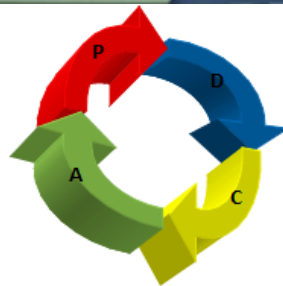
	<b>SYSTEME QUALITE « IPM »</b>	Code : CBM-MAP-001
	<b>MANUEL DE PRELEVEMENT</b>	Version n° : 01
<b>CBM</b>		

# INSTITUT PASTEUR DU MAROC CENTRE DE BIOLOGIE MEDICALE



## Manuel de prélèvement



### HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Version	Nature de la modification	Pages	Date
1	Edition initiale	----	2018

### APPROBATION DU DOCUMENT

	Nom & Prénom	Fonction / Entité	Date	Visa
<b>Rédigé par :</b>	Dr. M. EL AZHARI	Responsable du laboratoire de Microbiologie Médicale	04-01-2018	Original signé
	Dr. H. MOHAMMADI	Responsable du laboratoire de Biochimie	04-01-2018	Original signé
	Mme O. OUARDY	Service Qualité, Hygiène et Sécurité (QHS)	04-01-2018	Original signé
<b>Vérifié par :</b>	Dr. S. NASSEREDDINE	Responsable du laboratoire de Cytogénétique	12-02-2018	Original signé
	Dr. S. BENNANI	Responsable du laboratoire d'Histocompatibilité	12-02-2018	Original signé
	Dr. W. OUDAINA	Responsable du Centre de Biologie de Tanger	12-02-2018	Original signé
	Dr. F. BENYAHYA	Service QHS, Tanger	12-02-2018	Original signé
	Dr. J. NOURLIL	Responsable du laboratoire de Virologie Médicale	12-02-2018	Original signé
	Mr. A. FAOUZI	Service de Virologie Médicale	12-02-2018	Original signé
<b>Validé par :</b>	Dr. A. SABRI	Responsable du service Qualité, Hygiène et Sécurité	05-03-2018	Original signé
	Dr. S. BENJELLOUN	Responsable du Département de Biologie Médicale	05-03-2018	Original signé
	Dr. N. DERSI	Responsable de la salle d'accueil et prélèvements	05-03-2018	Original signé
<b>Approuvé par :</b>	Pr. N. ELMDAGHRI	Directrice de l'Institut Pasteur du Maroc	12-03-2018	Original signé

## SOMMAIRE

I.	Introduction.....	1
II.	Informations et contacts utiles.....	3
III.	Matériel et exigences.....	5
	1. Matériel de prélèvement.....	5
	2. Exigences relatives aux demandes d'examen.....	9
	- Feuille de prescription (ordonnance).....	9
	- Fiche de consentement .....	9
	- Feuille de prélèvement, dispatching, facture et reçu pour retrait des résultats .....	10
	- Etiquetage des spécimens .....	10
IV.	Etapes du prélèvement sanguin.....	11
	1. Préparation pour le prélèvement.....	11
	2. Déroulement du prélèvement.....	12
	- Port de gant et mise en place du garrot .....	12
	- Choix du site et du matériel de prélèvement .....	12
	- Désinfection du site de ponction, décapuchonnage de l'aiguille .....	14
	- Ordre des tubes .....	15
	- Réalisation de la ponction veineuse, introduction des tubes .....	15
	- Retrait du garrot, retrait de l'aiguille et compression avec un coton propre, élimination de matériel utilisé, pose d'un pansement.....	16
	3. Sous-traitance des échantillons.....	16
V.	Préconisations des prélèvements de spécimens.....	16
	1. Préconisations pour les prélèvements de sang.....	16
	- Le jeûne .....	17
	- L'heure du prélèvement (rythme circadien) .....	17
	- Prélèvement sanguin pour le dosage de la Cryoglobuline.....	18
	2. Préconisations pour le recueil d'urine et de sperme.....	18
	3. Préconisations pour les examens d'histocompatibilité.....	19
	4. Préconisations pour le diagnostic moléculaire des Virus respiratoires et de la Rage .....	19
	5. Préconisations pour les examens de Cytogénétique.....	20

6.	Préconisations pour les prélèvements microbiologiques (Bactériologie, Mycobactéries, Parasitologie et Mycologie).....	21
	- Recommandations générales .....	21
	- Recommandations pour le test Quantiféron®-TB .....	22
7.	Préconisations pour les examens d'Anatomopathologie.....	23
	- Examens histopathologiques .....	23
	- Cytologie gynécologique .....	24
	- Cytologie non gynécologique .....	24
<b>VI</b>	<b>Transport des échantillons au laboratoire.....</b>	<b>24</b>
1.	Prélèvement urgent .....	24
2.	Prélèvement non urgent .....	24
3.	Tri et répartition des échantillons.....	25
4.	Température de stockage et transport .....	25
5.	Délai de transport au laboratoire destinataire.....	25
6.	Prélèvement externe.....	26
<b>VII.</b>	<b>Critères d'acceptation et de refus des prélèvements au cours de la phase pré-analytique .....</b>	<b>27</b>
1.	Non conformités relatives à l'Accueil.....	27
2.	Non conformités relatives au Tri et Dispatching.....	28
3.	Non conformités relatives à l'Acheminement.....	29
4.	Non conformités relatives à la Qualité de l'échantillon.....	30
5.	Non conformités relatives à l'Identification des échantillons (Identito-Vigilance).....	31
<b>VIII</b>	<b>Transmission des comptes rendus d'examens.....</b>	<b>31</b>
1.	Délai de rendu des résultats.....	32
2.	Modalités de transmission et confidentialité.....	32
3.	Prestations de conseil.....	32
<b>IX</b>	<b>Gestion des réclamations et suggestions clients.....</b>	<b>32</b>
<b>X</b>	<b>Règles d'hygiène et de sécurité.....</b>	<b>33</b>
1.	Elimination des déchets potentiellement contaminés.....	33

