</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>2 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA</li> </ul>
	<b>Génotypage du virus de l'hépatite C de 1 à 7 par PCR / Hybridation inverse- (HCVG)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>2 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA</li> </ul>
	<b>Interleukine IL28 B – Polymorphisme C/T RS 12979860 – Génotypage par PCR / Hybridation inverse</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>2 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA</li> </ul>
<b>HEPATITE VIRALE E</b>	<b>Diagnostic direct moléculaire du Virus de l'hépatite E par PCR en temps réel</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>2 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA</li> </ul>
<b>HUMAIN HSV-1 ET/OU HSV-2</b>	<b>Recherche Qualitative des virus simplex 1 &amp; 2 par PCR en temps réel</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Liquide Céphalo-rachidien (LCR) : 1 tube Sec spécifique pour cette analyse de 1 mL</li> <li>Prélèvements vésiculaires avec milieu de transport: <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Endocol</b> : Eliminer l'excès de glaire cervicale puis introduire un écouvillon type Bactopick® ou une cytobrosse et l'enfoncer de 1 à 2 cm dans le col, le tourner pendant quelques secondes pour récolter le maximum de cellules puis retirer sans toucher les parois vaginales.</li> <li><b>Urètre</b> : Introduire un écouvillon fin et l'enfoncer de 1 à 2 cm, le tourner quelques secondes puis le retirer.</li> <li><b>Œil</b> : Retourner la paupière et frotter le cul de sac conjonctival à l'aide d'un écouvillon fin.</li> <li><b>Lésions cutanées</b> : A l'aide d'un écouvillon, effondrer la lésion et en frotter le plancher de façon à récolter le maximum de cellules, tout en évitant de faire saigner.</li> </ul> </li> </ul> <p>Mettre l'écouvillon chargé dans le tube de milieu de transport. Couper la tige et laisser l'écouvillon dans le liquide. Reboucher soigneusement. Placer rapidement au réfrigérateur.</p>



## Modalités des prélèvements pour les examens en biologie moléculaire pour la recherche des virus (Suite)

<p><b>PAPILLOMAVIRUS HUMAIN (HPV)</b></p>	<p><b>Détection des types HPV à haut risque: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 66 &amp; 68</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Les prélèvements cervicaux à l'aide de cytobrosse avec milieu de transport (fourni sur demande) entre 2 et 8°C dans les 48 heures suivant son prélèvement</li> </ul> <div data-bbox="582 353 742 483">  <p><b>Préparation</b></p> <p>Retirer l'excès de mucus se trouvant dans l'orifice cervical et autour de l'exocol à l'aide d'un coton-tige ou d'un écouvillon Dacron®. Jeter l'écouvillon.</p> </div> <div data-bbox="582 517 742 649">  <p><b>Étape 1</b></p> <p>Insérer la brosse à environ 1 à 1,5 cm dans l'orifice cervical jusqu'à ce que les poils externes les plus larges de la brosse entrent en contact avec l'exocol. La faire tourner complètement trois fois dans le sens inverse des aiguilles d'une montre. Ne pas insérer la brosse entièrement dans le canal cervical. Retirer la brosse du canal. Éviter le contact des poils avec l'extérieur du tube ou avec tout autre objet. (Non illustré.) Les brosses pour prélèvement avec leur milieu de transport peuvent être fournies par le LIAB à la demande.</p> </div> <div data-bbox="582 775 742 907">  <p><b>Étape 2</b></p> <p>Insérer l'extrémité de la brosse jusqu'au fond du tube de transport. Casser la tige au niveau de la pliure en laissant l'extrémité de la brosse à l'intérieur du tube.</p> </div> <div data-bbox="582 949 742 1081">  <p><b>Étape 3</b></p> <p>Reboucher fermement le tube. Le bouchon émet un cliquetement lorsqu'il est en place. Pour connaître les consignes de stockage et d'expédition, se reporter à la notice.</p> </div>
<p><b>PARVOVIRUS B19</b></p>	<p><b>Recherche Qualitative du Parvovirus B19 par PCR en temps réel</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>5mL (minimum) sang total EDTA</li> </ul>
<p><b>POLYOMAVIRUS BK VIRUS</b></p>	<p><b>Recherche Qualitative du Polyomavirus BK virus par PCR en temps réel</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>5mL (minimum) sang total EDTA, 0.5ml LCR (minimum)</li> </ul>
<p><b>RUBÉOLE</b></p>	<p><b>Détection Qualitative de l'ARN du virus de la Rubéole par PCR -</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>5 mL Liquide amniotique congelé</li> <li>Joindre impérativement les renseignements cliniques.</li> </ul>
<p><b>VIH</b></p>	<p><b>Charge Virale du Virus d'Immunodéficience Humaine par PCR en temps réel</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA.</li> </ul>
<p><b>VARICELLE – ZONA VIRUS</b></p>	<p><b>Recherche Qualitative du Varicelle – Zona Virus par PCR</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>5mL sang total EDTA,</li> <li>0.5ml LCR (minimum) Réfrigéré</li> <li>5ml LCR (minimum) Liquide amniotique ou LBA Réfrigéré</li> <li>500µL (minimum) Prélèvement cutanéomuqueux, oculaire, sécrétions bronchiques, LBA</li> </ul>
<p><b>3.38.4. Oncologie moléculaire</b></p>	
<p><b>BCR-ABL</b></p>	<p><b>Détection Quantitative des transcrits BCR-ABL – Translocation t(9,22) par PCR – Variant p210</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA</li> <li>Joindre impérativement les résultats de la dernière numération formule complète (NFS*/plaquettes), les précédents résultats de quantification si le suivi n'est pas réalisé au Laboratoire Kawassim et les renseignements cliniques et thérapeutiques actualisés.</li> </ul>
<p><b>CALR</b></p>	<p><b>Détection des mutations dans l'exon 9 du gène CALRETICULINE par PCR</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA</li> <li>Joindre impérativement les résultats de la dernière numération formule</li> </ul>



	complète (NFS*/plaquettes)
<b>JAK2</b>	<b>Détection et quantification de la mutation V617F du gène JAK2 (exon 14) par PCR</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 tubes spécifiques pour cette analyse de 5mL sang total EDTA</li> <li>• Joindre impérativement les résultats de la dernière numération formule complète (NFS*/plaquettes)</li> </ul>

