

Manuel de prélèvement des échantillons primaires

Centre de Biologie Clinique



La version électronique fait foi - Copie non gérée

SOMMAIRE

	page
Introduction	5
Quelques recommandations à respecter en pré-analytique	7
I. Organisation du laboratoire	8
II. Information sur le catalogue des analyses du CBC.....	8
III. Le processus du prélèvement	9
1. Rôle du médecin prescripteur.....	9
2. Vérification de l'identité du patient et enregistrement de la demande.....	9
3. Revue de la demande – Prise en compte de la prescription.....	10
4. Heure du prélèvement – Statut alimentaire du patient – Protocoles de prélèvement... ..	10
5. Matériel de prélèvement.....	12
➤ Choix des tubes d'échantillons et du matériel de prélèvement.....	12
➤ Ordres des tubes	13
➤ Remplissage des tubes	14
➤ Autres matériels de prélèvement.....	14
6. Identification de l'échantillon.....	16
7. Règles de conservation des échantillons avant leur réception au laboratoire	16
IV. Gestion des non-conformités, critères d'acceptation et de refus des échantillons	17
V. Quelques exemples des conséquences typiques de non-respect des conditions pré-analytiques sur les résultats	17
VI. Conduite à tenir en cas d'incident de prélèvement	18
VII. Règles d'hygiène et de sécurité	19
VIII. Informations sur la phase post-analytique	25
1. Délais de « rendu » des résultats.....	25
2. Transmission des résultats	25
3. Résultats des examens anatomo-cytopathologiques.....	25
4. Rajout d'une analyse.....	25
IX. Modalités de recueil des échantillons primaires	26
1. Recommandations et modes opératoires.....	26
➤ Prélèvement sanguin	26
➤ Recueil d'urines en vue d'une cytologie ou cyto-bactériologie urinaire.....	27
➤ Mode opératoire spécial – recueil d'urines	28
➤ Recueil des urines de 24 heures.....	29
➤ Recueil d'urines pour le "Compte d'Addis" (HLM).....	29
➤ Recherche de <i>Schistosoma haematobium</i> dans les urines.....	29
➤ Prélèvement des échantillons pour la recherche des Bacilles de Koch (BK)	30

➤ Recueil des selles pour la Coproculture.....	30
➤ Recherche d' <i>Helicobacter pylori</i> dans les selles.....	30
➤ Recueil des selles pour la recherche de sang	31
➤ Recueil des selles pour la recherche d'amibes.....	31
➤ Réalisation d'un Scotch-test pour recherche d'oxyures (Test de Graham).....	31
➤ Recommandations pour le prélèvement gynécologiques.....	32
➤ Recueil de sperme en vue d'un spermogramme ou d'une spermoculture.....	32
➤ Réalisation d'un test de Hühner.....	32
➤ Préparation pour le dosage hormonal.....	33
➤ Dosage des médicaments.....	33
➤ Prélèvement pharyngé.....	33
➤ Prélèvement d'Expectoration.....	33
➤ Prélèvement de Lavage Broncho-Alvéolaire (LBA et mini-LBA), Prélèvement Distal Protégé (PDP)	34
➤ Fibro-aspiration et Aspiration endotrachéale.....	34
➤ Prélèvement de pus.....	35
➤ Prélèvement pour Hémoculture.....	36
➤ Prélèvement de peau et de phanères à visée mycologique.....	37
➤ Prélèvement pour la recherche des microfilaires.....	38
➤ Prélèvement oculaire.....	38
➤ Test de "O'Sullivan".....	39
➤ Dépistage du diabète gestationnel selon les recommandations "OMS".....	39
➤ Hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO - Confirmation).....	40
➤ Hyperglycémie provoquée simplifiée.....	40
➤ Glycémie post-prandiale (GPP).....	40
➤ Test au Synacthène immédiat.....	41
➤ Prélèvement placentaire.....	41
2. Modes opératoires relatifs aux analyses d'anatomo-cytopathologie.....	42
➤ Conseil pour la réalisation d'un prélèvement.....	42
➤ Acheminement d'un prélèvement fixé.....	42
➤ Acheminement d'un étalement sur lames.....	42
➤ Acheminement d'un liquide pour étude cytologique.....	42

INTRODUCTION

Ce manuel s'inscrit dans la démarche qualité du Centre de Biologie Clinique qui vise la satisfaction de ses patients et clients via :

*L'engagement à « rendre des **résultats justes** dans les **délais appropriés**, en utilisant des techniques analytiques aux **performances optimales**, avec **l'aide maximale aux cliniciens** quant à l'interprétation des résultats »*

Ce manuel décrit principalement les recommandations pré-analytiques. Le respect de cette étape est primordial pour donner aux résultats d'analyses toute la qualité que les patients et prescripteurs sont en droit d'attendre.

La rédaction de ce manuel répond à plusieurs objectifs :

1. Transmettre les informations nécessaires aux préleveurs internes du laboratoire ou externes pour que les prélèvements soient réalisés dans les meilleures conditions possibles et ainsi garantir la justesse du résultat,

2. Permettre une formation adéquate des personnes qui sont amenées à réaliser des prélèvements,

3. Répondre aux exigences de la norme NF EN ISO 15 189 « Laboratoire d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la Qualité et la compétence ».

Ce manuel de prélèvement est diffusé sous 2 formes :

- **Format papier**, uniquement pour la diffusion en interne et au nombre défini selon la fiche de vie au laboratoire, diffusion contrôlée.
- **Format électronique** via le site Internet de l'Institut Pasteur de Madagascar (www.pasteur.mg), destiné pour tout autre utilisateur, diffusion non contrôlée.

Une revue est réalisée régulièrement et la version en ligne sera mise à jour et fera foi. La version papier est ensuite changée au niveau du laboratoire. L'ensemble du personnel réalisant le prélèvement sera informé du changement apporté.

Ce manuel s'adresse au personnel du Centre de Biologie Clinique habilité ou en cours d'habilitation pour réaliser les prélèvements. Il concerne aussi les personnes extérieures au laboratoire susceptibles de réaliser des prélèvements.

Les versions en vigueur des documents associés, fiche de prescription et catalogue des analyses, sont également mis en ligne sur le site de l'Institut Pasteur de Madagascar.

Il apporte la preuve que le laboratoire met à disposition aux professionnels de santé toutes les procédures et instructions liées aux phases pré-analytiques.

Cependant, il est toujours possible de contacter les laboratoires pour toutes informations complémentaires. Le laboratoire reste attentif à toutes remarques ou suggestions qui aideraient à l'amélioration de ce document.

L'envoi d'un examen de biologie médicale au Centre de biologie Clinique vaut acceptation des modalités du présent manuel.

Il est rappelé aux prescripteurs, patients, partenaires, acteurs du secteur de la santé, quelques articles du Décret n° 98-945 du 04 Novembre 1998 Portant CODE DE DEONTOLOGIE MEDICALE :

Article 21 – *Tout partage d'honoraires entre médecins est interdit sous quelque forme que ce soit. L'acceptation, la sollicitation ou l'offre d'un partage d'honoraires même non suivies d'effet, sont interdites.*

Article 23 – *Sont interdits :*

1. *Tout acte de nature à procurer au patient un avantage matériel injustifié ou illicite ;*
2. *Toute ristourne en argent ou nature faite à un patient ;*
3. *Tout versement, acceptation ou partage clandestin d'argent entre praticien ;*
4. *Toute commission à quelque personne que ce soit ;*
5. *L'acceptation d'une commission pour un acte médical quelconque et notamment pour examens, prescriptions de médicaments, d'appareils, envoi dans une station de cure ou maison de santé.*

Article 31 – *Le médecin doit toujours élaborer son diagnostic avec le plus grand soin, en y consacrant le temps nécessaire, en s'aidant dans toute la mesure du possible des méthodes scientifiques les mieux adaptées et, s'il y a lieu, de concours appropriés.*

Article 32 – *Le médecin doit formuler ses prescriptions avec toute la clarté indispensable, veiller à leur compréhension par le patient et son entourage et s'efforcer d'en obtenir la bonne exécution.*

Article 69 – *Le médecin doit disposer au lieu de son exercice professionnel d'une installation convenable de locaux adéquats pour permettre le respect du secret professionnel et de moyens techniques suffisants en rapports avec la nature des actes qu'il pratique ou de la population qu'il prend en charge. Il doit notamment veiller à la stérilisation et à la décontamination des dispositifs médicaux qu'il utilise et à l'élimination des déchets selon les procédures réglementaires.*

Il ne doit pas exercer sa profession dans les conditions qui puissent compromettre la qualité des soins et des actes médicaux ou la sécurité des personnes examinées. Il doit veiller à la compétence des personnes qui lui apportent leur concours.

Article 86 – *Un médecin salarié ne peut, en aucun cas, accepter une rémunération fondée sur des normes de productivité, de rendement horaire ou tout autre disposition qui aurait pour conséquence une limitation ou un abandon de son indépendance ou une atteinte à la qualité des soins.*

QUELQUES RECOMMANDATIONS A RESPECTER EN PRE-ANALYTIQUE

Etape 1

Je vérifie

- la conformité de la prescription
- la concordance entre la prescription et les tubes ou flacons

Etape 2

- Je demande au patient de s'identifier
- Je demande le statut alimentaire
- Je demande le traitement en cours
- Je prépare les matériels
- Je rassure le patient

En cas de besoin

Je contacte le laboratoire au
22 412 72

Je consulte le catalogue des
analyses et le manuel de
prélèvement sur le site
www.pasteur.mg

Etape 4

- J'identifie bien les prélèvements
*Nom, prénoms, date de naissance,
date et heure de prélèvement*

Etape 5

- Je conditionne bien les prélèvements
- Ne pas mélanger le(s) prélèvement(s) de patients différents dans un même container

Etape 3

Je prélève

- pas sur la veine perfusée
- pas au niveau d'un hématome
- pas sur un cathéter
- en respectant l'ordre des tubes
- ne pas transférer l'échantillon d'une seringue dans un tube,
- ne pas compléter un tube par le contenu d'un autre
- éviter l'hémolyse (garrot pas trop serré et en moins d'une minute)
- bien mélanger le prélèvement par retournement doux (5 à 6 fois) pour les tubes avec additifs, ne pas agiter

NB : pour les autres prélèvements (cf. Manuel)



Etape 6

- J'achemine les prélèvements et je respecte bien le délai d'acheminement et les conditions de transport / conservation des échantillons au laboratoire pour éviter entre autres :
 - K⁺, phosphore, LDH (diffusion contenu cellulaire)
 - Acide lactique, ammoniac (production par les métabolismes cellulaires)
 - Glucose (utilisation par les métabolismes cellulaires)
- Pour les ECBU et autres prélèvements bactériologiques, respecter le délai d'acheminement pour éviter la pullulation microbienne (cf. Manuel)

I. Organisation du laboratoire

Le Centre de Biologie Clinique effectue des prélèvements au laboratoire sise à Ambatofotsikely et dispose également d'un Centre de prélèvement à Ankorondrano.

❖ Horaires :

Le laboratoire à Ambatofotsikely est ouvert 7j/7j et le centre de prélèvement à Ankorondrano est ouvert les jours ouvrables et samedi.

Les horaires d'accueil sont consultables sur le site internet de l'Institut Pasteur de Madagascar (www.pasteur.mg), rubrique « Analyse de biologie médicale ».

❖ Prise de rendez-vous :

- Secrétariat Ambatofotsikely : +261 20 22 412 72
- Secrétariat Ankorondrano : +261 34 02 426 66

La direction du laboratoire est composée de :

RANDRIANIRINA Frédérique, Chef de service, Médecin biologiste responsable technique du secteur Bactériologie et Post-analytique.

RATSIMA Hariniaina Elisoa, Médecin biologiste, responsable technique du secteur Immuno-sérologie et Biochimie.

