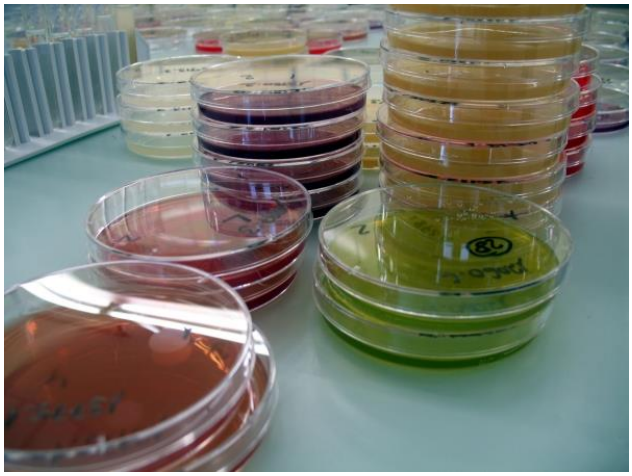
MANUEL DE PRELEVEMENT

DU LABORATOIRE
ET DE
L'ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Version G



Approuvé par :	JEROME DARREYE,	RESPONSABLE DU CENTRE DE PRELEVEMENT

Seule la version électronique en vigueur fait foi. Elle annule et remplace la version précédente.

SOMMAIRE

I Introduction 3

II Présentation du Laboratoire et de l'Anatomie pathologique 3

III Du service de soins au Laboratoire 4

IV Prescription 4

IV.1 Demande d'examen ou feuille de prescription 4
IV.2 Prescription orale 5
IV.3 Information du patient 5

V Exécution de la prescription 5

V.1 Identification du patient avant le prélèvement 5
V.2 Les prélèvements de sang veineux 6
V.2.a Ordre de prélèvement des échantillons sanguins 6
V.2.b Choix des tubes 6
V.2.c Le prélèvement 6
V.3 Autres prélèvements sanguins 7
V.3.a Hémocultures 7
V.3.b Prélèvement artériel pour gazométrie 8
V.4 Prélèvements d'autre nature 8
V.5 Identification des échantillons 9

VI Elimination des déchets 10

VII Conditions de transport 11

VII.1 Organisation de l'acheminement 11
VII.2 Échantillons soumis à des conditions particulières d'acheminement 11
VII.3 Modification de la prescription à l'initiative du Laboratoire 11

VIII Stockage des échantillons au laboratoire 11

IX Présentation du catalogue général des examens de laboratoire 12

I Introduction

La phase préanalytique est une étape déterminante pour la qualité des résultats des examens de biologie médicale et d'anatomie pathologique.

Des consignes sont à respecter à chaque étape de la phase préanalytique.

L'objectif de ce manuel est de donner les informations nécessaires aux professionnels de santé pour qu'ils effectuent les prélèvements biologiques dans les meilleures conditions.

Ce manuel n'est pas exhaustif, le personnel du Laboratoire et de l'Anatomie pathologique reste à votre disposition en cas de doute ou si un renseignement complémentaire vous est nécessaire.

Documents de référence :

- Norme NF EN ISO 15189 – version en vigueur
- Norme NF EN ISO 22870 – version en vigueur
- Document COFRAC SH REF 02 – version en vigueur
- Manuel de certification des établissements de santé (version 2010) : réf 21

II Présentation du Laboratoire et de l'Anatomie pathologique

Le Laboratoire regroupe l'ensemble des activités de biologie médicale. Il réalise les examens de biologie médicale à visée diagnostique ou de suivi thérapeutique. Le Laboratoire participe également à de nombreux projets de recherche clinique.

Toutes les spécialités de la biologie médicale sont représentées par les services de :

- Bactériologie-Virologie-Hygiène
- Biochimie et Génétique moléculaire
- Hématologie biologique
- Cytogénétique, Génétique médicale et Biologie de la reproduction
- Immunologie et Immunogénétique
- Parasitologie-Mycologie
- Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacovigilance

La prise en charge des examens urgents de Bactériologie, Virologie, Parasitologie, Biochimie, Hématologie, Pharmacologie-Toxicologie est assurée 24 heures sur 24 et 7 jours sur 7.

Par ailleurs, **l'unité d'hygiène** fait partie intégrante du service de Bactériologie-Virologie-Hygiène et partage avec lui des techniques, du matériel et du personnel permettant une prise de décision rapide d'isolement de patients et d'alerte épidémiologique.

Le service d'Anatomie pathologique réalise les examens des pièces opératoires et des biopsies, il prend également en charge certains examens cytologiques et réalise des tests de génétique moléculaire pour les cancers solides.