<b>3.38.5. Facteurs génétiques de risque de la Thrombophilie</b>	
<b>FACTEUR V LEIDEN</b>	<b>Détection de la MUTATION P.ARG506GLN du Facteur V Leiden par PCR</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2X5 mL sang total EDTA, réfrigéré</li> <li>• Joindre impérativement les renseignements cliniques.</li> </ul>
<b>FACTEUR II MUTATION</b>	<b>Détection de la MUTATION G.20210G&gt;A du Facteur II- Prothrombine par PCR</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2X5 mL sang total EDTA, réfrigéré</li> <li>• Joindre impérativement les renseignements cliniques.</li> </ul>
<b>FACTEUR V LEIDEN ET FACTEUR II MUTATION</b>	<b>Détection conjointe de la MUTATION P.ARG506GLN du Facteur V Leiden et Détection de la MUTATION G.20210G&gt;A du Facteur II- Prothrombine par PCR</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2X5 mL sang total EDTA, réfrigéré</li> </ul> Joindre impérativement les renseignements cliniques.
<b>MTHFR METHYLENE TETRAHYDROFOLATE REDUCTASE</b>	<b>Détermination du polymorphisme du gène méthylène tétrahydrofolate réductase MTHFR 677C&gt;T et 1298A&gt;C par PCR multiplex combinée avec une hybridation des puces à ADN</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2X5 mL sang total EDTA, réfrigéré</li> </ul> Joindre impérativement les renseignements cliniques.

<b>3.38.6. Recherche simultanée de plusieurs agents pathogènes responsables des infections</b>	
<b>MULTIPLEXE PCR/ / HYBRIDATION</b>  <b>D'INFECTIONS SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES HYBRIDATION MOLECULAIRE (IST)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Détection simultanée de 11 microorganismes responsables d'Infections sexuellement transmissibles (IST) par PCR / hybridation moléculaire : <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , HSV-1 et -2, <i>Haemophilus ducreyi</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i>, <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Treponema pallidum</i>, <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Ureaplasma parvum</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i>.</li> <li>✓ Prélèvement : Urine premier jet matinal ou frottis vaginal</li> </ul>
<b>MULTIPLEXE PCR/ / HYBRIDATION</b>  <b>INFECTIONS BACTERIENNES TRANSMISES PAR LES TIQUES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Détection simultanée des 7 bactéries responsables des infections à tiques par PCR multiplex suivi de l'hybridation inverse : <i>Anaplasma</i> spp; <i>A. phagocytophilum</i> ; <i>Ehrlichia chaffeensis</i>, <i>E. ewingii</i> and <i>Candidatus</i> ; <i>Bartonella</i> spp. <i>Bartonella</i> spp. ; <i>Borrelia</i> spp. <i>Coxiella burnetii</i> <i>Francisella</i> spp. <i>Rickettsia</i> spp. <i>Rickettsia typhus</i> group <i>Rickettsia</i> spotted fever group</li> <li>✓ Echantillon : sérum, biopsie, Sang total, LCR (1ml)</li> </ul>

<b>MULTIPLEXE PCR / HYBRIDATION</b>  <b>INFECTIONS VIRALES RESPONSABLES DES MENINGITES ET L'ENCEPHALITES VIRALES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Détection simultanée de 8 pathogènes responsables de la méningite et de l'encéphalite virale par PCR multiplex suivi de l'hybridation inverse : Herpes simplex 1 ; Herpes simplex 2 ; Cytomegalovirus ; Epstein-Barra ; Varicella-Zoster, Toscana ; Enterovirus ; Parechovirus</li> <li>✓ Echantillon : LCR (1ml)</li> </ul>
<b>MULTIPLEXE PCR / HYBRIDATION</b>  <b>INFECTIONS BACTERIENNES RESPONSABLES DES MENINGITES ET L'ENCEPHALITES BACTERIENNES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Détection simultanée des pathogènes responsables de la méningite et de l'encéphalite bactérienne par PCR multiplex suivi de l'hybridation inverse : Neisseria meningitidis ; Haemophilus influenzae ; Streptococcus pneumoniae ; Streptococcus agalactiae ; Listeria monocytogenes ; Cryptococcus neoformans ; Treponema pallidum ; Mycobacterium tuberculosis ; Coxiella burnetii ; Borrelia burgdorferi</li> <li>✓ Echantillon : LCR (1ml)</li> </ul>
<b>MULTIPLEXE PCR</b>  <b>INFECTIONS RESPIRATOIRES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Détection qualitative destinée à la différenciation de l'ARN viral des virus de l'influenza A, de l'influenza B et du virus respiratoire syncytial (Respiratory Syncytial Virus, RSV) par PCR multiplex couplée à la transcriptase inverse (RT-PCR)</li> <li>✓ Prélèvements : Écouvillons nasopharyngés et des échantillons d'aspiration ou de lavage nasal</li> </ul>