RAMPARANY Lovaso, Médecin biologiste, responsable technique du secteur Pré-analytique et Hématologie.

RAHARISOLO Clairette, Docteur en médecine, AFSA Anatomie et cytologie pathologiques, responsable technique du secteur Anato-Cyto-Pathologie.

RAMAHERISON Haja Lalaina, Responsable Qualité du Centre de Biologie Clinique,

RAMAHLEOTSITOHAINA Rovatiana, Responsable Qualité du Centre de Biologie Clinique.

RAMALAHANOHARANA Henriette, surveillante

II. Information sur le catalogue des analyses du CBC

Le catalogue des analyses du CBC présente l'ensemble des analyses réalisées au laboratoire avec le délai de rendu des résultats, la cotation, le type de tube à utiliser et des consignes de transport ou de prélèvement, les valeurs de référence ou interprétation clinique, les précautions, la possibilité de rajout d'analyses... Il est disponible pour consultation à l'accueil et sur le site Internet www.pasteur.mg (rubrique « Analyse de biologie médicale »).

Les analyses non réalisées par le laboratoire sont soustraitées au laboratoire spécialisé Pasteur-Cerba en France. Le catalogue des analyses du laboratoire Pasteur-Cerba est consultable au Centre de Biologie Clinique de l'Institut Pasteur de Madagascar ou sur le site www.lab-cerba.com.

Le Centre de Biologie Clinique en collaboration avec le laboratoire CERBA peuvent prendre en charge l'envoi de prélèvements dans d'autre structure hospitalière en Métropole moyennant un frais d'expédition. Pour cette demande, il est recommandé de contacter au préalable le laboratoire.

I:\Base

CBC\PRE\PRE_WORD\CBC_MP_001_Manuel_de_prélèvement_des_échantillons_primaires_V6.docx

III. Le Processus du prélèvement

1. Rôle du médecin prescripteur

Il est conseillé que l'ordonnance comporte de manière lisible les éléments suivants :

- Identification du prescripteur et son numéro d'inscription à l'ordre de médecin (ONM). Si ces derniers sont rattachés à un service de Santé, ces coordonnées sont demandées : hôpital, service,.... Un numéro de téléphone est nécessaire pour contacter le prescripteur en cas de résultats « urgents ».
- Identification complète du patient (nom avec mention du nom de jeune fille, prénoms, date de naissance, sexe). Ces éléments sont utilisés pour différencier les homonymes, lier le patient à ses antécédents et attribuer les valeurs de références adaptées (homme ≠ femme ≠ enfant)
- Nature du ou des prélèvements. L'absence ou l'erreur d'identification du prélèvement ou de l'échantillon constitue un critère de non-conformité, elle est enregistrée comme telle dans le système informatique du laboratoire et peut entraîner la non-exécution des actes.
- Analyses demandées
- Renseignements cliniques doivent figurer sur l'ordonnance pour l'interprétation des résultats. Il peut s'agir de renseignements physiologiques (comme la grossesse), pathologiques ou cliniques, des traitements en cours avec indication de la posologie (pour traitement AVK) ou encore de renseignements sur l'état de jeûne ou autre préparation du patient. Ces informations doivent être communiquées au laboratoire lors de l'enregistrement.
- Si le prélèvement n'est pas réalisé au laboratoire, la **date et l'heure de prélèvement** doivent également être indiquées ainsi que **l'identité du préleveur ou le service hospitalier** (au dos de l'ordonnance par exemple).

Pour un prélèvement destiné aux analyses anatomo-cytopathologiques, les éléments suivants doivent parvenir au laboratoire :

- La date du prélèvement
- Identification du patient : nom et prénom, nom de jeune fille, sexe, date de naissance, adresse complète
- Service demandeur : Médecin prescripteur, Hôpital, service
- Noms des différents médecins auxquels le compte rendu devra être adressé
- Constatations cliniques, radiologiques et biologiques pré-opératoires
- Eventuelles questions particulières posées au pathologiste
- Type et siège du prélèvement
- Date et type de fixation du prélèvement.

2. Vérification de l'identité du patient et enregistrement de la demande *(Cette étape est faite simultanément)*

Les patients ont le droit de bénéficier de tout acte médical anonymement, ils ont donc le droit de ne pas déclarer leur identité. Sauf pour les patients bénéficiant d'une prise en charge.

Cette étape est réalisée conformément au document CBC PRE MO-009 « Revue de prescription et enregistrement des demandes d'analyse ».

3. Revue de la demande – Prise en compte de la prescription

Tout problème de lecture ou question concernant la demande doit être solutionné avec un biologiste ou un cadre médico-technique du laboratoire en particulier les problèmes concernant la lecture ou la signification d'une prescription ou le choix de la méthode effectuée par rapport aux desiderata du demandeur ou encore la capacité du laboratoire de répondre aux demandes de prestations.

4. Préparation du patient : Heure du prélèvement – Statut alimentaire du patient – Rythme circadien – Recueil des prélèvements

❖ Heures du prélèvement :

Les prélèvements sanguins peuvent être pratiqués à toute heure de la journée sauf pour les analyses avec recommandations particulières mentionnées dans le catalogue du CBC ou du laboratoire CERBA.

❖ Statut alimentaire du patient :

L'état de jeûne est un des éléments déterminant pour certaines analyses et l'interprétation pertinente des résultats. Le jeûne du patient, même s'il est souvent préférable, n'est strictement nécessaire que pour quelques analyses désignées dans **le tableau 1** (les principales sont les glycémies et les explorations lipidiques avec un jeun impératif).

L'état de jeûne correspond à l'absence de toute prise alimentaire dans les 10 à 12 heures qui précèdent le prélèvement (il est possible de boire de l'eau).

Si les prélèvements nécessitant un jeûne impératif sont réalisés en l'absence de « jeûne strict », cette information doit être communiquée au laboratoire afin qu'elle soit précisée sur le compte rendu d'examen.

Chez les nouveau-nés et les nourrissons, le jeûne est impossible à réaliser. Il est donc nécessaire de communiquer l'heure de la dernière tété / dernier repas lors de l'enregistrement.

En cas d'urgence, le non-respect du jeûne ne saurait constituer un obstacle à un examen, les modalités d'interprétation des résultats ne sont alors plus les mêmes, et c'est au clinicien d'interpréter les résultats.

Tableau 1 : Jeun et analyses

Le jeûne est : IMPERATIF	Acide urique (AU), Glycémie (GJ), Triglycérides(TG) Cholesterol (CT), HDL, OMS, HGPS, HGPO.
Le jeûne est : PREFERABLE	Calcium (Ca) Electrophorèse des protéines sériques (ELEC), Fer, CREATININE (CRE) Enzymes hépatiques : ALT/AST (transaminases), GGT, Bilirubines, (PAL) Enzymes cardiaques : CK, LDH, CKMB Hémogramme (NFS), Vitesse de SEDIMENTATION Tests de coagulation : TQ INR, FIB, TCA, TS,... Analyses hormonales : Prolactine (PRL)
Le jeûne est : INUTILE	Analyses sérologiques : BW, HIV, SBILH, AMIBS, TOXO, RUB, TUBEX (sérologie de la typhoïde), HEPATITES (A, B, C),... Marqueurs tumoraux : AFP, TPSA, ACE, PSAL, CA15-3, ... Auto- anticorps : RAI, COOMBS, Détermination du groupe sanguin Analyses hormonales FSH, LH, Progestérone, ... Etc...

❖ **Rythme circadien**

Le laboratoire préconise des horaires pour certains bilans sanguins
La concentration sanguine de certaines molécules est soumise à des variations significatives en fonction du moment de la journée (rythme circadien). Il s'agit par exemple des hormones suivantes : prolactine, cortisol 8h ou 16h, ACTH....

❖ **Recueil des prélèvements**

Les prélèvements microbiologiques, les épreuves dynamiques et les analyses non réalisées par le laboratoire (confiées au laboratoire sous-traitant) nécessitent une consultation préalable du laboratoire ou d'un préleveur pour expliquer les conditions à respecter et éventuellement pour récupérer les fiches de renseignement et les matériels de prélèvement.

○ **Instructions destinées au patient**

Le recueil d'un échantillon par le patient lui-même constitue un auto-prélèvement pour lequel le laboratoire, souvent par l'intermédiaire du préleveur doit exercer un conseil car tout mauvais recueil peut être la cause d'une non-conformité. Des instructions de recueil ou auto-prélèvement sont disponibles au laboratoire.

Les détails de la réalisation des différents prélèvements sont présentés dans le chapitre VIII « Modalités de recueil ».

- **Protocoles destinés au patient et au préleveur (épreuves dites « dynamiques »)**

Les protocoles des tests dynamiques sont directement sous la responsabilité du préleveur qui doit préparer et organiser le test tout en informant le patient du protocole à suivre. Ces analyses ne sont réalisées qu'au laboratoire. Il s'agit par exemple du test au synactène, du test O'Sullivan, ...





5. Matériel de prélèvement




❖ Choix des tubes d'échantillon et du matériel de prélèvement

Le choix des tubes et des matériels de prélèvement (volume, nombre de tubes et nature des adjuvants) se fait en fonction du document interne (CBC PRE MO-003 Prélèvement sanguin veineux) et des autres modes opératoires relatifs aux prélèvements.

Pour toutes les analyses réalisées par le laboratoire CERBA, se référer au catalogue des Analyses du laboratoire CERBA disponible au Centre de Biologie Clinique.

Tableau 2 : Choix des tubes en fonction des analyses (liste non exhaustive)

Type de tube	Analyses réalisées	
 Tube sec Capuchon rouge ou  Capuchon VERT	Biochimie	
	Acide urique Amylase ASAT / ALAT Bicarbonates Bilirubine totale/conjuguée Calcium Chlorures Cholestérol total/ HDL Créatinine Créatine Phospho-Kinase (CPK) C Reactive Protein (CRP)	Fer sérique Gamma-glutamyl-transférase (GGT) Lactate déshydrogénase (LDH) Lipase Magnésium Phosphore Phosphatase alcaline (PAL) Potassium Protéines totales Sodium
	Electrophorèse des protéines (tube sec ou rouge uniquement)	
 Tube sec Capuchon Rouge ou  Capuchon GRIS Fluorure de sodium	Glucose et épreuves (test de O'sullivan, HGPS, HGPO, ...)	

Type de tube	Analyses réalisées	
 <p>Tube sec Capuchon Rouge</p>	Sérologies bactériennes	
	ASLO Chlamydia trachomatis Salmonella Syphilis (TPHA, VDRL),...	
	Marqueurs tumoraux	
	ACE, AFP, CA 15-3, PSA (total et/ou libre),...	
	Hormonologie	Sérologie virale
	β-HCG Cortisol FSH LH Oestradiol, Progestérone Prolactine Test au synactène (cortisol) T4L, T3L, TSH,...	Hépatite A (IgM) Hépatite B (Ag HBs, Ag HBe, Ac anti-HBs, IgM anti-HBc) Hépatite C (Ig totales anti HCV) HIV (sérologie / Western Blot) Rubéole (IgG+ IgM),...
	Sérologies parasitaires	
Amibiase, Bilharziose, Cysticercose (Elisa / Western Blot) Toxoplasmose (IgM+IgG),...		
<p>EDTA K2 ou K3</p>  <p>Capuchon VIOLET</p>	Hématologie, virologie, hormonologie	
	Groupe sanguin Numération Formule Sanguin (NFS) Plaquettes Réticulocytes Hémoglobine glyquée (HbA _{1c}) Recherche de parasites Vitesse de Sédimentation (VS),...	
<p>Citrate de sodium</p>  <p>Capuchon BLEU</p>	Hémostase-coagulation	
	Fibrinogène TCA TP-INR D-dimères Plaquettes (si agrégats sur tube EDTA)	

❖ Ordre des tubes

Il est préconisé de prélever en premier le tube citraté car les tubes secs contiennent des activateurs de coagulation. Mais il peut y avoir des préconisations en fonction que l'on prélève avec une aiguille directe ou une unité à ailettes ou une épicroânienne. Dans le cas de l'unité à ailettes ou l'épicroânienne, il est conseillé d'utiliser un tube de purge (comme le tube neutre) ou bien tout simplement un autre tube bleu que l'on jettera afin d'éliminer l'air contenu dans les tubulures qui pourrait empêcher un bon remplissage du tube citraté. Et dans tous les cas de prélèvement un peu difficile, que ce soit par aiguille directe ou épicroânienne, un tube de purge est conseillé afin d'éliminer les facteurs tissulaires.