2. Conduite à tenir en cas d'accident avec exposition au sang ou à des produits biologiques.....	34
--	----

<b>XI Annexes.....</b>	<b>35</b>
<b>Annexe N°1 : Exigences en Cytogénétique.....</b>	<b>35</b>
Diagnostic anténatal chromosomique : renseignements cliniques.....	35
Consentement de la femme enceinte.....	36
Consentement pour la réalisation d'examens de caractéristiques génétiques d'une personne.....	37
<b>Annexe N°2 : Exigences en Histocompatibilité .....</b>	<b>38</b>
Exigences relatives aux demandes d'examens.....	38
Exigences relatives aux échantillons primaires.....	38
Modalités de Prescriptions d'Examens Complémentaires.....	39
<b>Annexe N°3 : Exigences en Virologie Médicale.....</b>	<b>40</b>
Réalisation d'un prélèvement externe naso-pharyngé pour diagnostic moléculaire des Virus Respiratoires.....	41
Fiche Clinique Syndromes Grippaux.....	43
<b>Annexe N°4 : Préconisations des laboratoires de Bactériologie, Parasitologie, Mycologie et Mycobactériologie.....</b>	<b>44</b>
<b>Annexe N°5 : Préconisations pour les prélèvements anatomopathologiques.....</b>	<b>53</b>

## I. INTRODUCTION

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

*L'engagement à « Assurer des bonnes pratiques professionnelles, à des examens adaptés à l'utilisation prévue à satisfaire aux exigences de la norme ISO 15189 et à améliorer en permanence la qualité des prestations des laboratoires ; satisfaire les clients et les parties intéressées en réalisant des prestations exclusivement avec les règles de l'art ; satisfaire les besoins des prescripteurs ; assurer aux clients la confiance dans la fiabilité, la traçabilité et la rapidité des prestations ; assurer l'impartialité des laboratoires et que la direction et le personnel sont libres de toutes pressions indues, commerciales, financières et autres, susceptibles d'avoir une répercussion sur leur jugement technique ; respecter la confidentialité en protégeant par le secret professionnel toutes les informations relatives aux clients. »* (Extrait de l'engagement de la direction, code IPM-SE-POL-013, date d'application le 06-03-2017).

L'objectif de ce manuel de prélèvement, qui comporte l'ensemble des analyses réalisables dans nos laboratoires ou sous traitées, est de fournir le plus simplement et exhaustivement possible les différentes informations nécessaires à la phase pré-analytique selon les exigences réglementaires et notamment celles de la norme ISO 15189.

Les conditions de réalisation et de transmission des prélèvements biologiques constituent une étape importante impliquant une étroite collaboration entre les préleveurs et le laboratoire. Le respect de ces exigences est essentiel pour garantir des résultats d'analyses fiables.

Ce manuel s'adresse au personnel du centre d'accueil et prélèvements rattaché au centre de biologie médicale de l'institut Pasteur du Maroc (IPM) et qui est habilité pour réaliser les prélèvements. Il s'adresse aussi aux personnes extérieures au laboratoire susceptibles de réaliser des prélèvements.

Il apporte la preuve que le laboratoire met à disposition aux professionnels de santé toutes les procédures et instructions liées à la phase pré-analytique. Cependant, il est possible de contacter les laboratoires pour toutes informations complémentaires. Les laboratoires du CBM restent attentifs à toutes remarques ou suggestions qui aideraient à l'amélioration de ce document.



## II. INFORMATIONS ET CONTACTS UTILES

Direction  
Professeur **Naima Elmdaghri**  
Directrice de l'Institut Pasteur du Maroc  
[naima.elmdaghri@pasteur.ma](mailto:naima.elmdaghri@pasteur.ma)

Secrétariat général  
**Mohammed Cherqaoui**  
Secrétaire Général de l'IPM  
[mohammed.cherqaoui@pasteur.ma](mailto:mohammed.cherqaoui@pasteur.ma)

### Site de Casablanca ([biologie@pasteur.ma](mailto:biologie@pasteur.ma))

*Responsable du CBM*  
Dr. Soumaya Benjelloun  
[soumaya.benjelloun@pasteur.ma](mailto:soumaya.benjelloun@pasteur.ma)  
06 66172664

*Médecin biologiste*  
Dr. Abderrahmane Bellik  
[abderrahman.bellik@pasteur.ma](mailto:abderrahman.bellik@pasteur.ma)  
06 62 13 37 68

*Responsable du Centre d'Accueil et  
de Prélèvements*  
Dr. Noureddine Dersi  
[noureddine.dersi@pasteur.ma](mailto:noureddine.dersi@pasteur.ma)  
06 62 08 43 82

*Secrétariat du CBM*  
Mlle Zhor Warid  
[zhor.warid@pasteur.ma](mailto:zhor.warid@pasteur.ma)  
05 22 43 44 71/72

*Cellule sous-traitance à l'IPM*  
Mme Saadia Chabbi /  
Mme Malika Karrouti  
[labo@pasteur.ma](mailto:labo@pasteur.ma)  
05 22 22 78 15

*Service Qualité, Hygiène et  
Sécurité*  
Dr. Abdelouhab Sabri  
[abdelouhab.sabri@pasteur.ma](mailto:abdelouhab.sabri@pasteur.ma)  
06 62 04 63 24

### Site de Tanger

*Responsable*  
Dr. Othmane Mourtada  
[othmane.mourtada@pasteur.ma](mailto:othmane.mourtada@pasteur.ma)  
06 61 71 38 12

*Pharmacienne biologiste*  
Dr. Widad Oudaina  
[widad.oudaina@pasteur.ma](mailto:widad.oudaina@pasteur.ma)  
06 68 89 57 20