	<b>Recherche simultanée de plusieurs agents pathogènes responsables des infections</b>																																														
<b>SEPSIS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Détection simultanée des bactéries, des champignons, et les principaux gènes de résistance aux antibiotiques par PCR multiplex suivi de l'hybridation inverse :</li> </ul> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Bactéries / Champignons</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="2"><b>Staphylococcus aureus Coagulase-Positive</b></td> </tr> <tr> <td><b>Staphylococcus Coagulase-Negative</b></td> <td><b>Streptococcus</b></td> </tr> <tr> <td><i>S. epidermidis</i></td> <td><i>S. pneumoniae</i></td> </tr> <tr> <td><i>S. haemolyticus</i></td> <td><i>S. agalactiae</i></td> </tr> <tr> <td><i>S. coccus capitis</i></td> <td><i>S. pasteurianus</i></td> </tr> <tr> <td><i>S. hominis-hominis</i></td> <td><i>S. dysgalactiae</i></td> </tr> <tr> <td><i>S. intermedius</i></td> <td><i>S. gallolyticus</i></td> </tr> <tr> <td><b>Enterococcus</b></td> <td><i>S. macedonicus</i></td> </tr> <tr> <td><i>E. faecalis</i></td> <td><i>S. mitis/oralis</i></td> </tr> <tr> <td><i>E. faecium</i></td> <td><i>S. salivarius</i></td> </tr> <tr> <td><b>Champignons</b></td> <td><i>S. infantarium</i></td> </tr> <tr> <td><i>Candida albicans</i></td> <td><i>S. pyogenes</i></td> </tr> <tr> <td><i>C. tropicalis</i></td> <td><i>S. intermedius</i></td> </tr> <tr> <td colspan="2"><b>Enterobacteriaceae</b></td> </tr> <tr> <td><i>E. aerogenes</i></td> <td><i>Salmonella enterica</i></td> </tr> <tr> <td><i>E. cloacae</i></td> <td><i>Proteus spp.</i></td> </tr> <tr> <td><i>Klebsiella oxytoca</i></td> <td><i>Pseudomonas aeruginosa</i></td> </tr> <tr> <td><i>Klebsiella pneumoniae</i></td> <td><i>Acinetobacter baumannii</i></td> </tr> <tr> <td><i>M. morganii</i></td> <td><i>Neisseria meningitidis</i></td> </tr> <tr> <td><i>Escherichia coli</i></td> <td><i>Stenotrophomonas maltophilia</i></td> </tr> <tr> <td><i>Serratia marcescens</i></td> <td><i>Listeria monocytogenes</i></td> </tr> <tr> <td><i>Citrobacter</i></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Bactéries / Champignons		<b>Staphylococcus aureus Coagulase-Positive</b>		<b>Staphylococcus Coagulase-Negative</b>	<b>Streptococcus</b>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. coccus capitis</i>	<i>S. pasteurianus</i>	<i>S. hominis-hominis</i>	<i>S. dysgalactiae</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. gallolyticus</i>	<b>Enterococcus</b>	<i>S. macedonicus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. mitis/oralis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>S. salivarius</i>	<b>Champignons</b>	<i>S. infantarium</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>S. intermedius</i>	<b>Enterobacteriaceae</b>		<i>E. aerogenes</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>Proteus spp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>M. morganii</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Citrobacter</i>	
Bactéries / Champignons																																															
<b>Staphylococcus aureus Coagulase-Positive</b>																																															
<b>Staphylococcus Coagulase-Negative</b>	<b>Streptococcus</b>																																														
<i>S. epidermidis</i>	<i>S. pneumoniae</i>																																														
<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. agalactiae</i>																																														
<i>S. coccus capitis</i>	<i>S. pasteurianus</i>																																														
<i>S. hominis-hominis</i>	<i>S. dysgalactiae</i>																																														
<i>S. intermedius</i>	<i>S. gallolyticus</i>																																														
<b>Enterococcus</b>	<i>S. macedonicus</i>																																														
<i>E. faecalis</i>	<i>S. mitis/oralis</i>																																														
<i>E. faecium</i>	<i>S. salivarius</i>																																														
<b>Champignons</b>	<i>S. infantarium</i>																																														
<i>Candida albicans</i>	<i>S. pyogenes</i>																																														
<i>C. tropicalis</i>	<i>S. intermedius</i>																																														
<b>Enterobacteriaceae</b>																																															
<i>E. aerogenes</i>	<i>Salmonella enterica</i>																																														
<i>E. cloacae</i>	<i>Proteus spp.</i>																																														
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>																																														
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>																																														
<i>M. morganii</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>																																														
<i>Escherichia coli</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>																																														
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>																																														
<i>Citrobacter</i>																																															

<b>3.38.7. Typage HLA par PCR</b>	
<b>HLA B27</b>	<b>Détection de HLA B27 par PCR</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2X5 mL sang total EDTA, réfrigéré</li> <li>• Joindre impérativement les renseignements cliniques.</li> </ul>
<b>HLA DQ2/DQ8 (LA MALADIE CÉLIAQUE)</b>	<b>Détection de HLA DQ2/DQ8 (la maladie Cœliaque) par PCR</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2X5 mL sang total EDTA, réfrigéré</li> <li>• Joindre impérativement les renseignements cliniques.</li> </ul>

#### 4. PRELEVEMENTS URGENTS :

- Les urgences sont traitées en priorité dès que le médecin prescripteur ou le patient le mentionnent (écrit sur l'ordonnance, ou oralement).
- En plus d'être précisé sur le dossier du patient, l'état d'urgence doit être indiqué sur l'échantillon : marquage du tube et de la fiche de prélèvement avec une pastille rouge.
- Le degré d'urgence sera pris en compte à chaque étape de la réalisation de l'analyse, jusqu'à la transmission des résultats (rendu par téléphone, fax, Email etc.)

Certaines analyses sont systématiquement considérées comme urgentes :

- *BHCG\* (suspicion de GEU, FCS) ;*
- *D-Dimères ;*
- *Urée, Créatinine ;*
- *TP et TCA (bilan préopératoire)*
- *Troponine et autres marqueurs cardiaques (BNP, NT-proBNP).*
- *Groupage (Nouveau-né)*
- *Recherche du paludisme*

#### 5. ANALYSES COMPLEMENTAIRES/ RAJOUT D'ANALYSES.

Le prescripteur peut demander oralement un rajout d'analyse(s) sur un échantillon utilisé pour un examen antérieur en téléphonant au responsable concerné au LIAB (responsable de région). Le laboratoire acceptera ou non la demande en fonction des conditions pré analytiques et la qualité d'échantillon requise pour l'examen demandé. Dans certains cas il sera demandé au prescripteur, dans un deuxième temps, le complément de la première prescription.