Alors, si un examen unique d'hémostase est demandé, le premier tube (citrate de sodium) peut être conservé si la ponction veineuse est franche et si le bilan comporte uniquement des tests de coagulation courants (TP, INR, TCA).

Ordre de prélèvement Recommandations CLSI (NCLSI), Déc. 2007, Doc. H3-A6 et GEHT 2007 (www.geht.org)

AVEC UNE AIGUILLE (ponction franche)



Autres tubes : ACD, VS, Aprotinine et tube Thrombine (toujours en dernier)

AVEC UNE UNITÉ A AILETTES

• Avec hémoculture



Autres tubes : ACD, VS, Aprotinine et tube Thrombine (toujours en dernier)

• Sans hémoculture



Autres tubes : ACD, VS, Aprotinine et tube Thrombine (toujours en dernier)

- Veiller au bon remplissage des tubes.
- Il est recommandé d'**homogénéiser** le tube dès le retrait du corps de prélèvement, par **plusieurs retournements lents**.
- Identifier les tubes.
- Veiller à respecter les conditions recommandées de prélèvement et de transport.



❖ Remplissage des tubes

D'une manière générale, les tubes doivent être remplis, supérieur au trait de remplissage minimum.

Le tube citraté (bouchon bleu) doit impérativement être correctement rempli pour respecter le rapport sang/anticoagulant, sous peine de fausser le résultat.

Si le tube citraté n'est pas correctement rempli (niveau en-dessous du trait de remplissage), le laboratoire peut refuser l'échantillon et demande un nouveau prélèvement.

❖ Autres matériels de prélèvement

En plus des tubes, sont utilisés pour le prélèvement :

Aiguilles



Pots et poches



Flacon stérile pour recueil des urines

Flacon pour recueil des selles

Poches pédiatriques de recueil des urines

Sont présentés sur la photographie ci-dessous les différents consommables utilisés pour la réalisation des **prélèvements vaginaux** (en vue d'un examen cyto-bactériologique des prélèvements vaginaux) **et frottis cervico-utérin (FCV)** (en vue d'un dépistage du cancer du col de l'utérus) **et le test de Hünher**.



Légende :

- ① Spatule et écouvillon de prélèvement, ② Ecouvillon de kit de dépistage de Chlamydia
- ③ Cytobrush (prélèvement des cellules du col de l'utérus)
- ④ Ecouvillon pour la recherche de mycoplasmes génitaux
- ⑤ Milieu de transport pour mycoplasmes génitaux (bouchon jaune) et milieu de culture VCNT ou VCAT
- ⑥ Fixateur (pour FCV)
- ⑦ Spéculum à usage unique
- ⑧ Lames et lamelles pour observation au microscope et coloration,
- ⑨ Compresses stériles

Sont présentés sur la photographie ci-dessous les différents consommables utilisés pour la réalisation des **prélèvements urétraux**.



Légende :

- ① Ecouvillons
- ② Milieu de culture (VCNT ou VCAT pour la recherche de Gonocoques) et milieu de transport pour mycoplasmes génitaux
- ③ Lames pour observation microscopique et coloration
- ④ Gant
- ⑤ Dispositif de collecte urinaire (dépistage de Chlamydiae)

Sont présentés sur la photographie ci-dessous les différents consommables utilisés pour la détermination du **temps de saignement**.



Légende :

- ① Tensiomètre
- ② Surgicut
- ③ Chronomètre
- ④ Pansements, lingette, boîte de pansements
- ⑤ Papier buvard

Tout le matériel nécessaire décrit précédemment est fourni dans des contenants adaptés aux normes en vigueur sur demande de ceux-ci.

6. Identification de l'échantillon

Pour les prélèvements réalisés au laboratoire, les étiquettes récupérées avec la fiche individuelle par le préleveur sont apposées sur les échantillons immédiatement après l'acte de prélèvement et avant transfert dans la partie technique.

Pour les prélèvements réalisés à l'extérieur du laboratoire, une première identification provisoire, est faite par le préleveur, par inscription instantanée (au marqueur fin et indélébile) dès le prélèvement (ou le recueil), sur les tubes ou flacon, du nom et/ou du prénom et si possible la date de naissance du patient.

Dès l'acceptation et enregistrement de la demande, les fiches individuelles et étiquettes d'identification remises au correspondant sont apposées sur les échantillons par les aides techniques au comptoir PEX après contrôle minutieux de la concordance des identités déjà écrites et de l'étiquette à coller.

7. Règles de conservation des échantillons avant leur réception au laboratoire (conditionnement, stockage et transport) pour les PEX.

❖ Conditionnement :

Le préleveur doit placer les échantillons dans des sachets individuels. L'ordonnance, accompagnée des renseignements utiles sont également introduites dans une autre poche de ce sachet (double poche ou poche « kangourou »).

Il est recommandé de ne pas mettre plusieurs échantillons provenant de plusieurs patients dans le même sachet transmis.

❖ Température de stockage et de transport :

Par défaut, en dehors des spécifications contraires décrites dans le catalogue et en tenant compte des délais maximum de transport définis ci-dessous, la plage standard de température de stockage des échantillons, acceptable par le laboratoire pour la plupart des analyses, s'étend de 4°C à 27°C c'est-à-dire une plage large, correspondant à une température réfrigérée ou à une température ambiante (pour les prélèvements sanguins sur tube primaire,...) et < 8°C pour certains prélèvements (sérum ou plasma).

Il convient donc pour les aides techniques ou le personnel de garde d'être très vigilant à la réception des échantillons.

En cas de doute sur les températures à réception, le laboratoire peut être amené à refuser la réalisation des analyses.

Certains prélèvements envoyés pour analyse au Laboratoire Cerba nécessitent une congélation immédiate des sérums (ammoniémie par exemple). Dans ce cas, la réalisation des prélèvements au laboratoire est obligatoire.

❖ Délais de transport

Dans tous les cas, s'informer auprès du laboratoire et/ou se référer au catalogue.

Le délai maximum d'acheminement des prélèvements au laboratoire est d'environ 4 heures. Les plasmas et sérums peuvent être envoyés à inférieur à 8°C (<8°C) si ce délai n'est pas respecté.

Il est interdit de transporter les prélèvements dans les poches des vêtements.

Certaines analyses recommandent d'effectuer le prélèvement au laboratoire seulement.

IV. Gestion des non-conformités, critères d'acceptation et de refus des échantillons

Les échantillons transmis au laboratoire ne pourront être traités que si la qualité et les conditions de transmission des prélèvements sont respectées.

Les échantillons prélevés à l'extérieur sont transmis au laboratoire par un correspondant (soit par l'intermédiaire d'un coursier, soit par le préleveur ou encore par le patient ou sa famille).

Lors de la réception des échantillons par le personnel habilité du laboratoire, des non-conformités peuvent être décelées.

En cas de non-conformité qui ne fait pas l'objet de dérogation, l'échantillon est refusé.

Le patient ou la personne qui apporte l'échantillon est informé de la cause de refus de l'échantillon et lui explique la procédure pour le recueil d'un nouveau prélèvement conforme et si besoin lui délivre un kit de prélèvement.

Ces informations sont enregistrées dans le dossier du patient dans le SIL.

Les types de non-conformité, critères d'acceptation et de refus des échantillons sont détaillés dans le document associé CBC PRE PO-002/03.

V. Quelques exemples des conséquences typiques de non-respect des conditions pré-analytiques sur les résultats

❖ Augmentation de la kaliémie (potassium)

Des conditions pré-analytiques rigoureuses doivent être respectées pour cette analyse car le taux de potassium sérique est très sensible, même en dehors de toute hémolyse détectable, au choc thermique (température trop élevée ou au contraire trop basse), au choc mécanique (retournements trop violents des tubes, et surtout écoulement contrarié du sang) et encore au délai d'attente avant analyse. Il est donc impératif que les kaliémies (et donc les ionogrammes) ne soient pas prélevés avec des aiguilles trop fines ou en laissant le garrot trop serré. Il convient de recommencer tout prélèvement pour lequel l'écoulement n'aurait pas été parfaitement franc.

Il est conseillé de ne pas faire le prélèvement sur un cathéter ou du même côté que le cathéter. Le prélèvement se fera de l'autre côté du corps.

Ces mêmes problèmes pré-analytiques liés à une hémolyse peuvent également intervenir pour d'autres dosages en particulier les dosages d'enzymes.

❖ Baisse de la glycémie

Lorsque la glycémie est pratiquée sur tube sec, le délai avant analyse doit être inférieur à 2 heures, faute de quoi le résultat peut s'effondrer en raison du phénomène de glycolyse.

Pour les PEX qui ne sont pas transportés immédiatement au laboratoire, il est donc préférable de pratiquer des glycémies plasmatiques, prélevées sur tube gris avec anti-glycolytique (tube fluorure-oxalate).

❖ Augmentation de la numération des germes pour un ECBU

Si les urines pour un examen cytobactériologique des urines sont recueillies dans un flacon sans conservateur et sans être apportées au laboratoire dans les 2 heures qui

suivent le recueil, les résultats de la numération des germes peuvent être fortement majorés.

Dans le cas où l'acheminement est susceptible d'être plus long, il est donc impératif de transporter le prélèvement au froid (rentre 2°C et 8°C) et de signaler le délai de transport au laboratoire.

VI. Conduite à tenir en cas d'incident de prélèvement

Incident ou accident	Cause probable	Conduite à tenir
Malaise du patient qui reste cependant conscient	Anxiété, jeûne...	Rassurer le patient. Arrêter le prélèvement et faire comprimer par le patient le point de prélèvement. Eviter la perte de connaissance en retenant l'attention du patient. Attendre que le patient revienne entièrement à lui et demander son accord avant de continuer le prélèvement.
Hématome au point de prélèvement (même hématome différé)	Garrot trop serré, veine trop fine, piqûre hésitante, effet des traitements, anti coagulant,...	Rassurer le patient. Compresser le point de prélèvement. Poser une compresse alcoolisée.
Perte de connaissance du patient	Anxiété, jeûne + causes médicales	Arrêter le prélèvement. Appeler en urgence un médecin ou transférer le patient en milieu hospitalier. Si le patient revient à lui, proposer de revenir dans les jours suivants.