Ces services sont situés dans le Centre de Biologie et de Recherche en Santé, excepté le service de Cytogénétique, Génétique médicale et Biologie de la reproduction, implanté dans l'Hôpital de la Mère et de l'Enfant et le Centre de Prélèvement :

Le centre de prélèvements accueille les patients qui, sur prescription médicale (interne ou externe au CHU de Limoges), ont besoin d'un prélèvement biologique (prélèvement sanguin veineux, artériel, capillaire, prélèvement infectieux, myélogrammes, prélèvement de sueur, cheveux,…) en vue d'analyses biologiques.

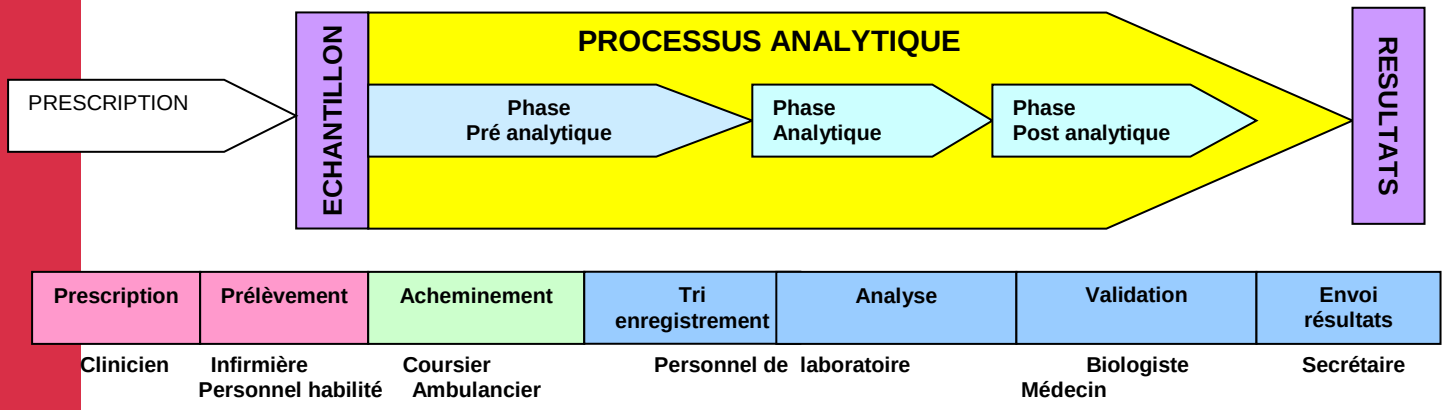
Ce centre de prélèvements, situé au rez de chaussée de l'hôpital Dupuytren au niveau de l'ascenseur A, est ouvert du lundi au vendredi, sans rendez-vous, sauf pour certains examens particuliers (tests d'explorations fonctionnelles et test à la sueur). **Renseignements : 05 55 05 80 00**

L'annuaire sur le site intranet du CHU de Limoges (Hermès), dans « liste des services », présente les coordonnées de chacun de ces services. Le site internet du CHU de Limoges, rubrique « nos services », présente les coordonnées, le personnel et les activités de chacun de ces services.

III Du service de soins au Laboratoire

Les examens de biologie médicale, et d'anatomie et cytologie pathologiques, font partie intégrante de la chaîne des soins. La réalisation des examens de laboratoire relève d'un ensemble de processus qui implique de nombreux professionnels, qui ont tous un rôle primordial dans la prise en charge du patient.

Processus d'un prélèvement



IV Prescription

IV.1 Demande d'examen ou feuille de prescription

Toute demande d'examen est une prescription médicale.

Les différents services du Laboratoire du CHU de Limoges ont élaboré des feuilles de prescription qu'il convient d'utiliser en interne pour toute demande d'examen. Ces feuilles de prescription sont actualisées au maximum tous les 2 ans et mises à disposition au magasin.

Lors de la mise à disposition d'une nouvelle version, les services de soin doivent éliminer les versions périmées.

Certains services de soins sont équipés de la prescription connectée élaborée en partenariat avec le Laboratoire. Dans ce cas, l'ordonnance éditée peut être jointe aux prélèvements biologiques.