*Cellule Qualité, Hygiène et  
Sécurité*  
Dr. Fatiha Benyahya  
[fatiha.benyahya@pasteur.ma](mailto:fatiha.benyahya@pasteur.ma)

*Secrétariat du site*  
05 39 93 11 11



- **Responsables des laboratoires du Centre de Biologie Médicale**

Laboratoire	Responsable	E-mail	Téléphone
Anatomo-pathologie	Dr. Hakima Benomar (Médecin Anatomopathologiste)	<a href="mailto:hakima.benomar@pasteur.ma">hakima.benomar@pasteur.ma</a>	06 62 33 99 13
Cytogénétique et conseil génétique-Hématologie	Dr. Sanaa Nassereddine (Médecin Cytogénéticienne)	<a href="mailto:sanaa.nassereddine@pasteur.ma">sanaa.nassereddine@pasteur.ma</a>	06 61 38 84 93
Immunologie-Sérologie	Dr. Abdellatif Bouayad (Médecin Immunologiste)	<a href="mailto:abdellatif.bouayad@pasteur.ma">abdellatif.bouayad@pasteur.ma</a>	06 62 07 50 98
Virologie Médicale	Dr. Jalal Nourlil (Médecin Virologue)	<a href="mailto:jalal.nourlil@pasteur.ma">jalal.nourlil@pasteur.ma</a>	0661 823754
Mycobactéries & Tuberculose	Dr. Mly Driss El Messoudi (Médecin Mycobactériologiste)	<a href="mailto:mydriss.elmessaoudi@pasteur.ma">mydriss.elmessaoudi@pasteur.ma</a>	06 62 03 89 73
Hépatites Virales	Dr. Sayeh Ezzikouri (PhD)	<a href="mailto:sayeh.ezzikouri@pasteur.ma">sayeh.ezzikouri@pasteur.ma</a>	06 66 29 70 98
Biochimie-Immunochimie	Dr. Hicham Mohammadi (PhD)	<a href="mailto:hicham.mohammadi@pasteur.ma">hicham.mohammadi@pasteur.ma</a>	06 64 47 06 18
Hormonologie-Marqueurs tumoraux	Dr. Abdelhakim Ainahi (PhD)	<a href="mailto:abdelhakim.ainahi@pasteur.ma">abdelhakim.ainahi@pasteur.ma</a>	06 67 52 33 11
Biologie Moléculaire	Dr. Abdelouaheb Benani (PhD)	<a href="mailto:abdelouaheb.bennani@pasteur.ma">abdelouaheb.bennani@pasteur.ma</a>	06 61 29 11 62
Immuno-histocompatibilité	Dr. Siham Bennani (PhD)	<a href="mailto:siham.bennani@pasteur.ma">siham.bennani@pasteur.ma</a>	06 61 31 50 57
Microbiologie Médicale	Dr. Mohamed El Azhari (PhD)	<a href="mailto:mohamed.elazhari@pasteur.ma">mohamed.elazhari@pasteur.ma</a>	06 61 67 61 96
Biologie Médicale (Tanger)	Dr. Widad Oudaina (Pharmacienne biologiste)	<a href="mailto:widad.oudaina@pasteur.ma">widad.oudaina@pasteur.ma</a>	06 68 89 57 20

- **Les horaires de travail**

Les deux centres de prélèvements (Casablanca et Tanger) sont ouverts au public :

Jours	Site de Casablanca	Site de Tanger
<b>Du lundi au vendredi</b>	7h30 à 16h30	8h30 à 16h30

**Fermé samedis, dimanches et jours fériés**

- **Modalités de diffusion du manuel de prélèvement**

Le manuel de prélèvement est consultable en ligne par tout demandeur de prestation et par tout le personnel de l'IPM à l'adresse suivante : <https://www.pasteur.ma>

La version papier de ce manuel est consultable à l'accueil et à la demande du demandeur de prestation.

En cas de nouvelle version de ce manuel, les demandeurs de prestation sont informés des mises à jour.

- **Le catalogue des analyses**

Le catalogue des analyses assurées par le CBM présente l'ensemble des analyses réalisées au sein de ses laboratoires avec le délai de rendu des résultats, la cotation, le type de tube à utiliser, les consignes de transport ou de prélèvement et les précautions à respecter. La nouvelle version de ce document sera disponible au niveau de la salle d'accueil des deux sites et sur le site internet : <https://www.pasteur.ma>

Ce catalogue donne aussi des instructions pratiques pour:

- Nature du spécimen, volume minimum et délai de rendu des résultats ;
- Instructions pré-analytiques à destination des patients et des médecins ;
- Informations techniques à destination des utilisateurs des prestations du laboratoire.

Les éléments de cette liste sont utilisés comme critères d'acceptation par le personnel du laboratoire lors du contrôle des prélèvements reçus.

### **III. MATERIEL ET EXIGENCES**

#### **1. Matériel de prélèvement**

Le CBM utilise et met à disposition des préleveurs un matériel de prélèvement marqué CE adapté en fonction du type d'analyse prescrite.

Ci-après quelques modèles du matériel utilisé :

## Matériel pour ponctions veineuses

**Tube citrate de sodium 9NC. Anticoagulant réversible** (chélateur de  $Ca^{++}$ ), il entraîne une décalcification du plasma (la recalcification est effectuée au moment des analyses).



Capuchon  
BLEU

- Ce tube est le seul milieu utilisable pour les bilans d'hémostase (=coagulation).  
**Remarque** : La quantité de citrate liquide présent dans le tube entraîne une dilution de l'échantillon au 9/10 qui doit être constante. Pour être conforme, le tube doit être rempli au moins jusqu'au trait de remplissage minimum, avec un volume d'air résiduel <ou = à 20% (Recommandations GEHT 2015)
- Ce tube est **INADAPTE** à la plupart des autres dosages.