VII. Règles d'hygiène et de sécurité

Les précautions générales d'hygiène ou Précautions standard à respecter ⁽¹⁾

Précautions	Recommandations
Si contact avec du sang ou liquide biologique ⁽²⁾	Après piqûre, blessure : lavage et antiseptique au niveau de la plaie Après projection sur muqueuse (conjonctive) : rinçage abondant (Voir détails dans les pages 23 et pages 24)
Lavage / désinfection des mains	Après le retrait des gants, entre 2 patients, entre 2 activités
Port de gants Les gants doivent être changés entre 2 patients, 2 activités	Si risque de contact avec du sang, ou tout autre produit d'origine humaine, les muqueuses ou la peau lésée du patient, notamment à l'occasion d'actes à risques de piqûre (prélèvement sanguin, dépose de voie veineuse, etc) et lors de la manipulation des tubes de prélèvements biologiques, linge et matériels souillés. Lors des soins ou actes à risque, lorsque les mains du soignant ou du technicien comportent des lésions.
Port de surblouse, lunettes, masque	Si les soins ou manipulations exposent à un risque de projection ou d'aérosolisation de sang, ou tout autre produit d'origine humaine.
Matériels souillés	Matériel piquant / tranchant à usage unique : - Ne pas recapuchonner les aiguilles, ne pas les désadapter à la main, - Déposer immédiatement après usage sans manipulation un conteneur adapté situé au plus près du soin ou de la manipulation (paillasse) - Vérifier régulièrement le niveau maximal de remplissage des conteneurs à déchets Matériel réutilisable : - Manipuler avec précaution le matériel souillé avec du sang ou tout autre produit biologique d'origine humaine, - Vérifier que ce matériel a subi une procédure de désinfection ou de stérilisation appropriée avant d'être réutilisé
Surfaces souillées	Nettoyer puis désinfecter avec de l'eau de javel à 12° Chlore diluée au 1/10* fraîchement préparée (ou tout autre désinfectant approprié) les surfaces souillées par des projections ou aérosolisations de sang ou tout autre produit biologique d'origine humaine.
Transport de prélèvements biologique, linge et matériels souillés	Les prélèvements biologiques, le linge et instruments souillés par du sang ou tout autre produit biologique doivent être évacués du service dans un emballage adapté, étanche, identifié et fermé.

Sources :

(1) Circulaire DGS/DH N° 98/249 du 20 avril 1998 relative à la prévention de la transmission d'agents infectieux véhiculés par le sang liquides biologiques lors des soins dans les établissements de santé.

(2) Circulaire DGS/DH/DRT N° 98-228 du 9 avril 1998 relative aux recommandations de mise en oeuvre d'un traitement antirétroviral après exposition au risque de transmission du VIH.

* Depuis le 1^{er} juin 2001, l'eau de Javel est commercialisée sous une forme concentrée à 2,6 % de chlore actif soit 9° chl. Il convient d'adapter la dilution en conséquence (dilution au 1/5).

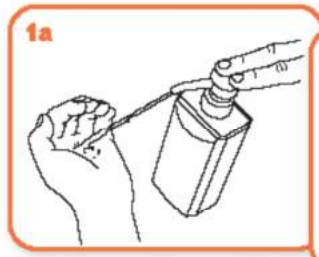
La friction hydro-alcoolique

Comment ?

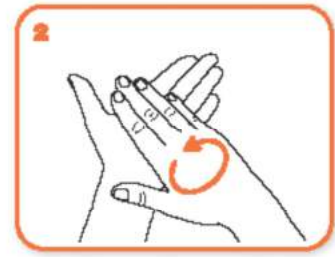
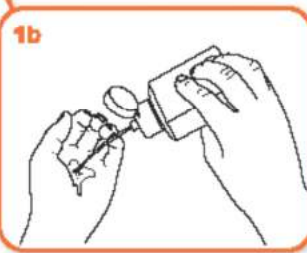
UTILISER LA FRICTION HYDRO-ALCOOLIQUE POUR L'HYGIENE DES MAINS !
LAVER LES MAINS AU SAVON ET A L'EAU LORSQU'ELLES SONT VISIBLEMENT SOUILLEES



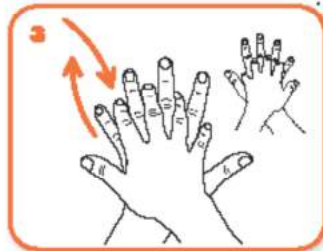
Durée de la procédure : 20-30 secondes.



Remplir la paume d'une main avec le produit hydro-alcoolique, recouvrir toutes les surfaces des mains et frictionner :



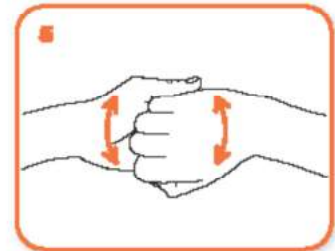
Paume contre paume par mouvement de rotation,



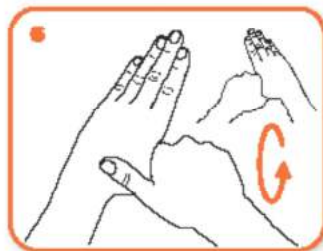
le dos de la main gauche avec un mouvement d'avant en arrière exercé par la paume droite, et vice et versa,



les espaces interdigitaux paume contre paume, doigts entrelacés, en exerçant un mouvement d'avant en arrière,



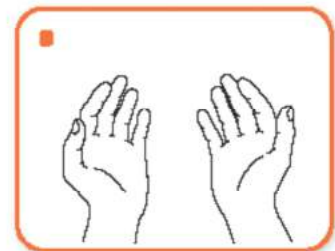
les dos des doigts en les tenant dans la paume des mains opposées avec un mouvement d'aller-retour latéral,



le pouce de la main gauche par rotation dans la paume refermée de la main droite, et vice et versa,



la pulpe des doigts de la main droite par rotation contre la paume de la main gauche, et vice et versa.



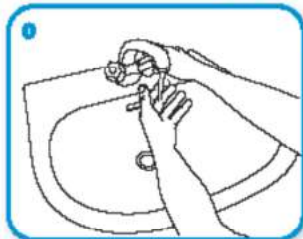
Une fois sèches, les mains sont prêtes pour le soin.

Le lavage des mains - Comment ?

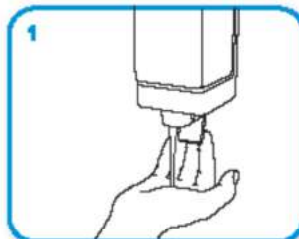
LAVER LES MAINS AU SAVON ET A L'EAU LORSQU'ELLES SONT VISIBLEMENT SOUILLEES
SINON, UTILISER LA FRICTION HYDRO-ALCOOLIQUE POUR L'HYGIENE DES MAINS !



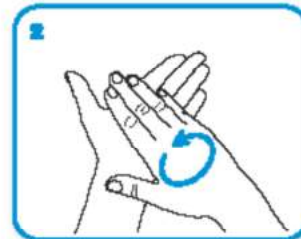
Durée de la procédure : 40-60 secondes



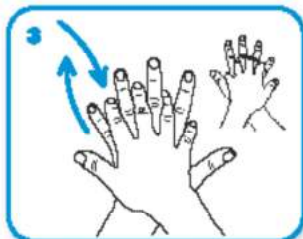
0
Mouiller les mains
abondamment



1
Appliquer suffisamment de savon
pour recouvrir toutes les surfaces
des mains et frictionner :



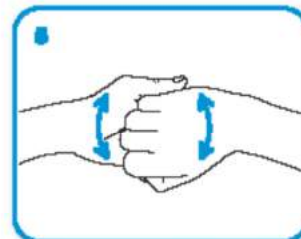
2
Paume contre paume par
mouvement de rotation,



3
le dos de la main gauche avec un
mouvement d'avant en arrière exercé
par la paume droite, et vice et versa,



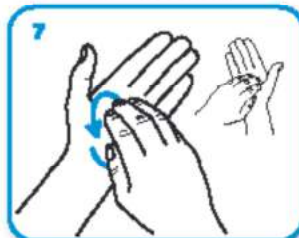
4
les espaces interdigitaux paume
contre paume, doigts entrelacés,
en exerçant un mouvement
d'avant en arrière,



5
les dos des doigts en les tenant
dans la paume des mains
opposées avec un mouvement
d'aller-retour latéral,



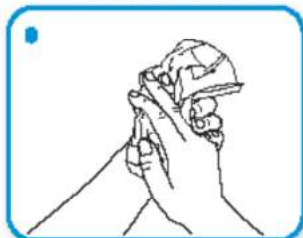
6
le pouce de la main gauche
par rotation dans la paume
refermée de la main droite,
et vice et versa,



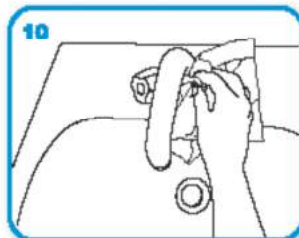
7
la pulpe des doigts de la main droite
par rotation contre la paume de
la main gauche, et vice et versa.



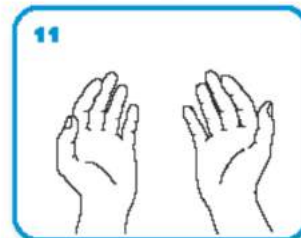
8
Rincer les mains
à l'eau,



9
sécher soigneusement les mains
avec une serviette à usage unique,



10
fermer le robinet à
l'aide de la serviette.



11
Les mains sont prêtes
pour le soin.

WORLD ALLIANCE
for PATIENT SAFETY

L'OMS remercie les Hôpitaux Universitaires de Genève (HUG), en particulier les collaborateurs
du service de Prévention et Contrôle de l'Infection, pour leur participation active au développement de ce matériel.

Octobre 2008, version 1.

Organisation
mondiale de la Santé

Toutes les précautions ont été prises par l'OMS pour vérifier les informations contenues dans la présente publication. Toutefois, le document est diffusé sans garantie, explicite ou implicite, d'aucune sorte.
L'interprétation et l'utilisation des données sont de la responsabilité du lecteur. L'OMS ne saurait en aucun cas être tenue pour responsable des dommages qui pourraient en résulter.

Design: www.who.int/infocentre

Gestion des déchets

Les règles de sécurité en biologie médicale consistent à respecter le conditionnement prévu (flaconnages, sachets), à programmer et organiser l'élimination des déchets de soins, en particulier des aiguilles, par des filières adaptées, mais surtout sans les joindre aux échantillons transmis au laboratoire et enfin à bien connaître les procédures de sécurité en cas d'accident lié au prélèvement lui-même ou au transport.

En fonction de leur nature, les déchets suivent plusieurs filières de traitement différentes :

- DAOM : déchet assimilé aux ordures ménagères : papiers, emballages, coton non souillé. Ces déchets sont à éliminer dans les poubelles de ville.
- DASRI : déchets d'activité de soin à risque infectieux.

Il existe plusieurs types de containers pour l'élimination des DASRI :

- Collecteurs spécifiques pour les objets coupants, piquants ou tranchants (OPCT)
- Cartons spécifiques plastifiés pour les déchets dits « mous ». Il est interdit de jeter toute aiguille, lame ou autre objet piquant coupant tranchant dans ces cartons.



Les consignes à respecter lors d'un accident d'exposition au sang ou à des produits biologiques sont présentées dans la page suivante.

Les indications données quant aux consultations médicales sont applicables uniquement au personnel de l'Institut Pasteur de Madagascar.

Conduite à tenir en cas d'accident d'exposition au sang

CONDUITE A TENIR EN CAS D'ACCIDENT AVEC EXPOSITION AU SANG OU A DES PRODUITS BIOLOGIQUES

Un accident avec exposition au sang ou à des produits biologiques peut être :

- Une piqûre d'aiguille,
- Une coupure avec un objet tranchant,
- Un contact ou une projection de sang ou de produits biologiques au niveau d'une plaie, d'une lésion cutanée ou d'une muqueuse.