Chaque prescription doit comporter :

- Les éléments relatifs à la prescription médicale

- L'identification du patient par une étiquette comportant : nom de famille, prénom, date de naissance, sexe
- L'identification du prescripteur et de son unité de rattachement (avec, si possible, le numéro de téléphone interne ou externe au CHU de Limoges)
- Les renseignements cliniques pertinents pour une bonne réalisation et l'interprétation de l'examen demandé
- La nature du prélèvement
- Le degré d'urgence du rendu de résultat
- L'examen demandé de façon précise

Il est à noter que certains examens exigent de disposer d'un consentement éclairé du patient ou de son représentant légal (génétique moléculaire constitutionnelle, diagnostic prénatal, dépistage néonatal,…) contresigné par le médecin prescripteur de l'examen (un double étant conservé dans le dossier médical du patient). Ce document est à joindre à la demande.

Les consentements sont imprimables depuis le catalogue des examens de laboratoire.

- Les éléments relatifs au prélèvement

- L'identification et la qualité de la personne ayant procédé au prélèvement
- Les dates et heures de prélèvement
- le cas échéant, les événements indésirables survenus pendant le prélèvement

IV.2 Prescription orale

Pour le cas particulier des examens ajoutés par le prescripteur après envoi de l'échantillon primaire au laboratoire, il est demandé, conformément à la procédure du laboratoire :

- de prendre contact avec le laboratoire pour s'assurer que l'examen complémentaire est réalisable sur l'échantillon déjà reçu au laboratoire en fonction
    - du délai
    - du type de prélèvement
    - de la quantité nécessaire…
- de renvoyer une feuille de prescription dûment remplie

Les demandes d'examen qui ne se conformeraient pas aux instructions données ci-dessus seront considérées comme non-conformes et traitées selon les procédures adaptées. Le service prescripteur en sera informé.

IV.3 Information du patient

Les patients doivent être informés et préparés en fonction de la nature précise de l'examen prescrit et des conditions particulières de prélèvement. Compte tenu de la variété des examens, il est nécessaire de s'assurer, avant toute action, des conditions de réalisation de chaque prélèvement, en consultant le **catalogue des examens de laboratoire** du CHU de Limoges. Ce catalogue est mis à jour en temps réel par chaque service. Il est disponible sur **l'intranet du CHU** (Hermès) et sur le site **internet du CHU de Limoges**.

Certains prélèvements demandent une information précise donnée aux patients et de ce fait une préparation particulière. Ceci concerne le myélogramme, les tests endocriniens dynamiques, certains tests parasitologiques, la gazométrie artérielle, l'ECBU …

Enfin, tout patient prélevé au sein du CHU doit être informé que, **sauf opposition signée de sa part**, le reliquat de ses échantillons biologiques à l'issue des analyses peut être utilisé à des fins de recherche sous forme anonymisée dans le cadre des autorisations ministérielles obtenues par le CHU de Limoges. En cas d'opposition du patient ou de son représentant légal, le personnel soignant doit lui faire **signer le formulaire d'opposition tripliqué** disponible dans les services de soins: un exemplaire est remis au patient, un exemplaire est conservé dans son dossier, un exemplaire est adressé par le service de soins à la cellule de gestion des oppositions du CHU. (Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation)

V Exécution de la prescription

Les personnels habilités à effectuer des prélèvements sanguins ou biologiques (en dehors des actes médicaux de type ponction pleurale, lombaire…) sont :

- les infirmières diplômées d'état
- les techniciens de laboratoire titulaires du Certificat de capacité pour effectuer des prélèvements sanguins en vue d'analyses de biologie médicale et de l'attestation de formation aux gestes et soins d'urgence de niveau 2
- les manipulateurs en électroradiologie médicale
- les sages-femmes
- les médecins
- les pharmaciens biologistes

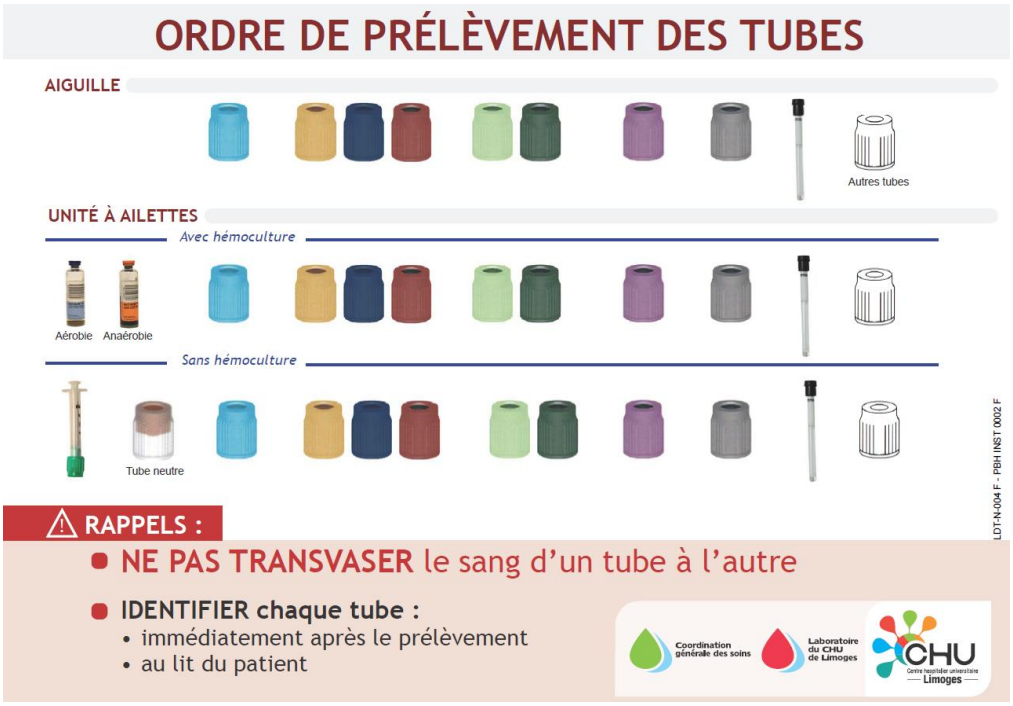
V.1 Identification du patient avant le prélèvement