**Tube sec sans additif ou avec activateur de coagulation.** Il permet l'obtention du sérum après coagulation.



Capuchon  
ROUGE

- Ce tube permet la réalisation de quelques analyses de Chimie et d'Immuno-analyses qui ne sont pas réalisables sur tube héparine. Exemples : Auto-immunité, Electrophorèse des Protéines, sérologies...
- **Attention** : L'Ionogramme ou la Glycémie peuvent être légèrement faussés ou se modifier dans le temps (respect des délais de transport des échantillons).
- Ce tube est **interdit** pour :
  - tout examen d'hémostase (TP, TCA ...), parce que tous les facteurs de la coagulation ont été consommés par la formation du caillot ;
  - la cytologie hématologique (NF).

**Tube héparine de lithium : Anticoagulant puissant (anti-thrombine).** Il empêche la transformation du fibrinogène en fibrine.



Capuchon  
VERT

- Il est essentiel pour l'**ionogramme et la réserve alcaline** (bicarbonates) ;
- Il permet également la réalisation de la majorité des analyses de chimie et cytogénétique.
- Ce tube est **interdit** pour :
  - les Tests de Coagulation (TP, TCA ...) ;
  - la cytologie hématologique (NF) ;
  - l'Electrophorèse des Protéines (présence du fibrinogène).

**Tube EDTA K2 = Complexon. Anticoagulant irréversible – K2**  
(chélateur du Ca<sup>++</sup>).



**Capuchon  
VIOLET**

- Il permet la meilleure conservation des éléments figurés du sang (NF, Plaquettes, Réticulocytes) ;
- Il est utilisé également pour :
  - HbA1c, Groupe sanguin, Coombs, Groupe HLA et toutes les analyses de biologie moléculaire ;
  - Amonémie ;
  - Immunophénotypage.

**Remarque** : Sa forme micronisée n'entraîne pas de phénomène de dilution et donc le niveau de remplissage n'est pas essentiel. Cependant, à respecter les conditions d'homogénéisation et le taux de remplissage.

---



**Capuchon  
NOIR**

**CITRATE DE SODIUM 4NC\*** : anticoagulant réversible (chélateur de Ca<sup>++</sup>) (Dilution finale de l'échantillon au 1/4).

- Ce tube est utilisé **UNIQUEMENT POUR VS**. (Il permet la réalisation de la VS directement sur le tube selon la méthode référence de Westergreen).

\* Si ce tube n'est pas fourni, prélever sur tube EDTA.

---

## Autres matériels pour ponctions veineuses



Aiguilles



Epicrâniennes



Corps



Garrot

## Matériel pour prélèvements microbiologiques et autres



Flacon pour  
Hémoculture



Flacon stérile, bouché,  
pour recueil d'urine  
pour ECBU, crachat,  
sperme...



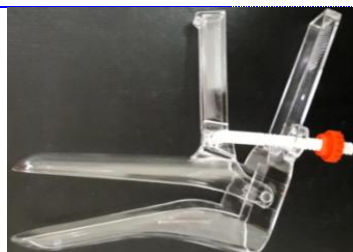
Flacon stérile,  
bouché, pour  
recueil de selles



Flacon propre à col  
large pour urines  
(3h et 24h)



Ecouvillons pour  
prélèvements vaginaux...



Spéculum



Ecouvillons pour prélèvements  
urétraux...



## Matériel pour prélèvements mycologiques des phanères

## Conditions de stockage et modalités d'approvisionnement

- Tout le matériel de prélèvement est stocké à température ambiante, à l'abri de la chaleur, et de la lumière directe.
- Le responsable de la salle de prélèvement gère ce matériel et veille :
  - au maintien permanent d'un stock en adéquation avec l'activité,
  - à la conformité du matériel en terme de dates de péremption, d'alertes de matériovigilance.

## 2. Exigences relatives aux demandes d'examen

### ✓ Feuille de prescription (ordonnance)

- Tout acte réalisé au niveau de la salle de prélèvement doit répondre à la prescription d'un médecin ;
- La feuille de prescription est un élément fondamental de la phase pré-analytique. Il s'agit de l'ordonnance du prescripteur ou du demandeur de prestation ;
- Tout prélèvement (ou échantillon) **externe** doit être accompagné de son ordonnance.

L'ordonnance doit fournir les éléments suivants :

- L'identification complète du prescripteur (spécialité médicale souhaitable) : nom, adresse, numéro de téléphone et / ou de fax, date de la prescription ;
- L'identification complète du patient : nom, prénom, sexe, date de naissance/ âge ;
- Les analyses demandées clairement formulées ;
- Les renseignements cliniques nécessaires à la bonne interprétation des résultats. Ces informations sont enregistrées lors de la saisie informatique du dossier patient ;
- Signature et cachet du prescripteur ;
- La date et l'heure du prélèvement, nature du prélèvement, sa provenance ainsi que l'identité du préleveur doivent être renseignées, **pour tout prélèvement externe**.

Ces éléments sont saisis sur le logiciel HEXALIS pour traçabilité et vérification. Ils sont contrôlés et font l'objet de refus total ou partiel en cas de non-conformité.