1. Faire immédiatement les premiers soins d'urgence :

- Stopper l'activité en cours
- En cas de plaie ou de piqûre :
 1. Ne pas faire saigner,
 2. Nettoyer la plaie avec de l'eau et du savon, puis rincer abondamment à l'eau du robinet,
 3. Désinfecter pendant 15 minutes avec une solution de DAKIN non périmée, de l'eau de Javel à 12° diluée au 1/10è fraîchement préparée ou du Polyvidone iodé (Bétadine® dermique 10% diluée au 1/20è).
- En cas de projection sur les yeux ou sur une muqueuse :
 1. Éviter de mettre l'œil directement sous le robinet,
 2. Faire un rinçage doux en utilisant soit un rince-œil, soit un gobelet rempli d'eau tempérée (eau embouteillée ou eau du robinet) ou de sérum physiologique pendant 15 minutes.
 3. Garder les paupières ouvertes dans le liquide, faire monter et descendre le regard, réaliser des mouvements de rotation de l'œil afin de bien rincer le pourtour du globe oculaire et les paupières.
 4. En cas de port de lentilles de contact :

- Lentilles souples : jeter les lentilles
- Lentilles rigides : enlever les lentilles puis les nettoyer avec les produits d'entretien et de désinfection recommandés par le fabricant avant de les remettre, si l'œil n'est pas irrité.

Le temps de désinfection est capital.

2. Prévenir immédiatement :

- Le chef de service,
- Le surveillant qui orientera l'intéressé.

3. Consulter un médecin dans les 3 heures afin d'évaluer le risque infectieux :

- Jours ouvrables, pendant les heures de service :
Médecin du dispensaire de l'IPM : ☎ 431
- Week-end et jours fériés, pendant les heures de service :
08H00 – 11H00 : Médecin de garde ☎ 431
- En dehors des heures de service :
Service des maladies infectieuses, Hôpital J. Raseta Befelatanana (24H/24H)
 - Pr RANDRIA Mamy ☎ 033 11 501 81 - 032 41 988 96
 - Pr ANDRIANASOLO Rado ☎ 032 46 602 64

4. Déclaration administrative obligatoire de l'accident de travail dans les 24 heures auprès du médecin du dispensaire.

5. Effectuer le suivi sérologique prescrit par le médecin du dispensaire.

**CONDUITE A TENIR EN CAS D'ACCIDENT AVEC EXPOSITION AU SANG
OU A DES PRODUITS BIOLOGIQUES**



VIII. Informations sur la phase post-analytique

1. Délais de « rendu » des résultats

La date et si possible l'heure de rendu des résultats des analyses sont mentionnées sur la fiche individuelle remise au patient ou correspondant au moment de l'enregistrement de la demande. Toutefois si le patient ou prescripteur souhaite connaître le délai de rendu des résultats, ces informations sont mentionnées dans le catalogue du laboratoire.

La date de rendu de résultats partiels est inscrite manuellement sur la fiche individuelle.

La diffusion de résultats par téléphone est strictement limitée et encadrée..

Pour les résultats URGENTS, le laboratoire informe le prescripteur. Si ce dernier n'est pas joignable, le laboratoire contacte le patient ou le correspondant pour les informer que le résultat est disponible et doit être remis au médecin.

En cas de changement de rendu de résultats, le laboratoire informe le patient ou le correspondant de la nouvelle date de disponibilité des résultats.

2. Transmission des résultats

Les comptes rendus d'analyses peuvent :

- Etre remis personnellement au patient ou à un tiers sous enveloppe (le patient prend la responsabilité de mandater une tierce personne) contre présentation de la fiche individuelle.
- Etre consultés sur un serveur de résultats sécurisé

3. Résultats des examens anatomo-cytopathologiques

Pour tout renseignement sur les résultats d'anatomo-cytopathologie, la personne à contacter est le responsable du laboratoire d'anatomo-cytopathologie.

4. Rajout d'une analyse

Cette demande est possible pour les patients qui ne sont pas pris en charge par les établissements publics, les assurances et assimilés, sur demande des prescripteurs ou du patient.

Suite à la réception d'un compte rendu d'analyses, le prescripteur peut demander des analyses complémentaires. Cependant, elle ne sera acceptée par le laboratoire que si les conditions pré-analytiques et post analytiques (le délai, la quantité, la conformité...) sont respectées. Le cas échéant, un autre prélèvement devra être effectué.

IX. Modalités de recueil des échantillons primaires

1. Recommandations et modes opératoires

ATTENTION !

Le non-respect d'un mode opératoire de recueil des échantillons risque de nuire considérablement à la qualité de vos examens et d'induire une interprétation erronée.

En secteur hospitalier :

- Réaliser les prélèvements du côté opposé de la perfusion,
- Ne jamais prélever sur le cathéter.
- Ne pas prélever sur une aiguille épicroânienne

PRELEVEMENT SANGUIN

Vérifier la présence et la conformité de tout le matériel indispensable au prélèvement avant de procéder au prélèvement sanguin.

- Demander au patient de décliner son identité.
- Installer confortablement le patient.
- Rassurer le patient et l'informer sur les conditions de prélèvements.
- S'assurer de l'état de jeûne du patient pour les analyses nécessitant un jeûne impératif.
- Sélectionner les tubes de prélèvements à utiliser en fonction des analyses prescrites (se reporter à la liste des analyses inscrites sur la fiche individuelle ou mentionnées sur l'ordonnance pour les prélèvements réalisés à l'extérieur du laboratoire).
- Préparer le matériel de ponction.
- Se laver les mains devant le patient ou mettre de nouveaux gants
- Choisir le site de ponction. Ne jamais prélever sur un bras qui est perfusé.
- Poser le garrot sans trop serrer.
- Désinfecter le site de ponction.
- Réaliser la ponction veineuse.
- Desserrer le garrot dès que le sang s'écoule dans le tube.
- Retirer le tube une fois rempli et homogénéiser par retournement doux 6-10 fois pour les tubes contenant des anticoagulants.
- Remplir les tubes successivement en respectant le volume de remplissage et l'ordre recommandé.

Cas particulier : en cas de prélèvement sur cathéter, il est nécessaire de purger avant le remplissage du premier tube.

- Retirer le matériel de prélèvement, une fois le prélèvement terminé.
- Eliminer le matériel de prélèvement dans le container prévu à cet effet.
- Comprimer le site de ponction à l'aide d'un coton pendant quelques minutes. Appliquer le pansement.
- Identifier chaque tube prélevé (étiquetage ou identification manuelle).
- Ranger les tubes sur un portoir ou les disposer dans un sachet kangourou.
- Acheminer rapidement les échantillons au laboratoire.

RECUEIL D'URINES EN VU D'UNE CYTOLOGIE OU D'UNE CYTO-BACTERIOLOGIE URINAIRE

Cas du protocole « ECBU et échantillon d'urine standard (général) » :

Par mesure de simplification et d'uniformisation, le protocole habituel de l'examen « ECBU » est étendu au recueil général d'un échantillon d'urines qui doit toujours se faire dans un flacon stérile.

Le prélèvement doit de préférence être réalisé au moins 4h après la miction précédente, afin de permettre une stase suffisamment longue dans la vessie.

Se laver les mains à l'eau et au savon

Effectuer une toilette locale soigneuse de préférence avec une solution Antiseptique, type Dakin ou Bétadine cutané.

Eliminer un premier jet d'urine dans les WC puis la suite des urines dans le flacon stérile fourni par le laboratoire, en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient. Identifier le prélèvement.

Faire parvenir le plus rapidement possible au laboratoire (à température ambiante dans les 02 heures qui suivent le prélèvement ou entre +2°C à +8°C dans les 12 heures qui suivent le prélèvement)

NB : un traitement antibiotique en cours ou datant de moins de 5 jours faussera cet examen ; dans ce cas, si l'examen ne peut être reporté, il convient impérativement de le signaler au laboratoire afin que le médecin soit informé pour interpréter les résultats.

MODE OPERATOIRE SPECIAL POUR PEDIATRIE

Le recueil s'effectue à l'aide d'une poche autocollante stérile, après désinfection du méat urinaire, du périnée et de la peau

Se laver les mains à l'eau et au savon ou mettre des nouveaux gants.

Bien désinfecter les parties génitales à l'aide de lingettes ou cotons imbibés d'antiseptique en évitant de toucher la peau avec ses doigts (utiliser les compresses) ; pour les filles : d'avant en arrière sans revenir sur le geste ; pour les garçons : si le garçon n'est pas circoncis, décalotter avec précaution si possible et bien insister au niveau du méat.

Ouvrir la poche stérile.

Bien coller la poche sur la peau pour éviter les fuites.

La poche ne doit pas être laissée en place plus de 30 minutes pour éviter au maximum le risque de contamination et doit donc être changée à cette fréquence (si l'enfant n'émet pas d'urine).

Fermer soigneusement la poche et l'introduire dans le flacon propre offert par le laboratoire. **Ne pas transvaser les urines.** Refermer immédiatement le flacon. Identifier le prélèvement puis le faire parvenir le plus rapidement possible au laboratoire

MODE OPERATOIRE SPECIAL POUR PATIENT SONDE A DEMEURE

Se laver les mains à l'eau et au savon ou mettre de nouveaux gants

Si possible réaliser le prélèvement lors du changement de la sonde.

Recueillir l'urine à partir de la nouvelle sonde après désinfection soigneuse du bout distal pour avoir un prélèvement plus représentatif des micro-organismes réellement présents dans la vessie.

Si cette dernière n'est pas possible :

Ne pas prélever dans le sac collecteur,

Ne pas déconnecter la sonde du sac collecteur pour prélever les urines,

Clamper le tuyau d'excrétion pendant 15 à 20 min pour que l'urine s'accumule en amont,

Le recueil se fera par ponction avec aiguille stérile montée sur une seringue stérile sur le site spécifique (bout proximal plutôt du côté urétral) du dispositif de sonde après une désinfection minutieuse de cette dernière,

Transvaser l'urine recueillie dans un flacon stérile,

Identifier le flacon d'urine.

Faire parvenir le plus rapidement possible au laboratoire (à température ambiante dans les 02 heures qui suivent le prélèvement ou entre +2°C à +8°C dans les 12 heures qui suivent le prélèvement)

MODE OPERATOIRE SPECIAL POUR RECUEIL DES URINES DE PREMIER JET

Le recueil du premier jet d'urine est indiqué notamment en cas de :

- suspicion d'infection urétrale ou prostatique
- recherche de *Chlamydia trachomatis* chez l'homme.

Se laver les mains à l'eau et au savon.

Le prélèvement doit, de préférence, être réalisé à partir des urines de la nuit ou au moins 3h après la miction précédente.

Recueillir le premier jet d'urines directement dans le flacon stérile.

Identifier le flacon d'urine.

Faire parvenir le plus rapidement possible au laboratoire (à température ambiante dans les 02 heures qui suivent le prélèvement ou entre +2°C à +8°C dans les 12 heures qui suivent le prélèvement)

MODE OPERATOIRE SPECIAL POUR RECHERCHE DE MYCOBACTERIES :

Il s'agit d'un examen de seconde intention devant faire l'objet d'une prescription spécifique ultérieure au vu des premiers résultats de la recherche de bactéries banales.

Récupérer **la totalité des premières urines** émises le matin, après restriction hydrique depuis la veille au soir et ce 3 jours consécutifs.

MODE OPERATOIRE SPECIAL POUR PRELEVEMENT PAR PONCTION VESICALE SUS PUBIENNE (Non réalisé au laboratoire)

C'est une technique spécialisée surtout utilisée en cas de recueil impossible par voie normale. La vessie doit être pleine et repérable (la dernière miction doit remonter à 4 à 5 heures).

Après désinfection minutieuse de la peau, ponctionner directement l'urine dans la vessie à l'aide d'une seringue. Lors de ce prélèvement, les premières gouttes d'urines, potentiellement contaminées, doivent être éliminées.

RECUEIL DES URINES DE 24 HEURES

Le premier jour, au lever, éliminer la totalité de la première urine dans les W.C. et noter l'heure exacte.

Pendant les 24 heures suivantes (journée et nuit), recueillir **TOUTES** les urines dans le (ou les) flacon(s) (à maintenir de préférence au frais) y compris celles du lendemain matin à la même heure, précédemment notée. Utiliser des flacons propres (bouteilles d'eau par exemple).