#### 6. ANALYSES SOUS TRAITÉES :

Certaines analyses (Anatomo-pathologie et biologie Hyperspécialisée) ne sont pas réalisées au laboratoire ou ceux réalisés mais pour diverses raisons leur faisabilité est interrompue temporairement (équipement et son back up en panne, produits (Réactifs, contrôles, calibreurs) non disponibles ou défectueux. Elles sont sous traitées dans les laboratoires qui ont été sélectionnés et évalués par le laboratoire.

La préparation et l'envoi des échantillons sont effectués par le laboratoire. Lorsqu'une analyse est sous traitée, le patient ou le demandeur est informé préalablement à la demande et tracé sur le compte rendu dont les résultats du laboratoire sous traitant fait partie du compte rendu.

Conditions à respecter pour les échantillons à sous-traiter et prélevés dans une autre structure :

- **Prélèvements tissulaires (biopsies, pièce d'exérèse) :**
- Ils doivent être immédiatement fixés dans du formol à 10% pour les analyses d'anatomo-pathologie. Pour les autres analyses il y a lieu de suivre les préconisations preanalytiques et/ou ce présent manuel.
- La fiche de demande d'examens doit être obligatoirement remplie.
- **Frottis Cervico Vaginal :** Seule la technique monocouche est acceptée. Si nécessaire contacter le laboratoire pour le matériel de prélèvement. La date des dernières règles et le traitement contraceptif doivent être indiqués.
- **Liquides de ponction pour cytologie anatomo-pathologique :** doivent être recueillis dans du formol à 10%, dans le cas contraire, recueillir sur tube sec et acheminer au plus tôt au laboratoire spécialisé.
- **Prélèvement de Biologie hyperspécialisée : Génétique humaine, tests de chimie fine utilisant les technologies de chromatographie MMS LMS,** suivre les préconisations sur ces analyses et/ou ce présent manuel.

***NB : Tout prélèvement transmis au laboratoire être identifié par le nom, prénom, date de naissance du patient, date et heure de prélèvement.***

## **7. CONDUITE A TENIR EN CAS DE DYSFONCTIONNEMENT RELATIF AU PRELEVEMENT :**

### **7.1. Survenus sur échantillon :**

Les incidents pouvant survenir sur les échantillons peuvent être de diverses natures :

- Prélèvement égaré ;
- Pot ou tube cassé au cours du transport ou d'une manipulation ;
- Echantillon contaminé lors du prélèvement ;
- Prélèvement insuffisant ;
- Non-conformité aboutissant à une élimination de l'échantillon ;
- Analyse à refaire avec l'aliquote restant et entraînant le report du résultat ...etc.

**NB : Noter l'incident dans le suivi du dossier par la réalisation d'une non-conformité tout en traçant l'évènement**

### **7.2. Comment traiter le dysfonctionnement ?**

- **Contacteur le patient / demandeur par téléphone**
  - Bien lui expliquer la nature et les causes de l'incident. S'excuser si nécessaire.
  - Demander à recevoir un nouveau prélèvement au demandeur et refaire le prélèvement chez le patient et différer la remise des résultats.
  - En cas de besoin, l'un du personnel du laboratoire se déplacera chez le patient ou chez le demandeur pour corriger le dysfonctionnement.
- **Si le patient n'a pas de contact téléphonique, il sera informé au moment du retrait du résultat.**
- **Ne pas oublier de tracer la non-conformité**

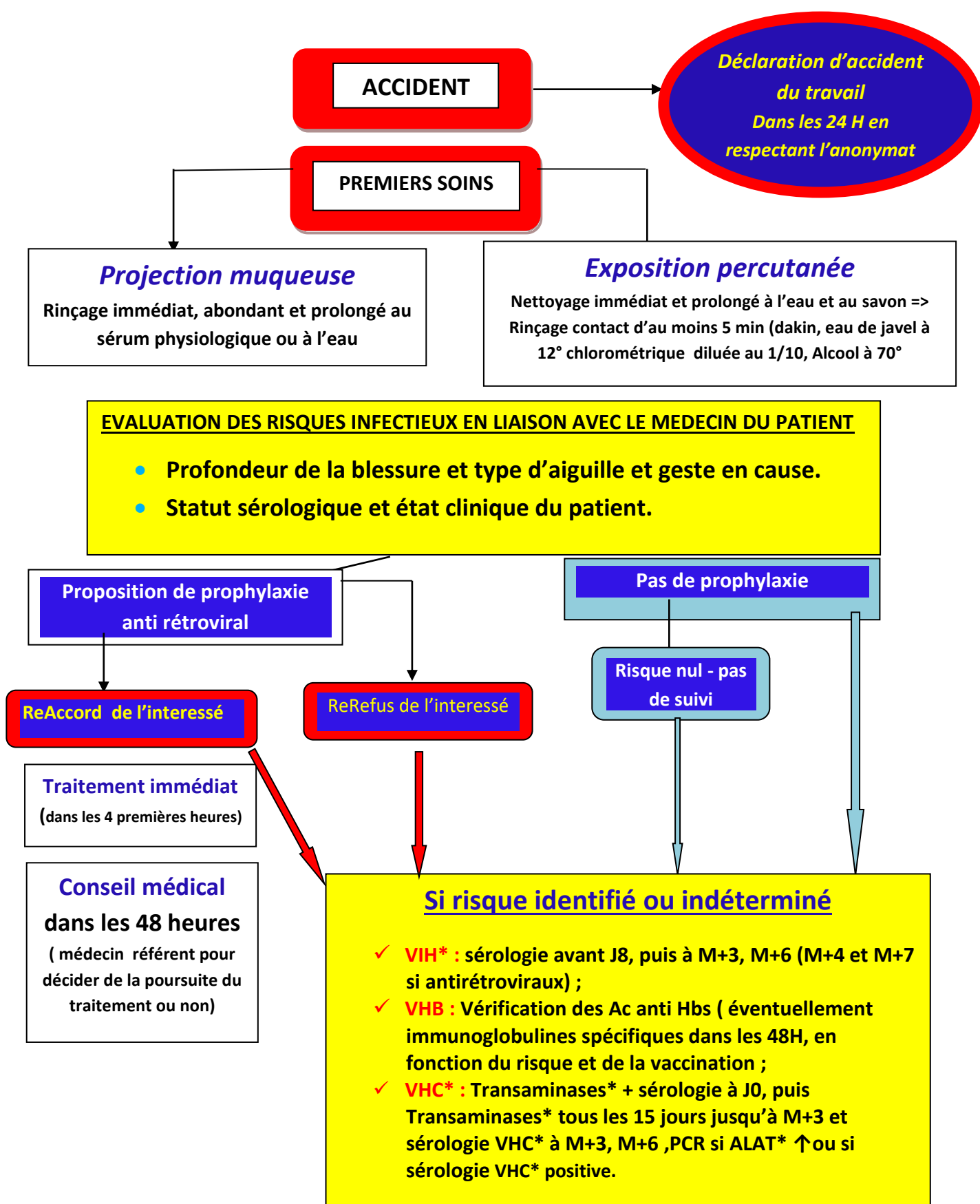
### **7.3. Incidents survenus sur le patient :**