### ✓ Fiche de consentement (Annexe N°1)

Certaines analyses (notamment les analyses génétiques et d'histocompatibilité) ne peuvent être réalisées qu'avec un consentement écrit du patient sur un formulaire normalisé, c'est le cas de :

- Cytogénétique ;

- dépistage du risque de Trisomie 21 ;
- Génétique moléculaire ;
- HLA

✓ **Feuille de prélèvement, dispatching, facture et reçu pour retrait des résultats**

Après la vérification de l'identité du client (carte nationale pour les adultes et celle des parents pour les mineurs), l'opératrice d'accueil enregistre le dossier de ce dernier (nom, prénom, âge, sexe, nom du prescripteur, renseignements cliniques (si nécessaire), analyses demandées etc.) sur le système d'information et lui remet une feuille de « prélèvement, dispatching, facture et reçu pour retrait des résultats » jointe d'une ou plusieurs étiquettes code à barres. Les deux documents sont datés, référencés et portent les informations suivantes :

- **Facture** avec :
  - identité du patient et prescripteur ;
  - code du caissier ;
  - analyses demandées et prix ;
  - adresse mail pour réclamations ou suggestions.
- **Reçu pour retrait des résultats** avec :
  - identité du patient ;
  - code caissier ;
  - analyses demandées et prix ;
  - date de retrait des résultats.
- **Fiche de prélèvement et dispatching** avec :
  - identité du patient ;
  - code caissier et préleveur ;
  - nature des tubes pour prélèvements.

✓ **Etiquetage des spécimens**

Avant tout acte de prélèvement, une confirmation de l'identité du patient est recommandée. Cette confirmation permet de s'assurer d'une identification certaine du patient à prélever et de maîtriser le risque d'homonymie.



**Points de non conformités : toute ambiguïté dans l'identification des échantillons primaires entraîne une non conformité qui peut aboutir à la non réalisation des analyses.**

---

**Tous les échantillons, quelle que soit l'analyse, doivent donc être identifiés avec:**

- le nom (nom de jeune fille pour les femmes mariées) ;
- le prénom ;
- la date de naissance ;
- le genre ;
- la date et heure du prélèvement (relevé manuellement par le préleveur) ;
- la référence ;
- la nature du contenant et code d'examen demandé ;
- le nom / initiales du préleveur.

Le collage de l'étiquette, après prélèvement, doit être particulièrement soigneux :

- le côté gauche de l'étiquette vers le haut du tube ;
- l'étiquette doit être parfaitement verticale ;
- ne pas masquer le niveau de remplissage; le laborantin a besoin de visualiser l'état de l'échantillon (centrifugé ou non, hémolysé, laqué, etc.).



**N.B : Les échantillons primaires qui ne sont pas identifiés correctement ne doivent ni être acceptés, ni être traités par le laboratoire (extrait de la norme ISO 15189)**

Une vérification de conformité des informations portées sur l'étiquette code à barre et celles portées sur la fiche de prélèvement est effectuée au niveau du dispatching.

Dans le cas des prélèvements externes effectués par un professionnel de santé, ces indications doivent être mentionnées, au moment du prélèvement, directement sur le contenant avec à minima le nom et prénom, les autres indications devant obligatoirement figurer sur l'ordonnance.

## **IV. ETAPES DU DEROULEMENT DU PRELEVEMENT SANGUIN**

### **1. Préparation pour le prélèvement**

Le préleveur doit s'assurer de la conformité ou de l'optimisation des conditions de prélèvement. La liste des analyses figurant sur le catalogue (voir catalogue des analyses biomédicales du CBM) définit les conditions à respecter en termes de :

- Nécessité d'être à jeun (heure du dernier repas doit être de 10 à 12h avant prélèvement) ;



- Régime alimentaire particulier si nécessaire;
- Délai et conditions d'acheminement ;
- Procédures particulières de prélèvement ;

## 2. Déroulement du prélèvement

La discrétion et la confidentialité sont nécessaires.

Se bien laver et désinfecter les mains

### ✓ Port de gants et mise en place du garrot

Le garrot mis en place ne doit être ni trop lâché, ni trop serré ; il doit être situé à 10 cm approximativement au dessus du site de ponction, en veillant à ne pas pincer la peau et en recommandant au patient de serrer le poing, puis de rester parfaitement immobile. Il ne doit pas être mis trop longtemps (< 1 minute).



### ✓ Choix du site et du matériel de ponction

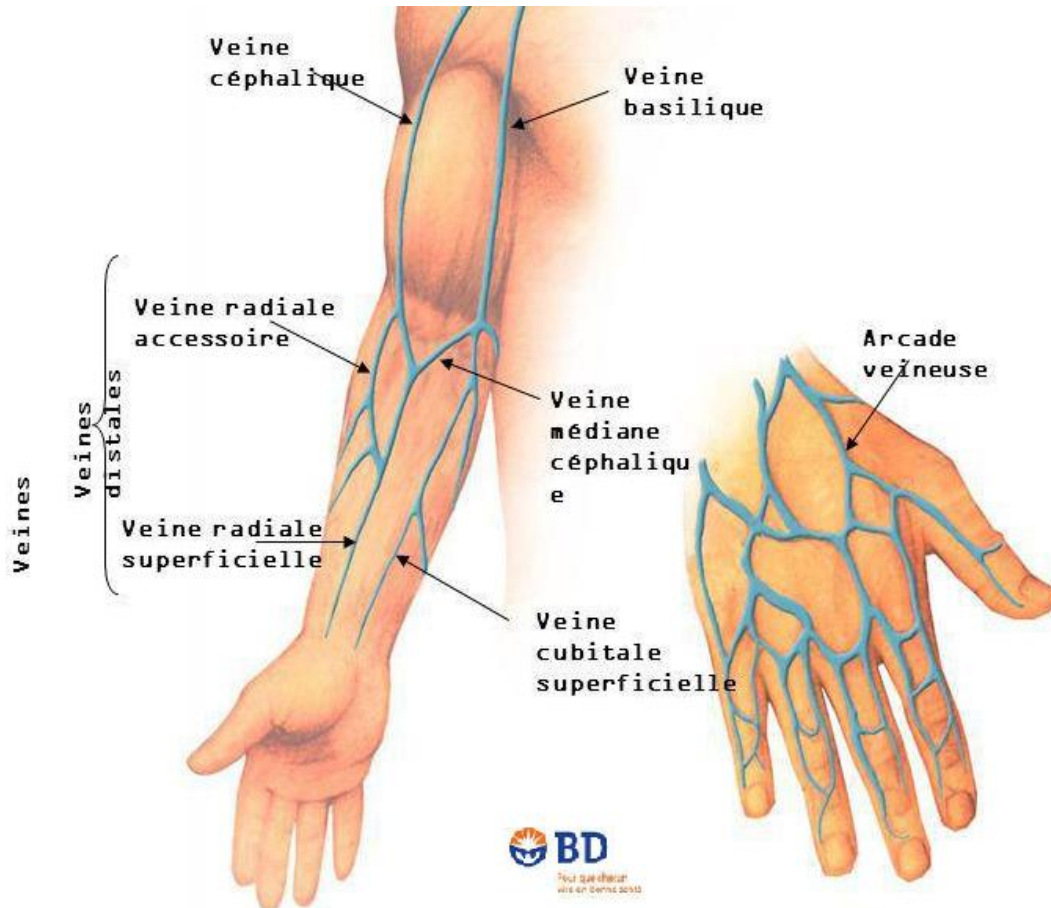
Le prélèvement d'un échantillon de sang peut s'effectuer à partir de toutes les veines superficielles du pli du coude, de l'avant-bras et du dos de la main.