Apporter le flacon rapidement au laboratoire

Il est capital de faire comprendre au patient que toute erreur dans la réalisation de ce protocole et donc sur le volume d'urines faussera directement le résultat (rendu en « masse par 24 heures »).

Les analyses suivantes nécessitent le recueil des urines de 24 heures :

- acide urique urinaire, calcium urinaire, cortisol urinaire, créatinine urinaire, glucosurie, ionogramme urinaire, magnésium urinaire, microalbuminurie, phosphore urinaire, protéinurie, urée urinaire.

RECUEIL D'URINES POUR LE « COMPTE D'ADDIS » (H.L.M.)

Cet examen se pratique pendant une période de 3 heures, en position allongée et donc le plus souvent pendant les 3 heures qui précèdent l'heure habituelle de lever.

Trois heures avant le lever (utiliser éventuellement un réveil !), éliminer la totalité de vos urines dans les W.C. et noter l'heure exacte.

Boire environ un quart de litre d'eau (2 verres).

Se recoucher et rester allongé, au repos et à jeun.

Trois heures exactement après l'heure retenue, après une toilette locale, recueillir la totalité des urines de 3 heures dans le flacon et l'apporter au laboratoire.

NB : cet examen ne peut être pratiqué chez des personnes incontinentes car c'est une épreuve qui nécessite de s'abstenir d'uriner 3 heures d'affilée.

EXAMEN PARASITOLOGIQUE DES URINES POUR LA RECHERCHE DE SCHISTOSOMA HAEMATOBIIUM

Recueillir les urines du matin, émises après effort (exemples : marche rapide ou monter rapidement 2 ou 3 fois un escalier) et en forçant en fin de miction dans le but de détacher les œufs de la paroi vésicale

PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS POUR LA RECHERCHE DE BACILLE DE KOCH (BK)

Les modalités de prélèvement, de transport, et de conservation des échantillons en vue de la recherche des bacilles de Koch et autres mycobactéries sont définies dans le manuel de prélèvement de l'unité des Mycobactéries **MYCO PRE PO-001**.

Dans les formes pulmonaires, privilégier les produits de l'expectoration spontanée. Comme les émissions de bacilles de la tuberculose sont intermittentes, les examens bactériologiques doivent être répétés. Le nombre optimal de prélèvements est de 2. Les crachats doivent être recueillis dans des pots stériles fournis par le laboratoire.

S'il est difficile d'obtenir une expectoration, le prélèvement du contenu gastrique par « tubage », réalisé le matin au réveil, à jeun, avant le lever du patient peut être réalisé.

Prélèvement à réaliser en milieu hospitalier

Pour plus d'informations, contacter le laboratoire des Mycobactéries de l'Institut Pasteur de Madagascar.

RECUEIL DES SELLES POUR LA COPROCULTURE

Réaliser le prélèvement dans les premiers jours de la maladie et avant le début de l'antibiothérapie ou autres thérapeutiques intestinales (charbon...)

Venir chercher au laboratoire un pot stérile pour réaliser le prélèvement.

Selles liquides :

Recueillir directement les selles dans le pot fourni par le laboratoire ou dans un récipient propre.

Selles molles ou moulées :

Recueillir les selles dans le pot fourni par le laboratoire ou dans un récipient propre

A l'aide d'une spatule, mettre un échantillon dans le pot.

Rapporter le pot dans son sachet plastique le plus rapidement possible au laboratoire.

En cas de prise en charge technique différée, les selles sont à conserver à une température comprise entre +2°C et +8°C.

NB : un échantillon de selles de la taille d'une noix suffit. Ne pas remplir le pot. Eviter la souillure par les urines

RECUEIL DES SELLES POUR COPROCULTURE CAS PARTICULIERS (Nourrisson ou personne portant des couches)

Ne pas apporter la couche au laboratoire

Transférer les selles dans le pot fourni par le laboratoire avec une spatule.

Rapporter le pot dans son sachet plastique le plus rapidement possible au laboratoire.

En cas de selles totalement liquides, un écouvillonnage rectal sera pratiqué au laboratoire

RECUEIL DES SELLES POUR LA RECHERCHE DE *Helicobacter pylori*

Recueillir les selles dans un récipient propre ou dans le pot fourni par le laboratoire

A l'aide d'une spatule, mettre un échantillon dans le pot.

Apporter l'échantillon au laboratoire dans les 06heures qui suivent le prélèvement sinon, le stocker entre 2°C et 8°C.

NB : un échantillon de selles de la taille d'une noix suffit. Ne pas remplir le pot. Eviter une souillure par les urines

RECUEIL DES SELLES POUR LA RECHERCHE DE SANG *(Recherche spécifique de l'hémoglobine humaine)*

Ne pas consommer pendant 2 à 3 jours avant le recueil des selles

- d'alcool, viande crue, vitamine C (plus de 250 mg/jour)
- ni de médicaments à base d'aspirine ou dérivés
- ni d'autres anti-inflammatoires.

Eviter les saignements des gencives lors du brossage de dents.

Pour les femmes, ne pas pratiquer le recueil pendant la période des règles.

Pratiquer 3 recueils différents, 3 jours consécutifs, en apportant chaque jour le flacon au laboratoire.

NB : un échantillon de selle de la taille d'une noix suffit. Ne pas remplir le pot, Eviter une souillure par les urines

RECUEIL DES SELLES POUR LA RECHERCHE D'AMIBES

Les analyses doivent être réalisées sur des selles fraîchement émises.

Eviter une souillure par les urines

Faire le prélèvement de préférence au laboratoire ou l'apporter le plus rapidement possible au maximum dans les 30 minutes qui suivent le prélèvement.

NB : un échantillon de selle de la taille d'une noix suffit. Ne pas remplir le pot. Bien fermer le récipient.

REALISATION D'UN SCOTCH-TEST POUR RECHERCHE D'OXYURES *(« test de Graham »)*

Appliquer le matin, **avant la toilette et les premières selles**, un morceau de Scotch adhésif **transparent** au niveau de la marge anale.

Coller ensuite le Scotch à plat sur une lame de verre.

RECOMMANDATIONS POUR UN PRELEVEMENT GYNECOLOGIQUE

Pas de rapport sexuel au moins 48 heures avant le prélèvement.

Pas de douche ou irrigation vaginale ni toilette intime la veille et le jour du prélèvement (lavage externe doux possible).

Pas d'usage local de gel, ni d'ovule 48 heures avant le prélèvement.

Le prélèvement doit être fait en dehors des règles.

Le prélèvement est réalisé au laboratoire.

RECUEIL DE SPERME EN VUE D'UN SPERMOGRAMME OU SPERMOCULTURE

Une fiche d'instruction doit être récupérée au préalable au laboratoire et à rendre avec le prélèvement.

Le recueil de sperme est effectué au laboratoire de préférence (le transport du sperme altère la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes) **avant 11 heures (réception du prélèvement au laboratoire)**.

Uriner avant de réaliser le recueil. Se laver les mains. Nettoyer la verge avec de l'eau savonneuse ou avec de la lingette antiseptique et rincer ensuite avec de l'eau bouillie ou avec du sérum physiologique. Effectuer le recueil par masturbation, en une seule fois, dans le flacon stérile fourni par le laboratoire.

Si le recueil a été effectué à domicile : apporter le flacon rapidement (moins de 30 minutes) au laboratoire sans lui faire subir de variations importantes de température (pas de passage au réfrigérateur...) et à l'abri de la lumière. Il est possible de transporter le flacon dans son sachet sous une aisselle par exemple pour le maintenir à la chaleur corporelle.

Le flacon contenant le sperme doit être déposé directement au comptoir de réception des prélèvements apportés avant la prise en charge administratif (enregistrement, règlement des frais).

NB : avant le recueil, respecter une abstinence sexuelle (pas de rapports sexuels) de 3 jours minimum à 5 jours maximum.

REALISATION D'UN TEST DE HÜHNER

PRELEVEMENT SUR RENDEZ-VOUS DE PREFERENCE

Ce test post-coïtal doit être réalisé en période pré-ovulatoire la veille ou l'avant-veille de la montée thermique (entre le 10^e et le 12^e jour du cycle si celui-ci est de 28 jours) ou se conformer à la prescription médicale. Une fiche d'instruction doit être récupérée au préalable au laboratoire et à rendre au moment du prélèvement.

Après une **abstinence sexuelle de 3 à 5 jours, avoir un rapport sexuel entre 0h00 et 03h00 du matin. Après le rapport, restez allonger environ 30 minutes.**

Sans avoir fait de toilette intime et en dehors de tout traitement local, se présenter au laboratoire sur **rendez-vous** entre 8h et 11h pour réaliser un prélèvement vaginal.

Ce test ne doit être pratiqué qu'après avoir réalisé un spermogramme chez le partenaire.

Dans tous les cas noter sur la fiche d'instruction:

- le jour du cycle,
- l'heure du rapport.

UN DOSAGE HORMONAL

Pour les prélèvements hormonaux à effectuer à jour précis et/ou heure précise (ex : Cortisol 08h, FSH, LH,... à faire au 2^{ème} jour ou 3^{ème} jour du cycle), il est recommandé de prendre un RDV au préalable.

DOSAGE DE MEDICAMENTS

S'informer auprès du laboratoire selon le type de médicament à doser et conformément aux instructions du laboratoire sous-traitant.

PRELEVEMENT PHARYNGE

Prélèvement à réaliser avant la mise en route du traitement antibiotique de préférence.

- Dégager la cavité buccale à l'aide d'un abaisse-langue.
- Éviter le contact avec la cavité buccale et la langue.
- Ecouvillonner les amygdales, des piliers du voile du palais, muqueuses pharyngées et toutes surfaces d'aspect pathologique.
- Préconiser deux écouvillons (un avec un milieu de transport) dont l'un sert à effectuer un étalement sur lame, l'autre avec milieu de transport étant destiné à la mise en culture.

A ACHEMINER RAPIDEMENT AU LABORATOIRE.

PRELEVEMENT D'EXPECTORATION

Le prélèvement d'expectoration consiste à collecter l'exsudat purulent produit par l'arbre bronchique enflammé, lors d'un effort de toux. Il s'agit de mettre en évidence le germe en cause dans l'infection, en diminuant la contamination par la flore oropharyngée.

Pour cela, les crachats doivent être recueillis :

- A jeun, 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 à l'eau stérile,
- Lors d'un effort de toux profonde ou par kinésithérapie: en informant le patient de la finalité de l'examen pour l'inciter à produire des mucosités bronchiques et non pas seulement de la salive (qui peut diluer l'échantillon et le contaminer).

Le risque de contamination étant élevé lorsque le malade tousse, le prélèvement doit être effectué à l'extérieur ou dans une pièce isolée devant une fenêtre ouverte et loin de toute personne.

Le flacon contenant le prélèvement doit être soigneusement fermé et doit être **ACHEMINE LE PLUS RAPIDEMENT POSSIBLE AU LABORATOIRE** (en moins de 2h).

NB : Le prélèvement doit être réalisé avant tout traitement anti-infectieux. Sinon, il convient impérativement de le signaler au laboratoire afin que le médecin soit informé pour interpréter les résultats.

Pour la **recherche de mycobactéries (diagnostic de la tuberculose)**, deux échantillons

de crachats doivent être recueillis selon les modalités citées ci-dessus. Le deuxième échantillon de crachat pourra être recueilli 1 heure après ou le lendemain matin au réveil.

Contacter le laboratoire des Mycobactéries de l'Institut Pasteur de Madagascar pour obtenir plus d'informations.