Elle est réalisée par la personne effectuant le prélèvement, en faisant décliner au patient son identité (nom, prénom, date de naissance), chaque fois que cela est possible, ou en la faisant décliner par un accompagnateur fiable (personne de confiance, parent, personnel soignant,…). En cas de conscience altérée, la vérification du bracelet d'identification porté par le patient hospitalisé au CHU de Limoges, doit être faite.

V.2 Les prélèvements de sang veineux

V.2.a Ordre de prélèvement des échantillons sanguins

Il est impératif, afin d'éviter des interférences par transfert des additifs entre les tubes et l'aiguille ou le bouchon, de respecter un certain ordre lors des prélèvements.



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

Si la ponction veineuse est franche, et si le bilan ne comporte que des tests courants d'hémostase, prélever le tube d'hémostase en première position afin d'éviter les contaminations par les additifs ou les anticoagulants présents dans les autres tubes.

Sinon prendre 1mL de sang dans un tube neutre, en cas d'utilisation d'unité à ailettes (purge de l'air), de prélèvements difficiles (activation de la coagulation) et de bilans spécialisés d'hémostase (PFA, agrégation plaquettaire, Willebrand, Test de résistance Verify now®).

V.2.b Choix des tubes

Le choix des tubes se fait en fonction des examens demandés : pour chaque examen, le type de tube à utiliser est indiqué dans le catalogue des examens de laboratoire. Dans certains cas particuliers, les tubes sont distribués sur demande auprès du laboratoire.

Avant le prélèvement, le préleveur doit vérifier la date de péremption figurant sur le tube.

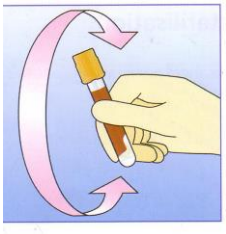
V.2.c Prélèvement

La réalisation du prélèvement doit se faire selon la procédure de « prélèvement sanguin veineux » en vigueur dans l'établissement (Hermès, Documenthèque)

Tous les tubes avec additifs doivent être homogénéisés immédiatement après le prélèvement par **3 à 4 retournements lents**, y compris les tubes dits «secs», mais qui contiennent un activateur de la coagulation pulvérisé sur la paroi qu'il convient de remettre en suspension.

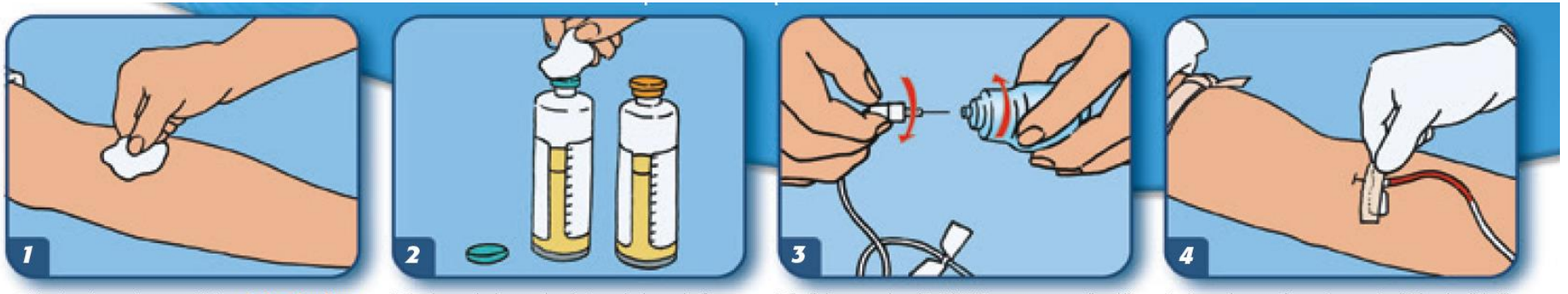
Lors du prélèvement :