La recherche d'une veine pour effectuer la ponction veineuse s'effectue de la manière suivante : le patient serre son poignet et son bras, tendu, et incliné vers le bas. Un examen visuel et une palpation des veines permettront de noter les caractéristiques suivantes :

- la situation des veines ;
- le parcours des veines ;
- la constitution de la veine (souplesse, taille,...).

Une veine normale est une veine facilement palpable, compacte, souple et élastique.

**Attention !!!!!** L'artère est un vaisseau palpable mais pulsatile.



**Recommandations** : En cas de veines ni visibles, ni palpables, il est recommandé de procéder de la façon suivante :

- poser le garrot ;
- incliner le bras vers le bas ;
- masser le bras du patient depuis le poignet vers le pli du coude ;
- tapoter légèrement le site de ponction avec l'index et le majeur.

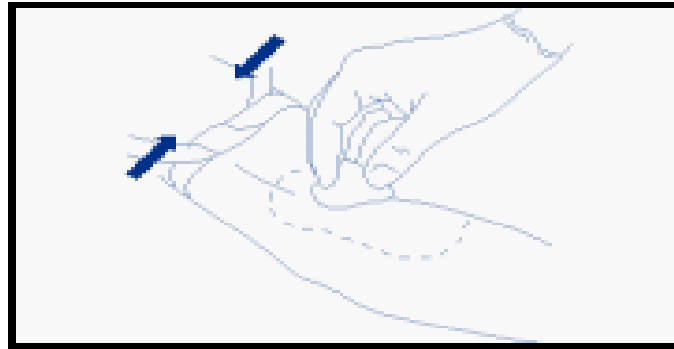
**Choisir le matériel** : tubes et matériel de ponction

- Tubes : sélectionner les tubes de prélèvement à utiliser selon la fiche de prélèvement et en s'aidant du catalogue des actes biologiques ;
- Matériel de ponction : en fonction de la qualité de la veine et de l'âge du patient, choisir :
  - soit l'une des aiguilles disponibles dans le cas d'un prélèvement sur veine normale ;
  - soit l'une des unités de prélèvement (épicrânienne), dans le cas d'un prélèvement sur un capital veineux affaibli.

✓ **Désinfection du site de ponction, décapuchonnage de l'aiguille**

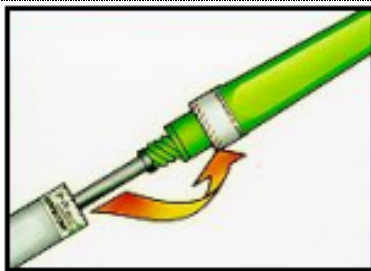
**Désinfection du site de ponction**

- Imbiber en quantité suffisante 3 tampons de compresses stériles ou de coton hydrophile stérile avec de l'alcool à 70° ;
- Appliquer l'antiseptique avec le tampon à partir du centre du site de ponction avec un mouvement circulaire vers l'extérieur sur une surface de 2 cm et laisser sécher 30s ;

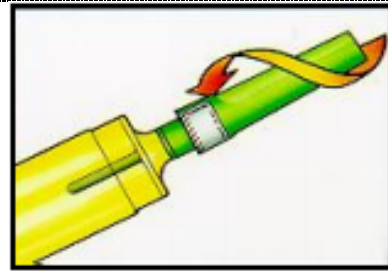


- **NE PAS TOUCHER** le site désinfecté, s'il a été touché, le désinfecter une nouvelle fois (le site de ponction ne doit pas être palpé après désinfection).
- Ne **JAMAIS** utiliser d'alcool ou d'antiseptique à base d'alcool si une alcoolémie est demandée.