PRELEVEMENT DE LAVAGE BRONCHO-ALVEOLAIRE (LBA) et MINI-LBA

Le LBA est réalisé sous fibroscope. Il consiste à instiller après blocage du broncho-fibroscope dans une bronche segmentaire ou sous-segmentaire du sérum physiologique. Un volume total de 100 à 200 ml est administré par aliquots successifs de 50ml. Les échantillons de 50ml de sérum physiologique sont instillés en 4 à 6 fois. La première aliquote qui représente la fraction bronchique ne peut pas être utilisée pour l'analyse microbiologique. Cette technique permet de recueillir entre 20% et 60% de la quantité injectée.

Un volume inférieur de 20 à 25ml, ou **mini-lavage**, peut être instillé, souvent à l'aveugle, afin de recueillir 2 à 3 ml d'échantillon.

Adressé en moins de 2h au laboratoire

PRELEVEMENT DISTAL PROTEGE (PDP)

L'aspiration bronchique à l'aide d'un cathéter distal protégé est réservée aux malades intubés et ventilés. Ce prélèvement est fait à l'aveugle. Après injection d'1 ml de sérum physiologique et ré-aspiration à la seringue, l'extrémité du cathéter ou la brosse est coupée à l'aide de ciseaux stériles pour qu'elle « tombe » dans le sérum physiologique et placée dans un tube stérile avant d'être adressée en moins de 2h au laboratoire.

FIBRO-ASPIRATION et ASPIRATION ENDOTRACHEALE

Ce prélèvement est réalisé lors d'une fibro-bronchoscopie chez des patients atélectasiques ou si un doute persiste sur la présence d'un corps étranger endobronchique ou chez les malades intubés ou trachéotomisés à l'aveugle. Un système d'aspiration intense (poche d'aspiration reliée par 2 tuyaux au manomètre de dépression branché au vide mural) relié à la sonde d'aspiration stérile introduite dans la trachée permet le recueil des sécrétions.

Si les sécrétions sont peu abondantes, le médecin peut injecter un petit volume de sérum physiologique qui sera ré-aspiré et réalisera ainsi un **mini-lavage**.

Acheminer au laboratoire dans les 2h qui suivent le prélèvement **au-delà entre 02°C à +8°C.**

PRELEVEMENT DE PUS POUR LA RECHERCHE DE BACTERIES PATHOGENES

1- PUS SUPERFICIEL

Réalisation d'un écouvillonnage

Passer un écouvillon stérile de coton sur une surface de 1 cm² dans un mouvement de zigzag combiné à un mouvement de rotation. Placer de préférence l'écouvillon dans un milieu de transport.

- Lésion superficielle fermée

Nettoyer la surface de la lésion avec une solution antiseptique afin d'éliminer la flore commensale puis essuyer avec une compresse imbibée d'eau physiologique pour éliminer toute trace d'antiseptique. Laisser sécher.

Le prélèvement peut être réalisé de 2 façons :

- Aspirer le pus au travers de la peau à la seringue avec une aiguille introduite dans le foyer infectieux. Et si le volume du prélèvement est faible, ajouter quelques gouttes de sérum physiologique stérile à l'aiguille.

Identifier la seringue avec le code à barre correspondant.

- Ouvrir la lésion avec la pointe d'un vaccinostyle. Imbiber un écouvillon avec quelques gouttes de sérum physiologique et prélever la sécrétion à l'aide de l'écouvillon. Réaliser 2 écouvillonnages, le premier est destiné pour l'examen direct et le deuxième pour la culture bactériologique.

- Lésion superficielle ouverte

Enlever le pansement s'il y en a.

Nettoyer avec la solution antiseptique le pourtour de la lésion à prélever afin d'éliminer la flore commensale.

Débarrasser la plaie des souillures superficielles avec des compresses stériles humidifiées avec de l'eau physiologique.

Procéder à l'écouvillonnage de la lésion en essayant de prélever les sécrétions les plus purulentes et en évitant de contaminer le prélèvement par des bactéries colonisant les alentours de la lésion.

Procéder à l'identique avec un deuxième écouvillon.

En présence de particules purulentes au bord de la lésion : prélever à la curette.

En cas de traitement antibiotique topique (local) : le traitement sera stoppé 48 heures avant le prélèvement pour éviter les faux résultats.

Le prélèvement doit être acheminé sous 2 heures à température ambiante au laboratoire.

Si le transport doit durer plus de 2 heures ou que la prise en charge de l'analyse est différée, l'échantillon doit être transporté dans un milieu de transport.

Contactez le laboratoire pour les prélèvements d'escarres, de morsure, d'ulcération, de plaies chez un brûlé et le pied diabétique infecté.

2- PUS PROFOND : le type de prélèvement est réalisé seulement en milieu hospitalier. A acheminer au laboratoire dans les 02 heures au-delà entre 02°C à +8°C.

PRELEVEMENT POUR HEMOCULTURE

- Le flacon d'hémoculture est fourni par le laboratoire. Il est à conserver à température ambiante sans précautions particulières.
- Le prélèvement sera réalisé de préférence au moment d'un pic fébrile.
- Le paramètre le plus influent sur la sensibilité de l'examen est la quantité totale de sang mise en culture lors d'un épisode clinique plus que le nombre de flacons.

Il existe une relation directe entre le volume total de sang cultivé et le rendement de la technique. Un volume insuffisant peut induire des faux négatifs.

Le volume requis est mentionné dans la feuille de recommandation jointe au kit d'hémoculture (cf ci-dessous).

**Une hygiène rigoureuse doit être respectée pour éviter le risque de contamination.
Prendre la température du patient avant la prise de sang**

Ne jamais réfrigérer les flacons. Avant utilisation, ils sont conservés à température ambiante.

- Se laver et se désinfecter les mains,
 - Retirer la capsule de protection du flacon, désinfecter le bouchon du flacon d'hémoculture à l'aide d'alcool ou de solution iodée,
 - Désinfecter soigneusement la zone de ponction veineuse,
- Eviter le prélèvement par le biais des cathéters ou des voies fortement colonisées par des bactéries.

A. Si prélèvement à l'aide du dispositif de prélèvement

- Relier l'adaptateur au dispositif de prélèvement,
- Pratiquer la ponction veineuse.

En fonction des consommables à disposition, ensemencher en premier le **flacon aérobic** avant le **flacon anaérobic**.

- Vérifier que le sang s'écoule bien du patient vers le flacon. Eviter un éventuel reflux. Prélever une quantité de sang suffisante. S'aider du volume requis mentionné dans la fiche de recommandation (ci-dessous)

B. Si prélèvement à l'aide de seringue et d'aiguilles classiques :

- Prélever de façon aseptique la quantité de sang requise,
- Changer l'aiguille avant d'inoculer le flacon d'hémoculture,
- Introduire stérilement le sang à travers le centre du bouchon en caoutchouc du flacon.
- Désinfecter à nouveau après le prélèvement le bouchon du flacon.
- Replacer la cape de protection du flacon.
- Homogénéiser le sang et le bouillon par retournement doux du flacon.
- Bien identifier le (s) flacon (s).
- Noter la date et heure de prélèvement et la température du patient.

Acheminer le prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire à température ambiante. **Ne jamais réfrigérer ni pré-incuber les flacons.**

Flacon d'Hémoculture et volume de sang à prélever :



**NE RIEN COLLER SUR LE COTE
PORTANT LA DATE DE PEREMPTION.**

POIDS DU PATIENT (Kg)	Volume de sang à prélever (ml)
≤ 1	0.5
1.1 – 2	1
2.1 – 12.7	2
12.8 – 36.3	4 à 10
> 36.3 (Adulte)	4 à 10

Note : Le respect de ces recommandations assure la Qualité du prélèvement et garantit la Qualité du résultat

PRELEVEMENTS DE PEAU ET DE PHANERES A VISEE MYCOLOGIQUE

Prélèvement à réaliser avant la mise en route de tout traitement antifongique ou à distance si celui-ci a été débuté.

- Peaux : identifier la zone lésée. A l'aide d'un vaccinostyle ou d'une curette, prélever les squames en périphérie de la lésion, les déposer dans une boîte de pétri.
- Cheveux, poils : identifier la zone lésée, prélever les poils et cheveux à l'aide de la pince à épiler (racines nécessaires), en zone proximale (à la limite de la peau saine et de la peau malade). Déposer les échantillons dans une boîte de pétri.
- Ongles : à l'aide d'une coupe ongle, prélever l'ongle jusque dans la partie la plus proximale, à la limite de l'ongle sain et de l'ongle malade. Gratter les squames à l'aide d'un vaccinostyle ou une curette. Déposer les échantillons dans une boîte de pétri.
- En cas de lésion suintante, écouvillonner le pus et gratter le plancher de la lésion.

Individualiser les prélèvements correspondant à chaque localisation

Le conditionnement et le transport de ces produits biologiques se font en récipients stériles (tubes, flacons, petite boites de Pétri ...) bien fermés.

Pour les écouvillons, il est conseillé d'ajouter quelques gouttes de sérum physiologique stérile pour éviter la dessiccation.

De manière générale, les champignons survivent longtemps à sec et à température ambiante ce qui permet un envoi à distance sans risque de détérioration de ces prélèvements.

PRELEVEMENT POUR LA RECHERCHE DE MICROFILAIRES

Suivant l'espèce suspectée, le moment opportun de la recherche des Microfilaires dans le sang varie, cependant un prélèvement systématique à **midi** et **minuit** est recommandé :

- L'espèce *Loa loa* est particulièrement abondante dans le sang périphérique le jour.
- L'espèce *Wuchereria bancrofti* est nocturne.
- La variété *pacifica* de *Wuchereria bancrofti* est apériodique.

Un prélèvement de sang total avec anticoagulant EDTA permettra de rechercher les microfilaires. Les microfilaires peuvent se conserver 3 semaines entre 2°C à 8°C avec l'EDTA.

PRELEVEMENT OCULAIRE

Prélèvement à réaliser avant la mise en route de tout traitement local ou général (antiseptique ou antibiotique) et avant toute toilette oculaire depuis plusieurs heures. Si le patient a reçu un tel traitement, celui-ci doit être suspendu depuis au moins 24h.

- Conjonctivite : réalisable au laboratoire

Les prélèvements bactériologiques oculaires concernent essentiellement les prélèvements conjonctivaux.

Frotter doucement la conjonctive inférieure avec l'écouvillon en partant de l'angle externe pour aboutir à l'angle interne de l'œil où l'on récupère la sécrétion.

- Blépharite : réalisable au laboratoire.

Prélever les croûtes palpébrales et un ou deux cils à la pince à épiler stérile.

- Orgelet et chalazion : **Prélèvement à réaliser en milieu hospitalier.**

Inciser la tuméfaction avec un vaccinostyle stérile pour prélever le pus (à la pipette ou à l'écouvillon).

- Dacryocystite : **Prélèvement à réaliser en milieu hospitalier.**

Recueillir le pus au niveau des points lacrymaux palpébraux à l'aide d'un écouvillon après pression sur les sacs lacrymaux.

Faire un deuxième écouvillonnage pour l'examen direct.

- Endophtalmie : **Prélèvement à réaliser en milieu hospitalier.** Prélever l'humeur aqueuse,
- Kératites : **Prélèvement à réaliser en milieu hospitalier.**

Le grattage cornéen est le prélèvement de référence. Gratter avec du matériel ophtalmologique la base et les berges de l'abcès après élimination des débris nécrotiques et fibrineux.

Les prélèvements doivent être acheminés sous 4 heures à température ambiante au laboratoire. Si le transport doit durer plus de 4 heures, l'échantillon est conservé à +4°C.

TEST DE « O'SULLIVAN » ou DEPISTAGE DE DIABETE GESTATIONNEL

A EFFECTUER IMPERATIVEMENT AU LABORATOIRE.

Le jeune n'est pas obligatoire.

Faire boire une solution de **50g** de glucose délivrée par le laboratoire.

Noter l'heure exacte : T=0 et lui demander de rester à jeûn pendant l'épreuve.

Pratiquer une prise de sang sur tube sec ou « fluorure-oxalate » à T=60'.