- **Respecter l'ordre de remplissage des tubes**
- **Respecter le volume de remplissage des tubes en particulier les tubes citratés et les flacons d'hémoculture.**
- **Homogénéiser le tube dès le retrait du corps de prélèvement, par plusieurs retournements lents**
- **Ne jamais transvaser de sang d'un tube à l'autre**
- **Identifier les tubes**
- **Veiller à respecter les conditions recommandées de prélèvement et de transport**



V.3 Autres prélèvements sanguins

V.3.a Hémocultures

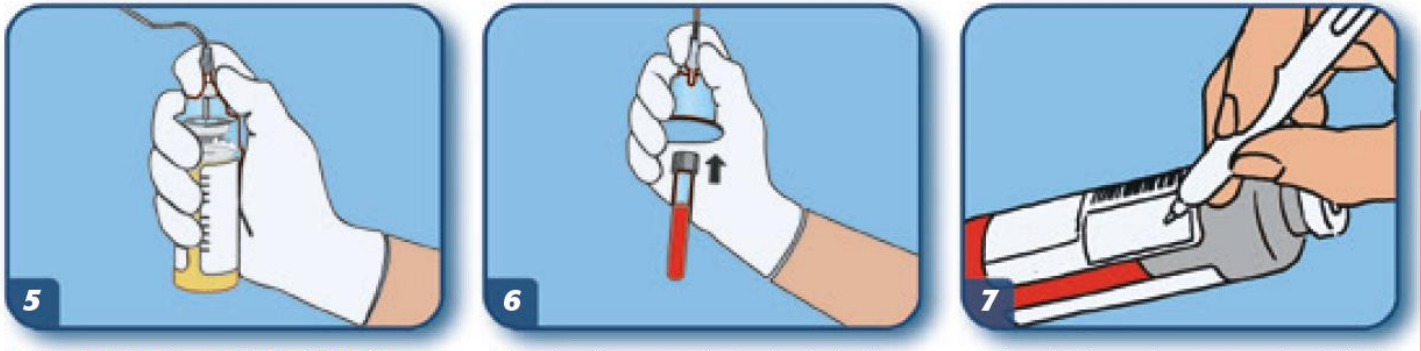


Désinfection des mains par friction ***hydro-alcoolique***. ***Nettoyage*** puis ***antiseptie*** de la peau selon protocole validé par l'établissement, rinçage puis séchage entre chaque étape.

Retirer la capsule de protection située sur le dessus des flacons. ***Désinfecter le bouchon*** à l'aide d'une solution appropriée (type chlorhexidine alcoolique ou Bétadine alcoolique) et laisser sécher au moins 30 secondes.

Relier l'adaptateur universel BacT/ALERT « tout en un » au dispositif utilisé pour le prélèvement en prenant soin de ***le visser à fond***. L'adaptateur BacT/ALERT permet de prélever les flacons et les tubes. Il est possible d'utiliser un kit de prélèvement tout en un référence 413201 ou 413251 (dispositif stérile avec aiguille + adaptateur).

Pratiquer la ponction veineuse à l'aide de l'aiguille (Type épicrânienne protégée). Port de gants non stériles.



Contrôler la fixation du raccord du dispositif de prélèvement en le maintenant entre le pouce et l'index. Placer l'adaptateur sur le ***flacon aérobie****** en le pressant le long du flacon. Tenir l'adaptateur sur le flacon pendant le prélèvement. Procéder de la même façon avec le flacon anaérobie. Contrôler la fixation du raccord lors du changement de flacon. ***Prélever au maximum 10 ml de sang par flacon***.

Si des tubes doivent être prélevés à la suite des flacons, prélever les tubes directement sur le même adaptateur déjà connecté. ***Contrôler la fixation du raccord du dispositif de prélèvement lors du prélèvement des tubes.***

Renseigner les flacons suivant votre procédure habituelle. Surtout ***ne pas coller d'étiquette sur la partie code à barres détachable du flacon*** (procédure décrite au verso).

* Prélever en premier le flacon aérobie (bouchon vert ou bleu) puis le flacon anaérobie (bouchon orange ou violet).