- **Saignement après le prélèvement** : ramener le patient dans la salle de prélèvement, continuer à comprimer la veine, bien s'assurer que l'hémostase est bien faite avant de remettre le pansement.
- **Hématome après prélèvement** : mettre une compresse contenant un morceau de glace sur l'hématome ou appliquer la pommade dédiée rangée dans la trousse de premiers secours de la salle de prélèvement.
- **Le patient a perdu connaissance** : arrêter le prélèvement transformer le fauteuil de prélèvement en lit d'appoint, étendre le patient là-dessus et effectuer les gestes de 1ers

secours et appeler un Supérieur Hiérarchique pour sa prise en charge et prendre les décisions qui s'imposent.

**NB : Ne pas oublier de tracer la non-conformité**

## CONDUITE A TENIR EN CAS D'ACCIDENT AVEC EXPOSITION AU SANG



## **8. ANSPORT DES ECHANTILLONS ET CONVERSATION :**

### **8.1. Prélèvements réalisés sur site**

Les échantillons prélevés en interne sont transmis au plateau technique selon la procédure de transmission des échantillons du secteur des prélèvements vers la salle de tri des prélèvements décrite dans les documents Qualité.

### **8.2. Prélèvements réalisés à l'extérieur**

#### **8.2.1. Réalisation des prélèvements :**

- Nos préleveurs réalisent des prélèvements à domicile et dans les unités de soins des structures sanitaires.
- En cas de besoin, des ramassages peuvent être effectués parfois dans les unités de soins à la demande.

#### **8.2.2. Transport des prélèvements :**

Le laboratoire fait appel à des coursiers pour le transport d'échantillons biologiques, s'engageant ainsi à respecter les exigences en matière de délai et de conditions de température.

Les trousse isothermes sont équipées d'enregistreurs, avec un système de traçabilité intégré.

- ✓ Pour les courtes distances (<2 heures) les échantillons biologiques sont transportés à la température ambiante (15-25°C).
- ✓ Des sondes de températures afin d'assurer la traçabilité de l'acheminement des prélèvements et de la température du point d'enlèvement au point de livraison et ce en temps réel pour les transports > 2 heures.
- ✓ Les échantillons contenus dans des tubes ou flacons sont identifiés par une étiquette comprenant les noms / prénom et accompagnés par des fiches de demande d'analyses.
- ✓ En cas de besoin, des ramassages en urgence peuvent être effectués dans les cliniques/ hôpitaux, sur demande téléphonique au responsable concerné.
- ✓ **Cependant des conditions peuvent endommager les échantillons :**
  - Si des paramètres sensibles à la lumière doivent être déterminés, comme par exemple la bilirubine, les échantillons doivent être protégés de la lumière pendant le transport et la conservation.
  - Des fluctuations extrêmes de la température pendant le transport peuvent avoir un effet négatif. Si les températures sont particulièrement élevées, le maintien d'une température stable à l'aide de containers isolants appropriés est essentiel.
  - Il est recommandé de transporter les tubes centrifugés et les tubes qui doivent être centrifugés ultérieurement en position debout.
  - L'ensemble des échantillons sont doublement voire triplement emballés et identifiés comme échantillons de diagnostic. L'échantillon se trouve dans un récipient primaire, le récipient secondaire est une boîte d'échantillons et un container étanche rassemble l'ensemble des éléments cités avec les condensateurs de froid. L'emballage extérieur est un carton étiqueté.
  - L'envoi par la poste d'échantillons n'est autorisé qu'en petit colis et dans un emballage sous la responsabilité du demandeur.

### **8.3. Conservation :**

#### **8.3.1. Températures et durée de conservation**

Le sang EDTA doit être stocké à température ambiante. Pour les numérations sanguines, il peut être gardé à température ambiante pendant 24 heures et pour les numérations différentielles pendant 4 heures.

A quelques exceptions près, les échantillons de sérum et de plasma doivent être conservés au réfrigérateur à une température de 2°-8°C après la séparation des cellules.

La conservation prolongée de sérum ou de plasma exige des températures inférieures à -20 °C.



### 8.3.2. Conditions de conservation

#### 8.3.2.1. Conditions générales :

- ✓ Si un échantillon n'est pas hermétiquement fermé pendant son stockage, une évaporation susceptible d'en modifier la concentration peut s'en suivre.
- ✓ Si le sérum ou le plasma n'est pas séparé des cellules à l'aide d'un gel séparateur ou par décantation après la centrifugation, des substances peuvent passer des cellules au plasma ou au sérum par diffusion.

Au cours de ce processus, la paroi cellulaire n'est pas détruite comme dans le cas de l'hémolyse. En revanche, les effets sur l'échantillon sont similaires et provoquent, par exemple, une augmentation des valeurs de LDH\* et de potassium\*.