**Décapuchonnage de l'aiguille**



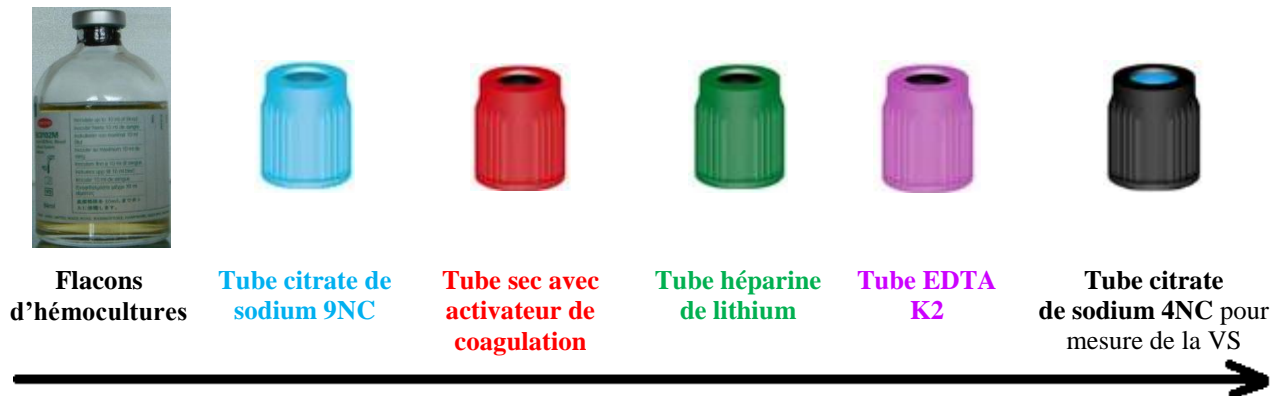
- Tenir l'aiguille par l'étui protecteur de couleur d'une main et dévisser la protection blanche de l'aiguille de tube avec l'autre main.
- Ne pas ôter l'étui protecteur de la canule. Celui-ci sera retiré juste avant d'effectuer la ponction veineuse.



- Visser l'aiguille sur le corps de prélèvement.
- Ne pas ôter le capuchon protecteur de l'aiguille de veine.
- Le système est maintenant prêt à être utilisé.

## ✓ **Ordre des tubes**

Chronologie à respecter :



L'ordre de remplissage des tubes lors du prélèvement est établi pour :

- Réduire les interférences liées à la ponction veineuse elle-même ;
- Éviter une contamination d'un tube à l'autre du fait des additifs.

## ✓ **Réalisation de la ponction veineuse, introduction des tubes**

- Une ponction difficile risque d'engendrer une hémolyse ou des micros caillots rendant impossible certaines analyses (K<sup>+</sup>, LDH, AST, etc.) ;
- Lors du prélèvement, les tubes sont positionnés en dessous du point de ponction avec l'étiquette originale orientée vers le bas pour pouvoir visualiser l'arrivée du sang dans le tube ;
- Pousser délicatement, sans vibration, pour percer le bouchon du tube en préservant le confort du patient. Respecter l'ordre de remplissage des tubes (voir ci-dessus) ;
- Veiller au remplissage des tubes (ils doivent impérativement être bien rempli pour respecter le rapport sang/additif) ;
- Agiter par retournement lent (4 à 10) chaque tube dès son retrait du corps de pompe pour mélanger l'additif avec le sang ;
- Retirer toujours le dernier tube du corps de pompe avant de retirer l'aiguille de la veine (sinon risque de fuite).



- ✓ **Retrait du garrot, retrait de l'aiguille, et compression avec un coton propre, élimination du matériel utilisé et pose d'un pansement**

**La durée de pause du garrot doit être inférieure à 1 mn, desserrer au 1<sup>er</sup> tube.**

- Compresser à l'aide d'un coton propre ;
- Conseiller au patient le maintien de son bras en position allongée et la compression ferme du coton sur le site de ponction ;
- Eliminer immédiatement l'aiguille dans un container pour déchets piquants et tranchant près du préleveur ;
- Ne pas tasser le collecteur ;
- Attention : Ne jamais recapuchonner les aiguilles (geste interdit) ;
- Le coton est éliminé dans un container spécial « déchets d'activité de soins à risque infectieux DASRI » ;

Retirer les gants uniquement après identification des tubes en collant les étiquettes codes à barres correspondantes.

### 3. Sous-traitance des échantillons

Certaines analyses ne sont pas réalisées au CBM et sont sous-traitées à d'autres laboratoires d'analyses. Les conditions pré analytiques de prélèvement, choix des contenants, conditions de conservation et de transport des échantillons sous traités sont décrits dans le catalogue des analyses biomédicales.

## V. PRECONISATIONS DES PRELEVEMENTS DE SPECIMENS



**La qualité des résultats dépend en grande partie du respect des préconisations pré-analytiques.**

### 1. Préconisations pour les prélèvements de sang

Certains examens de biologie médicale nécessitent un jeûne strict, d'autres un régime alimentaire particulier ou un horaire particulier de prélèvement ou des conditions pré-analytiques spéciales (Cryoglobuline). En règle générale, il faut éviter de prendre un repas riche en sucres et en graisses juste avant une prise de sang, même si le jeûne n'est pas demandé pour les examens prescrits (**pour plus d'informations, consulter le catalogue des analyses biomédicales**).

- **Le jeûne :**

Pour la plupart des analyses, les valeurs de référence ont été définies à jeun et au lever :

- le résultat de certains dosages varie après le repas ;
- après le repas, la qualité du sérum ou du plasma est modifiée.

L'état de jeûne strict est défini par **un délai de 12h** entre le dernier repas et l'heure de prélèvement (il est possible de boire un verre d'eau).

Les analyses exigeants l'état de jeûne :

Analyses	Préconisations
<b>Glycémie</b>	Prélèvement impératif après 8h de jeûne, doit être acheminé au laboratoire dans un délai <b>inférieur à 1h</b> après le prélèvement.
<b>Glycémie post-prandiale</b>	Prélèvement 2h après le repas.
<b>Bilan lipidique (Cholestérol , HDL , LDL, TG)</b>	Prélèvement impératif après 12h de jeûne.
<b>NFS,TP,TP/INR, TCA, VS</b>	Souhaitable après 8h de jeûne ; Le tube doit être acheminé au laboratoire dans un délai inférieur à 1h après le prélèvement.

Pour les autres dosages, une période de jeûne de **4 heures** est recommandée mais non obligatoire. A défaut, un repas léger, pauvre en matières grasses est à prévoir.