NB : il est impératif que la patiente absorbe la totalité de la solution de glucose **et surtout qu'elle n'ingère plus rien jusqu'à la fin de l'épreuve.**

Si vomissements, il faut annuler l'épreuve et refaire l'analyse.

DEPISTAGE DE DIABETE GESTATIONNEL SELON LES RECOMMANDATIONS « OMS »

A EFFECTER IMPERATIVEMENT AU LABORATOIRE

Jeune obligatoire

Pratiquer une prise de sang à T0.

Faire boire une solution avec **75g de glucose préparée par le laboratoire.**

Noter l'heure exacte : T=0 et lui demander de rester à jeûn et au repos pendant l'épreuve.

Pratiquer une seconde prise de sang sur tube sec ou « fluorure-oxalate » à T=120'.

NB : il est impératif que la patiente absorbe la totalité de la solution de glucose **et surtout qu'elle n'ingère plus rien jusqu'à la fin de l'épreuve.**

Si vomissements, il faut annuler l'épreuve et refaire l'analyse.

**HYPERGLYCEMIE PROVOQUEE PAR VOIE ORALE
POUR CONFIRMATION D'UN DIABETE GESTATIONNEL HPGO
(au cours de la grossesse)**

A EFFECTUER IMPERATIVEMENT AU LABORATOIRE

La patiente doit être à jeûn depuis la veille au soir. Elle doit avoir une alimentation normale en hydrates de carbone. Les médicaments interférant sur la glycémie devront si possible être arrêtés : hyperglycémisants (corticoïdes, oestrogènes, diurétiques thiazidiques et hypokaliémisants, inhibiteurs calciques, clonidine, Béta bloquants, phénytoïne, colchicine) et hypoglycémisants (aspirine, IMAO, perhexiline, quinine, disopyramide). Elle doit rester au repos et ne doit pas fumer pendant l'épreuve.

Pratiquer une première prise de sang sur tube sec ou « fluorure-oxalate » : T=0

Faire absorber une solution de **100 g** de glucose délivrée par le laboratoire.

Noter l'heure exacte.

Pratiquer une prise de sang sur tube sec ou « fluorure-oxalate » :60' après : T=60 (obligatoire)

Pratiquer une prise de sang sur tube sec ou « fluorure-oxalate » :120' après : T=120 (obligatoire)

Pratiquer une prise de sang sur tube sec ou « fluorure-oxalate » :180' après : T=180 (obligatoire)

NB : il est impératif que la patiente absorbe la totalité de la solution de glucose et surtout qu'elle n'ingère plus rien jusqu'à la fin de l'épreuve.

Si vomissements, il faut annuler l'épreuve et le refaire.

HYPERGLYCEMIE PROVOQUEE SIMPLIFIEE(HGPS)

A EFFECTER IMPERATIVEMENT AU LABORATOIRE

Dépistage du diabète : chez l'adulte, femmes non enceintes et enfants.

(Glucose ingéré pour les enfants : 1.75g/kg sans dépasser 75g)

Pratiquer une prise de sang à jeûn.

Faire boire une **solution** avec 75 g de **glucose préparée par le laboratoire.**

Noter l'heure exacte : T=0 et lui demander de rester à jeûn pendant l'épreuve.

Pratiquer une seconde prise de sang à T=120'.

GLYCEMIES POST-PRANDIALES (GPP)

Pour les glycémies à une heure prescrite (exemple à 11h, à 14h, cycle...), les différentes prises de sang sont effectuées à l'heure définie, sur tube sec ou « fluorure-oxalate », avec une marge de 5 à 10 minutes tolérée.

Pour les glycémies post-prandiales, c'est le délai après la fin du repas qui déterminera l'heure de la prise de sang (120 minutes après)

**TEST AU SYNACTHENE IMMEDIAT
(TEST DE STIMULATION DE LA FONCTION GLUCOCORTICOIDE ET
ANDROGENIQUE DE LA CORTICOSURRENALE)**

A EFFECTER sur PRENDRE UN RDV.

Au repos, pratiquer une première prise de sang sur tube sec, aux environs de 8 heures du matin : T=0

Injecter en IM une ampoule de 0,25 mg de « Synacthène ® immédiat » **apporté par le patient et à conserver à +4°C jusqu'au jour d'utilisation.**

Noter l'heure exacte.

Pratiquer une prise de sang sur tube sec (pour COR) 60' après l'injection : T=60

PRELEVEMENT PLACENTAIRE

A EFFECTUER EN MILIEU HOSPITALIER OU MATERNITE (salle de travail)

Considérer tout produit biologique comme potentiellement contaminant. Réaliser les prélèvements en portant des gants et une blouse. Le port de masque et des lunettes est recommandé.

Avant d'effectuer le prélèvement, il faut éliminer l'excès de sang avec une compresse stérile aussi bien sur la face maternelle que fœtale du placenta.

Biopsie placentaire

Un échantillon du placenta peut être prélevé par biopsie, à l'aide d'un bistouri, d'une zone de 1 cm² d'aspect macroscopique anormal ou, à défaut, près de l'insertion du cordon si le placenta est apparemment normal.

Il est recommandé de prélever toute l'épaisseur du placenta.

La carotte placentaire recueillie est déposée dans un flacon stérile.

Frottis placentaire

Réaliser deux frottis : face maternelle et face fœtale du placenta.

Avec le petit bord d'une lame, racler la face fœtale du placenta de l'insertion du cordon vers les membranes puis étaler les produits recueillis en couche épaisse sur une autre lame.

Procéder de la même façon pour la face maternelle. Les deux lames sont ensuite séchées à l'air libre.

Les deux étalements doivent être bien identifiés et bien rangés dans un porte-lame avant d'être acheminés au laboratoire.

Le morceau de placenta recueilli est déposé dans un flacon stérile, bien fermé. Il faut l'acheminer le plus rapidement possible au laboratoire, à défaut, le conserver entre +2°C et +8°C.

2. Modes opératoires relatifs aux analyses d'anatomo-cytopathologie (ACP)

CONSEILS POUR LA REALISATION D'UN PRELEVEMENT

Transmettre des pièces opératoires entières, non fragmentées, orientées et repérées
Ne pas les déformer avec la pince.

Pas de débris coagulés (bistouri électrique)

Prévoir un flacon de transport **à goulot large et à capuchon vissant.**

Pour les fragments minuscules, l'interprétation n'est pas toujours fiable (ex: ponction biopsie).

Bien identifier les flacons : nom, prénom, âge, type de prélèvement, numéroté (si plusieurs flacons).

Mettre l'étiquette d'identification sur la partie la plus large du flacon et contenant le prélèvement (pas sur le capuchon, ni sur le sachet, ni sur la partie haute d'une bouteille plastique).

Bien mentionner les repères sur la feuille de prescription.

Bien renseigner la fiche de renseignements pour examen ACP (disponible sur le site internet de l'IPM).

ACHEMINEMENT D'UN PRELEVEMENT FIXE

Introduire le fragment dans le flacon préalablement rempli de formol à 10% (et non l'inverse).

Le volume de fixateur est de 10 fois le volume de la pièce.

Le délai de fixation est de 24 à 72 heures (même plus).

Ne pas utiliser de fixateur autre que le formol dilué à 10% (le liquide de Bouin est abandonné car il est toxique et des techniques de biologie moléculaire ne peuvent être réalisées).

ACHEMINEMENT D'UN ETALEMENT SUR LAMES

Prévoir au moins deux lames identifiées :

1 lame fixée au cytospray ou laque à cheveux,

1 lame séchée à l'air ambiant (coloration May-Grünwald-Giemsa),

± 1 ou 2 lames (étude histochimique éventuelle).

Bien identifier les lames (cf. pour l'examen anapath).

ACHEMINEMENT D'UN LIQUIDE POUR ETUDE CYTOLOGIQUE

Prélèvement dans un tube sec et stérile et acheminement immédiat (sinon, conserver le tube à + 4°C).

Bien identifier les tubes (cf. pour l'examen anatomo-cytopathologique).

MANUEL	CBC MP-001
MANUEL DE PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS PRIMAIRES	Version : 6
	Date d'application : 20/08/2018

REDACTEUR	VERIFICATEUR	APPROBATEUR	DESTINATAIRES
Lovasoa RAMPARANY Médecin biologiste	Frédérique RANDRIANIRINA Médecin biologiste	Frédérique RANDRIANIRINA Directeur du laboratoire	Ensemble du personnel du CBC. Personnes réalisant des prélèvements à l'extérieur du CBC.
Date : 09/08/2018	Date : 10/08/2018	Date : 13/08/2018	
Visa : « Original signé »	Visa : « Original signé »	Visa : « Original signé »	

Historique des modifications :

Date	Version	Nature des modifications
01/11/2010	1	Création du document
01/01/2013	2	Revue complète du Manuel
01/02/2015	3	Précision dans Introduction Rajout et précision dans §I. Organisation du laboratoire Rajout dans Heure de prélèvement pour le centre de prélèvement Rajout des précisions dans extrait de mode opératoire prélèvement sanguin Création du §IV. Critères d'acceptation et de refus des échantillons Des rajouts dans certains extraits de recueil des prélèvements
11/07/2016	4	Revue complète du document
26/03/2018	5	Précision dans Introduction Mise à jour du tableau 1 (Jeun et analyses) Mise à jour du tableau 2 (Choix de tubes en fonction des analyses) Mise à jour dans certaines recommandations de prélèvements
20/08/2018	6	Mise à jour du numéro téléphone pour secrétariat Ankorondrano et suppression du paragraphe concernant les prélèvements à domicile dans § I. Organisation du laboratoire Rajout dans § III. 1. Rôle du médecin prescripteur. Précision dans §III. 2. Vérification de l'identité du patient et enregistrement de la demande. Rajout de précision dans §III. 4. Préparation du patient : Heure de prélèvement. Correction du nom du laboratoire CERBA, mise à jour du tableau 2 (Choix du tube de prélèvement), mise à jour image pot à selles et suppression des tubes pour le laboratoire CERBA dans §III. 5. Matériel de prélèvement Précision dans §III. 6. Identification de l'échantillon et §III.7. Règles de conservation des échantillons avant leur réception au laboratoire. Fusion § Gestion des non-conformités et Critères d'acceptation et de refus d'échantillons,

Documents associés :

- CBC MP-001/01 : Feuille de prescription
- CBC MP-001/02 : Catalogue des analyses du CBC
- CBC MP-001/03 : Liste des instructions relatives aux prélèvements – Extrait du manuel de prélèvement des échantillons primaires ou Extrait des modes opératoires
- CBC MP-001/04 : Instructions relatives au prélèvement d'urine pour un examen cytobactériologique (E.C.B.U.) chez un enfant
- CBC MP-001/05 : Instructions relatives au prélèvement d'urine pour un examen cytobactériologique (E.C.B.U.) chez un adulte
- CBC MP-001/06 : Instructions relatives au prélèvement d'urine de 24 heures
- CBC MP-001/07 : Instructions relatives au prélèvement d'urine pour le « compte d'Addis » (HLM)
- CBC MP-001/08 : Instructions relatives au prélèvement d'expectoration
- CBC MP-001/09 : Instructions relatives au prélèvement pour une hémoculture
- CBC MP-001/10 : Instructions relatives au prélèvement sanguin
- CBC MP-001/11 : Instructions relatives au prélèvement urétral
- CBC MP-001/12 : Instructions relatives au prélèvement d'origine génitale chez l'homme pour un spermogramme et/ou spermoculture
- CBC MP-001/13 : Instructions relatives au prélèvement vaginal
- CBC MP-001/14 : Instructions relatives au prélèvement d'origine génitale chez la femme pour un test de Hühner
- CBC MP-001/15 : Instructions relatives au prélèvement de pus pour la recherche de bactéries pathogènes