Le sucre sanguin est décomposé par le processus de glycolyse. Au cours de ce processus, les cellules absorbent également du glucose in vitro du sérum ou du plasma, modifiant ainsi le taux de sucre sanguin en permanence. Si le sérum ou le plasma n'est pas séparé des cellules, ce processus peut entraîner des modifications significatives après 2 à 3 heures seulement.

Par contre le prélèvement sur tube fluoré (gris) permet la conservation des échantillons pour les tests de glycémie pour une durée de 24H sang total à T° 15° à 25°

- Ne stockez les échantillons que dans des récipients fermés.
- Le sérum ou le plasma doit être séparé des cellules à l'aide d'un gel séparateur ou par décantation immédiatement après la centrifugation.

#### 8.3.2.2. Conditions Spécifiques :

##### 8.3.2.2.1. Transport des échantillons étiquetés avec le nom et prénom du patient de microbiologie à température ambiante (15-25°C) :

- Ranger tous les échantillons d'urines mis en tubes dans le même sachet ;
- Les autres types d'échantillons à destination de la microbiologie doivent être mis en sachet (un échantillon par un sachet)
- Les échantillons voyageront dans des caissons isothermes à température ambiante.

##### 8.3.2.2.2. Les échantillons étiquetés avec le nom et prénom du patient doivent être mis dans des sachets identifiés avec le nom du laboratoire expéditeur :

- Un bon de demandes d'analyses doit être joint à l'échantillon dans le sachet réservé à cet effet et collé à celui comprenant l'échantillon.
- Ce bon de demande d'analyses doit être obligatoirement cacheté par le laboratoire transmetteur de l'échantillon.

#### 8.3.2.3. Identification des échantillons

**Un Tube = Une Etiquette**

- Ne transmettre aucune étiquette « libre » ou « enroulée » autour d'un tube
- Ne pas coller 2 étiquettes sur le même tube

## 9. ELIMINATION DES DECHETS :

Le tri, le stockage et l'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux est soumis à la réglementation.

Dès la production des déchets d'activités de soins à risque infectieux (DASRI), un tri doit être effectué de manière à assurer la sécurité des personnes qui vont manipuler les contenants de DASRI. Les DASRI ne doivent pas être mélangés aux ordures ménagères et doivent être recueillis dans les contenants prévus à cet usage.

- Respecter les limites de remplissage des différents containers
- Ne pas recapuchonner les aiguilles
- Ne pas laisser d'aiguilles inutilisées dans les boîtes de prélèvement

Les containers à DASRI pleins ne doivent pas rester entreposés dans les zones de travail. Le stockage se fait dans une zone prévue à cet effet, conforme à la réglementation.

## 10. CONSERVATION DES ECHANTILLONS :

### 10.1. CONSERVATION PRÉ-ANALYTIQUE

Lorsque les échantillons ne sont pas traités immédiatement, ils sont conservés de la manière suivante :

Analyses	T° de conservation	Temps
✓ Hormone anti-Mullerienne ✓ ACTH	-20°C	1 mois
Ac anti-nucléaire	2 à 8 °C	7 jours
Ac anti DNA natif	2 à 8 °C	7 jours
Ac anti récepteur de l'acétylcholine	2 à 8 °C	7 jours
Ac anti récepteur de TSH	2 à 8 °C	7 jours
Adénosine désaminase	-20°C	7 jours
Fructosamine	2 à 8 °C	7 jours
Electrophorèse des protéines sérique	2 à 8 °C	7 jours
Ac anti endomysium	2 à 8 °C	7 jours
Analyses d'auto-immunité	2 à 8 °C	7 jours
QUANTIFERON	2 à 8 °C	
Plasma/sérum pour Biologie moléculaire	-20°C	1 mois

**Stabilité des tests de coagulation : TP\*, TCA\*, D-Dimères**

Paramètre	Type d'échantillon	Stabilité sur sang total à TA		Type d'échantillon	Stabilité sur plasma citraté à TA		Température de stockage	Stabilité sur plasma citraté congelé	
		CLSI H25-A5 [2]	Autres références		CLSI H25-A5 [2]	Autres références		CLSI H25-A5 [2]	Autres références
<b>TP*</b>	Sang total citraté 0,109 mM	24 h	Au moins 24 h [3] Au moins 48 h [5]	Plasma citraté et CTAD/non décanté/rebouché	24 h	Au moins 24 h [5, 9, 10] 8 h (Stago)	< -20 °C < -70 °C	2 semaines 12 mois	16 mois [12] Au moins 24 mois [12]
<b>TCA*</b>	Sang total citraté 0,109 mM	4 h	Au moins 6 h [6] Au moins 8 h [5] Au moins 24 h [3]	Plasma citraté et CTAD/non décanté/rebouché	4 h	Au moins 6 h [9] Au moins 8 h [5, 10]	< -20 °C < -70 °C	2 semaines 6 à 12 mois	12 mois [12] Au moins 24 mois [12]
<b>TT</b>	Sang total citraté	4 h		Plasma citraté rebouché 0,109 M	4 h	Au moins 24 h [10, 11]	< -20 °C < -70 °C	Au moins 10 mois [12] Au moins 24 mois [12]	
<b>DD</b>	Sang total citraté 0,109 mM	4 h	Au moins 24 h [3, 6]	Plasma citraté rebouché 0,109 M	4 h	Au moins 24 h [10, 11]	< -20 °C < -70 °C	Au moins 24 mois [12] Au moins 24 mois [12]	

Ann Biol Clin 2014 ; 72 (2) : 141-5

## 10.2. CONSERVATION POST-ANALYTIQUE

Après analyses, les échantillons sont conservés pendant un certains temps dépendant de la nature de l'examen. La conservation des échantillons permet de faire des contrôles et de réaliser des avenants sans prélever le patient.