Note du Laboratoire :
La Société Française de Microbiologie préconise de prélever les 6 flacons (3 aérobies et 3 anaérobies) en une seule fois sauf si suspicion d'endocardite ou suspicion d'infection liée aux cathéters.

BIOMÉRIEUX

En référence à l'ordre de prélèvement des tubes, ne pas oublier de prélever le flacon aérobie en premier.

V.3.b Prélèvement artériel pour gazométrie

1) Préparation du plateau de prélèvement

2) Réalisation du test d'Allen

3) Asepsie de la zone de ponction.
Le pouls radial est palpé avec la pulpe de 2 doigts à 3 cm du poignet

4) La compression du point de ponction est maintenue pendant 5 minutes

5) Un pansement compressif non circulaire est mis en place en relais pendant 15 minutes

V.3.c Prélèvement sur voie veineuse centrale

Un volume de 5 à 10mL de sang doit être rejeté pour prendre en compte l'« espace mort » du cathéter. Cette purge doit être réalisée sur tube neutre si un bilan d'hémostase est prescrit ou sur tube sec dans les autres cas. Le prélèvement doit ensuite se faire en respectant l'ordre des tubes décrit ci-dessus.

V.4 Prélèvements d'autre nature

Il y a différents types de prélèvements (urines, selles, liquides, pus, peau, phanères, expectorations, génitaux, tissus profonds, oro-pharyngés, …).

Pour les particularités de ces prélèvements, veuillez vous référer au **catalogue des examens de laboratoire**.

Pour ce qui concerne le prélèvement d'urine de milieu de jet, réaliser au préalable une toilette soigneuse des mains, du méat urinaire et de la région vulvaire en un geste unique d'avant en arrière pour les femmes. Cette toilette peut être réalisée :

- Soit à l'eau savonneuse avec rinçage abondant
- Soit à l'aide d'une lingette antiseptique (benzalkonium),
- Soit à l'eau physiologique.

Attention, en cas d'utilisation de Dakin®, il est impératif de rincer abondamment afin d'éviter l'inhibition de culture des germes.

Commencer à uriner dans les toilettes afin d'éliminer la flore urétrale (environ 20mL) puis recueillir le milieu de jet dans le flacon stérile sans toucher le bord supérieur.

Pour les recherches bactériologiques sur les liquides biologiques normalement stériles (liquide articulaire, liquide pleural, liquide d'ascite, cellules souches périphériques, …) il est possible d'inoculer des flacons de culture :

1- Désinfection des mains par friction hydro-alcoolique. Nettoyage puis antiseptie de la peau selon protocole validé par l'établissement, rinçage puis séchage entre chaque étape.

2- Retirer la capsule de protection située sur le dessus des flacons. Désinfecter le bouchon à l'aide d'une solution appropriée (type chlorhexidine alcoolique ou Bétadine alcoolique) et laisser sécher au moins 30 secondes.

3- Prélever le liquide à l'aide d'une seringue.

4- Inoculer le volume maximal de prélèvement (10 ml / flacons adultes ou 4 ml / flacon pédiatrique) dans le(s) flacon(s).
Pour les flacons adultes, **commencer par le flacon anaérobie** puis aérobie afin de ne pas transférer l'oxygène prisonnier dans la seringue vers le flacon pour culture anaérobie.

TENIR LE FLACON DE CULTURE EN POSITION VERTICALE LORS DE L'INOCULATION

Des situations sanitaires particulières peuvent conduire à des modalités d'acheminement spécifiques à respecter, notamment pour la protection des personnes (épidémie Covid-19 par exemple). Dans ce cas, des notes de services décrivent les conditions à respecter (réalisation des prélèvements dans les différentes situations, conditionnement et acheminement au laboratoire pour prise en charge).

V.5 Identification des échantillons

L'identification des échantillons primaires est un élément critique de la qualité des examens demandés.

Elle comporte 3 étapes :

Étape 1 : Identification de l'échantillon

Elle doit être faite par la personne qui a effectué le prélèvement **aussitôt après la réalisation de celui-ci**. Elle doit comporter:

- l'identification du patient par une étiquette comportant : nom de famille, prénom, date de naissance et sexe
- la nature du prélèvement
- la localisation anatomique
- l'heure et la date de réalisation du prélèvement : ces informations sont obligatoires pour tous les prélèvements, et sont particulièrement critiques en cas de tests dynamiques ou de cycles comportant plusieurs prélèvements identiques dans un temps restreint ou de suivi thérapeutique de nature pharmacologique (dosage de médicaments).