CONSERVATION DES TUBES PRIMAIRES, FLACONS ET LAMES APRES ANALYSE			
Type d'analyse	Lieu	Conditions	Durée de conservation
<b>Hématologie</b>	Réfrigérateur	2°C - 8°C	12 heures
<b>Frottis sanguin</b> (normaux)	T° ambiante	15 - 25°C	7 jours
<b>Frottis sanguin</b> (pathologique)	T° ambiante	15 - 25°C	2 mois
<b>Coagulation</b>	T° ambiante	15 - 25°C	4 heures
<b>VS</b>	Echantillons	détruits	NA
<b>Biochimie sang/ Echantillons urines y compris celui de 24 h</b>	Réfrigérateur	2°C - 8°C <sup>2,3</sup>	7 jours <sup>2,3 *</sup>
<b>Biochimie Liquides biologiques</b>	Réfrigérateur	2°C - 8°C	7 jours
<b>Microbiologie : selles pour coproculture</b>	Réfrigérateur	2°C - 8°C	1 jour
<b>Microbiologie : selles pour KAOP</b>	Réfrigérateur	2°C - 8°C	1 jour
<b>Microbiologie : ECBU</b>	Réfrigérateur	2°C - 8°C	1 jour

- 1- La possibilité d'effectuer un contrôle sur ces échantillons existe avec l'accord du biologiste, cependant les résultats sont « rendus sous réserve »
- 2- TPSA\*, ATG\*, TPO\*, TROP, CKMB = 72H,,
- 3- BNP, FPSA\*, = 24H

## 11. SYNTHÈSE DE RECOMMANDATIONS POUR ÉVITER DES ERREURS AU NIVEAU DU PROCESSUS PRÉ ANALYTIQUE

### 11.1. Préparation du patient

- Informez le patient de la nécessité d'une abstinence alimentaire et **fournissez-lui des instructions alimentaires.**
- Rappelez au patient que toute **activité physique**, comme par exemple le jogging, **est à proscrire.**
- Signalez au patient qu'il doit renoncer au **tabac**, au café et à **l'alcool.**
- Relevez les noms ainsi que les **doses des médicaments** pris par le patient.

### 11.2. Identification

- **Identifiez le patient sans ambiguïté.**
- Indiquez les données du patient intégralement et avec précision.
- Ecrire lisiblement.
- Etiquetez les échantillons **Urgent.**
- Sur l'étiquette, écrivez lisiblement avec un stylo qui résiste à l'eau au mieux utilisez **l'étiquette à code à barre.**
- **Positionnez l'étiquette correctement.**
- Ecrire sur l'étiquette avant de procéder au prélèvement sanguin ou imprimer **l'étiquette à code à barre** puis l'apposer
- N'apposez jamais l'étiquette au tube de transport ! **Etiquetez toujours le tube à échantillon.**

### 11.3. Prélèvement sanguin

- Sélectionnez les tubes avec l'anticoagulants appropriés.
- **Calmez les angoisses et le stress, notamment des enfants.**
- Créez une atmosphère calme.
- Prélevez l'échantillon pendant que le patient est assis en position semi-allongée sur le fauteuil de prélèvement.
- Demander au patient d'étendre le bras et de fermer la main (**Ne pas serrer le poing ni pomper**).
- **Ne tapotez pas fortement** pour trouver la veine.
- **Ne posez jamais un garrot pendant plus de 60 secondes.**
- **Ne serrez pas trop fortement le garrot** - le pouls du patient doit rester palpable.
- **Laissez le désinfectant sécher.**
- Effectuez la ponction veineuse correctement selon l'instruction de travail du LIAB
- **Évitez de déplacer l'aiguille plusieurs fois dans le tissu** en essayant de localiser la veine.
- Dans la limite du possible, ne réalisez aucun prélèvement à partir d'un cathéter.
- Relâchez le garrot dès que la ponction veineuse a réussi.
- Observez l'ordre recommandé des tubes de prélèvement sanguin.
- Faire attention aux rapports de mélange.
- Remplissez le tube complètement jusqu'au trait recommandé.
- Après le prélèvement sanguin, **mélangez soigneusement le contenu du tube.** Ne pas agiter.
- **Évitez de transférer du sang d'une seringue à un autre récipient.**

### 11.4. Stockage et transport

- **Évitez les fluctuations de température**, comme par exemple l'exposition au soleil.
- S'assurer que les **tubes sont hermétiquement fermés** pour le stockage et le transport.
- Maintenez le sérum et le plasma à une température de 2-8°C ou congelé à -20°C selon le cas.
- **Décongelez les échantillons congelés lentement au réfrigérateur** ou au bain-marie en remuant constamment.
- Les échantillons doivent être transportés au laboratoire aussi rapidement que possible et avec un minimum de secousses. Transport réfrigéré, si nécessaire.
- **Dans la limite du possible, transportez les échantillons de sérum et de plasma en position debout.**
- Protéger les échantillons de la lumière si des paramètres sensibles à la lumière doivent être déterminés.
- Observez les règles pour le transport des échantillons.

### 11.5. Préparation des échantillons

- Laissez les échantillons de sérum **coaguler pendant environ 30 minutes ou 60 minutes** selon les contenants dans des tubes en position debout avant de les centrifuger.
- Pour les échantillons de sérum de **patients qui reçoivent un traitement anticoagulant**, attendez au minimum 60 minutes ou jusqu'à la fin de la rétraction.
- Les échantillons de plasma peuvent être centrifugés immédiatement.

- En cas d'une centrifugeuse réfrigérante, réglez la température appropriée.
- **Respectez la durée et la vitesse de centrifugation spécifiées.**
- **Respecter la double centrifugation pour les paramètres spécifique de l'hémostase**
- Ne pas confondre force g et tours par minute.
- Toujours s'assurer que les tubes sont fermés avant de les centrifuger.
- Utilisez le sérum ou le plasma rapidement après la centrifugation des cellules ou utilisez des tubes avec gel séparateur.
- Mélangez soigneusement avant de procéder à l'analyse - même en cas d'échantillons décongelés.
- Mélangez le contenu des tubes VS soigneusement avant de les placer dans un support de sédimentation ou un analyseur de VS.