Étapes 2 et 3 : Vérification de l'adéquation d'identification et conditionnement des échantillons

Avant de placer les échantillons dans la double poche destinée à leur acheminement, il est indispensable de vérifier leur étiquetage et l'adéquation de l'identification avec la feuille de prescription qui sera glissée dans la poche kangourou.

L'absence ou l'erreur d'identification de l'échantillon constitue une non-conformité bloquante conduisant à la non-exécution des examens demandés.

La poche contenant les échantillons doit être soigneusement fermée.

Pour le conditionnement des prélèvements urgents, la poche rouge doit impérativement être utilisée.

Cas particulier des échantillons acheminés dans l'azote :
L'identification du tube est réalisée à l'aide d'un marqueur indélébile sur le tube lui-même (au minimum NOM + PRENOM) et également déportée sur une étiquette-patient reliée par une ficelle. Cela permet une double identification sécurisée dans ces conditions particulières de transport.

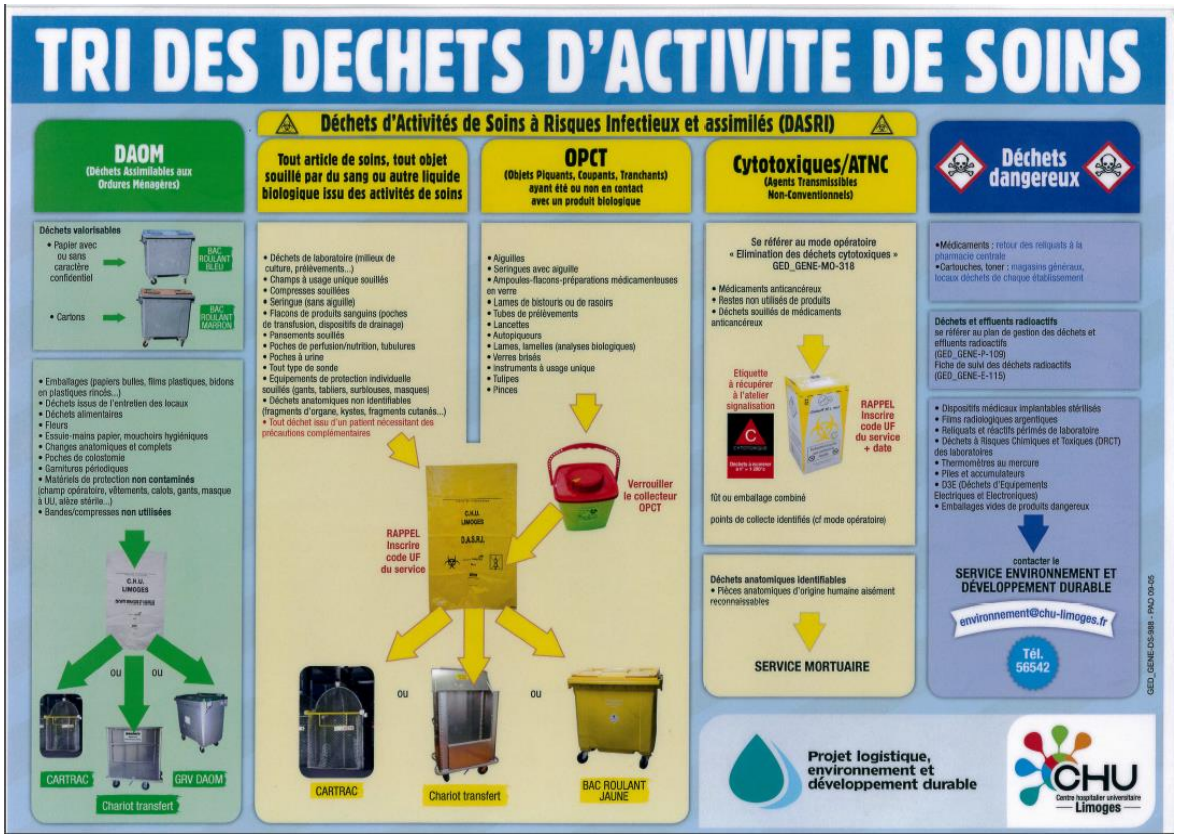
VI Elimination des déchets

Le matériel à usage unique devenu potentiellement infectieux par le prélèvement est éliminé :

- dans les containers DASRI pour les déchets piquants, coupants, tranchants (aiguilles, scalpels…)
- dans les sacs poubelles DASRI (jaunes) pour les déchets mous (gants, compresses…).

Le matériel à usage unique non contaminé est éliminé dans les sacs poubelles ménagers blancs (emballages…).

Le matériel non jetable doit être décontaminé et stérilisé selon les procédures en vigueur dans l'établissement.



VII Conditions de transport

Le transport des échantillons primaires est un élément très important de la qualité des résultats. Il doit être réalisé selon les conditions de délai et de température indiquées pour chaque examen dans le **catalogue des examens de laboratoire**. (cf. doc ENNOV LDT-DS-005)

Dans tous les cas, le service de soins doit veiller à ce que le délai entre le prélèvement et l'acheminement au laboratoire (durée de stockage dans le service de soins) soit le plus court possible.

VII.1 Organisation de l'acheminement

Après le prélèvement, conserver les tubes à température ambiante (sauf cas particuliers indiqués dans le **catalogue des examens de laboratoire**) et les faire parvenir au Laboratoire le plus rapidement possible.

L'acheminement des échantillons est effectué :

1. Préférentiellement par le biais de cartouche acheminée par pneumatique.
2. Par mallettes isothermes :
    - Pour des échantillons ne passant pas par le pneumatique (cf. doc ENNOV LDT-DS-033)
    - Pour les structures externes n'ayant pas de pneumatique
    - En cas d'arrêt du pneumatique (cf. doc ENNOV LDT-P-001 et ENNOV LDT-P-003)

    Dans ces cas là, l'acheminement est réalisé par le personnel du Transport interne des courses (TIC) et du Transport par Ambulance des patients (TAP) suivant les circuits de collecte et de transport en vigueur dans les différents établissements. Cet acheminement est sous la responsabilité du cadre de santé de ces deux services.

    Les horaires de ramassage des échantillons et leur traçabilité sont affichés sur les lieux de collecte

    En dehors de ces horaires de collecte, le service de soins doit prévenir le coursier au moment du dépôt des échantillons dans l'armoire dédiée de chaque site ou, pour le site Dupuytren, acheminer directement au CBRS.

La coordination et la responsabilité du transport des échantillons sont assurées conjointement par la Coordination Générale des Soins et le Laboratoire.

VII.2 Échantillons soumis à des conditions particulières d'acheminement

Pour certains examens, il est indispensable d'acheminer les échantillons au Laboratoire en respectant des conditions particulières de délai et de température : pensez à les vérifier dans le catalogue des examens de laboratoire.

Des situations sanitaires particulières peuvent conduire à des modalités d'acheminement spécifiques à respecter, notamment pour la protection des personnes (épidémie Covid-19 par exemple). Dans ce cas, des notes de services décrivent les conditions à respecter (réalisation des prélèvements dans les différentes situations, conditionnement et acheminement au laboratoire pour prise en charge).

Le non-respect de certaines conditions d'acheminement peut entraîner la non réalisation de l'examen.

VII.3 Modification de la prescription à l'initiative du Laboratoire

En accord avec le clinicien, le biologiste ou le médecin anatomo-pathologiste peut ajouter ou supprimer des examens dans l'intérêt du patient.

VIII Stockage des échantillons au laboratoire

Le stockage des échantillons primaires ou secondaires est effectué selon les dispositions légales régissant l'échantillon en question. Il permet de rajouter des analyses ou de faire des vérifications, dans les délais définis pour chaque analyse par le Laboratoire.

Le stockage de longue durée (sérothèque, DNAthèque,…) peut être effectué pour des raisons réglementaires, ou, sauf opposition signée du patient, à des fins de recherche dans le cadre des déclarations effectuées et des autorisations ministérielles obtenues par le CHU de Limoges pour la conservation d'éléments du corps humain.

IX Présentation du catalogue général des examens de laboratoire

Le catalogue des examens de laboratoire permet une recherche par mot clé ou une recherche alphabétique des examens de laboratoire réalisés au CHU de Limoges. Lorsque l'examen n'est pas effectué au CHU de Limoges, la mention « examen transmis à un autre laboratoire » apparaît.

Ce catalogue est mis à jour en temps réel, à chaque modification ou ajout d'examen. Il est consultable sur les sites intranet et Internet du CHU de Limoges. Il n'est pas imprimable.

Recherche par mot clé ou Recherche alphabétique

Cliquer sur l'examen souhaité pour ouvrir sa fiche :

Les résultats de la recherche indiquent au minimum pour chaque examen :

- Le nom de l'examen,
- le service prenant en charge l'examen,
- la technique analytique,
- le contenant à utiliser,
- les conditions particulières de prélèvement et d'acheminement,
- le délai de réalisation ou le temps de rendu maximal,
- la cotation et le prix,
- Les documents éventuellement associés (ex. consentement à imprimer).

Les coordonnées du service (responsable, numéros de téléphone, de fax et adresse mail) sont accessibles par un clic sur « Infos sur le laboratoire ».