#### 11.6. Hémoculture

- Utilisez des flacons d'hémoculture avec un milieu de culture approprié.
- Stockez les flacons d'hémoculture conformément aux instructions du fabricant.
- Amenez les flacons d'hémoculture à la température ambiante avant de les utiliser.
- Réalisez toujours une première hémoculture avant de commencer un traitement aux antibiotiques.
- **Prélevez l'échantillon de sang pendant la phase de frissons, quand le patient a de la fièvre.** Si un traitement aux antibiotiques a déjà été entamé, l'échantillon doit être prélevé à la fin de l'intervalle entre deux prises.
- **Faire pénétrer le désinfectant en frottant, puis le laisser agir pendant au minimum 30 secondes conformément aux instructions du fabricant. Ne pas essuyer.**
- Une fois la désinfection terminée, ne touchez plus le site de ponction.
- Le bouchon du flacon d'hémoculture doit également être désinfecté après le retrait du capuchon de protection.
- **Prélevez en premier l'échantillon destiné à l'hémoculture.**
- Ne pas prélever des échantillons à partir d'un cathéter horizontal.
- Utilisez un système fermé pour le prélèvement d'échantillons. Pas de décantage.
- **Commencez par remplir le flacon aérobie.**
- Les informations concernant le diagnostic clinique soupçonné doivent être mentionnées dans le rapport accompagnant.
- Durant le prélèvement sanguin, tenir le flacon d'hémoculture au-dessous du site de ponction.
- Si nécessaire, le patient doit être à jeun.
- Ne jamais stockez les échantillons au réfrigérateur.

#### 11.7. Diagnostics par PCR

- **Portez toujours des gants jetables propres lors du prélèvement d'échantillons.**
- Utilisez toujours des tubes séparés.
- Ne jamais décanter des échantillons.
- **Ne pas utiliser de tube héparine.**

#### 11.8. Urine matinale

- Pas de sport matinal avant le prélèvement.

#### 11.9. Urine collectée sur 24 heures

- **Consommation de 1,5 à 2 litres de liquide au cours des 24 heures.**
- Si l'urine doit être stabilisée, ajoutez les agents conservateurs appropriés.
- Commencez à 7 h du matin si possible.
- Éliminez la première urine matinale.
- Collectez toute l'urine jusqu'au lendemain matin, y compris la première urine matinale du lendemain.
- Assurez des conditions hygiéniques.
- **Stockez l'urine au frais et à l'abri de la lumière.**
- Mesurez le volume prélevé précisément.
- Mélangez l'urine soigneusement.
- Transférez la quantité nécessaire dans le tube à échantillon.
- **Fournissez des instructions précises sur le prélèvement urinaire au patient.**

#### 11.10. Urine 2ème JET

- **Nettoyage soigneux de la zone génitale.**
- Un nettoyage intense peut entraîner un léger saignement et, par conséquent, la présence d'érythrocytes.
- La première quantité d'urine contient des germes contaminants et doit être jetée.

→ La deuxième quantité d'urine est collectée dans un pot stérile sans interrompre le jet. Le jet final est éliminé.

→ **Assurez un transport immédiat de l'échantillon au laboratoire.**

#### **11.11. Sédiment urinaire**

→ Utilisez 10 ml d'urine du 2<sup>ème</sup> jet mélangée.

→ Centrifugez pendant 5 minutes

→ Éliminez 9,5 ml du surnageant.

→ Utilisez les 0,5 ml restants pour l'analyse.

→ Le prélèvement de l'échantillon ne doit pas remonter à plus de 2 heures.

#### **11.12. Culture d'urine**

→ **Prélevez l'échantillon d'urine avant d'entamer un traitement aux antibiotiques.**

→ Utilisez la première urine matinale - Le patient ne devra plus uriner après 2 h du matin.

→ Utilisez l'urine du 2ème jet.

## **VIII. Conduites à tenir en cas d'AES**

**Désinfecter => Consulter => Analyser => Déclarer => Surveiller**

**. NETTOYER et DÉSINFECTER IMMÉDIATEMENT :**

- Réduire le temps de contact.

- Nettoyer à l'eau et au savon et rincer abondamment : **NE PAS FAIRE SAIGNER**

Désinfecter 10 min à l'aide d'une solution antiseptique : eau de javel à 9,6° chloré, diluée au 1/10<sup>em</sup> dans un délai inférieur à 24h, ou solution de Dakin en respectant la date de péremption et la date de stabilité après ouverture du flacon. : **Exposition percutanée**

Rinçage immédiat, abondant et prolongé au sérum physiologique ou à l'eau : **Projection**

*muqueuse*

**PRENDRE TRÈS RAPIDEMENT UN AVIS MÉDICAL :**

Si possible dans l'heure, un avis médical est indispensable.

Voir le médecin référent HIV qui délivrera si besoin une chimio prophylaxie :

**. OBTENIR RAPIDEMENT LE STATUT DU PATIENT SOURCE :**

- Le patient doit en être informé, si possible, par son médecin : en cas d'impossibilité le patient source sera considéré comme inconnu et le suivi de l'AES se fera en conséquence

- On peut avoir recours à des tests rapides ou sérologiques classiques en moins de 2 heures.

- Cette démarche est prévue par la circulaire de la DGS 165 du 2 avril 2003.

**DÉCLARER L'ACCIDENT DANS LES 24 HEURES :**

- **Obtenir un certificat médical initial par le premier médecin consulté**

- Voir le médecin du travail pour organiser le suivi.

- Déclarer l'accident par lettre recommandée avec accusé de réception (AR) à la caisse d'assurance maladie dont vous dépendez

**METTRE EN ROUTE LE SUIVI SI NÉCESSAIRE :**

- Première sérologie HIV immédiatement, puis à 3 mois et à 6 mois. Seul le médecin référent peut ajouter un contrôle à 1 mois en fonction du contexte

- En cas de positivité de la source, d'autres sérologies peuvent être utiles (HBV, HCV).

**IX.** Analyser les circonstances de survenue de l'accident afin d'éviter qu'il ne se reproduise

## **Plan de positionnement LABORATOIRE ZEROUAL KAWASSIM**