- **L'heure du prélèvement (cycle circadien) :**

La concentration de certaines molécules varie au cours de journée selon un rythme « circadien » : concentration maximale le matin dans la majorité des cas.

Analyses	Prélèvement
<b>Cortisol sanguin</b>	Cycle circadien : à prélever de 8h à 9h et/ou de 16h à 17h (selon indications de la prescription)
<b>Prolactine</b>	Prélèvement entre 8h et 11h après un repos de 20 mn
<b>TSH, T4 libre, T3 libre</b>	Prélèvement de préférence le matin à partir de 8h
<b>Bilan de fertilité chez la femme (FSH, LH, Inhibine B, AMH, Oestradiol)</b>	A prélever le matin entre J2 et J5 selon les prescriptions (J1 étant le premier jour des règles)

- **Prélèvement sanguin pour le dosage de la cryoglobuline**

Un prélèvement d'environ 5 ml de sang sans anticoagulant doit être effectué à l'aide de matériel préchauffé à 37 °C (aiguille, tube) ; transporté, laissé coagulé ( $\geq 1$  heure) et centrifugé à 37 °C.

## 2. Préconisations pour le recueil d'urine et de sperme

- **Recueil d'urines pour compte d'Addis ou HLM (Hématies Leucocytes/Minute)**

Se réveiller trois heures avant l'heure normale du lever.

- Vider totalement la vessie et jeter les urines ;
  - Boire un verre d'eau (environ 250 ml) et se recoucher ;
  - Exactement trois heures après, recueillir la totalité des urines dans un flacon à HLM ;
  - Identifier le flacon avec la référence, le nom, prénom et date de naissance (étiquette d'identification) ;
  - Adresser l'échantillon au laboratoire dans les plus brefs délais.
- **Recueil des urines de 24 heures**

**Intérêt :**

Ce recueil permet l'analyse de certains paramètres de biochimie urinaire

**Préconisations pour le prélèvement :**

⇒ Au lever :

- \* Vider la totalité de la vessie dans les toilettes ;
- \* Coller sur le flacon l'étiquette code à barre portant : **Nom, Prénom ...** ;
- \* **Noter date et heure du début de recueil.**

⇒ Pendant 24 heures :

- \* Recueillir la totalité des urines dans le flacon pendant toute la journée et la nuit jusqu'à la même heure, que celle indiquée au départ ;

Exemple : 8h le premier matin jusqu'à 8h le lendemain matin

⇒ Identifier tous les flacons s'il y en a plusieurs ;

⇒ **Noter date et heure de la fin de recueil ;**

⇒ **La totalité des urines de 24 heures doit être acheminée au laboratoire dans les plus brefs délais (maximum 2 heures après la fin du recueil).**

- **Recueil de sperme pour spermogramme**

#### **Préparation du patient (instruction)**

- Un délai d'abstinence sexuelle de 2 à 5 jours est impératif ;
- Boire 2 litres d'eau par jour les deux jours précédant le recueil et 1 litre d'eau le matin du recueil ;
- Se présenter au laboratoire à l'heure convenue avec l'ordonnance et la pièce d'identité.

#### **Mode opératoire du prélèvement**

- Le prélèvement est réalisé au niveau de la salle de prélèvements (Box spermogramme) ;

Les instructions pour le recueil sont données sur place.

- **Recueil d'urines pour une recherche de mycobactéries**

- Recueillir la totalité des urines de la nuit, 3 jours distincts (1 flacon par jour) ;
- Transmettre au laboratoire flacon par flacon.

### **3. Préconisations pour les examens d'histocompatibilité**

Les exigences recommandées par le laboratoire d'Histocompatibilité concernent les échantillons primaires et leurs documents associés quand ils sont transmis par les Etablissements de Santé ou par les Laboratoires de Biologie Médicale ou prélevés à l'Institut Pasteur du Maroc (**consulter l'annexe N° 2**).

Le respect de ces exigences conditionne l'obtention d'un résultat analytique fiable, les prestations de conseil et la garantie du lien patient-échantillon primaire indispensable à la sécurité et aux soins prodigués au patient et à l'assurance qualité des résultats d'examens.

Ce document dans sa version la plus récente est systématiquement diffusé aux clients réguliers du laboratoire et à tout client potentiel en faisant la demande.

Les prestations du laboratoire HLA sont assurées 24/24H.

### **4. Préconisations pour le diagnostic moléculaire des Virus respiratoires et de la rage**

Les recommandations pour les prélèvements de virologie sont détaillées sur le catalogue des (nature de l'échantillon, technique utilisée, délai maximum de rendu des résultats ...).

Des recommandations supplémentaires et spécifiques sont décrites dans l'**annexe N° 3** :

- Type et nombre de matériel de prélèvement en fonction de l'examen demandé (Sérologies, Biologie Moléculaire ...)



- Réalisation d'un prélèvement Nasopharyngé pour le diagnostic des Infections respiratoires ;
- Réalisation des prélèvements (salivaire et biopsie cutanée pour le diagnostic en intra-vitam par PCR du virus de la Rage).

## 5. Préconisations pour les examens Cytogénétiques

Le laboratoire de cytogénétique de l'IPM est le 1<sup>er</sup> laboratoire au Maroc à réaliser les caryotypes humains, en effet il a ouvert ses portes en 1991.

Son activité est centrée sur l'étude cytogénétique (étude de matériel chromosomique) au niveau de plusieurs tissus.

Nous mettons à la disposition de nos partenaires (cliniciens et biologistes) notre catalogue de prélèvement selon l'analyse demandée car les prélèvements ne se réalisent pas **tous** au sein de notre centre d'accueil et de prélèvement.

- ✓ les analyses proposées en post natal :
  - caryotype constitutionnel sur biopsie cutanée ;
  - caryotype constitutionnel postnatal sur sang fœtal ;
  - caryotype constitutionnel postnatal sur sang périphérique ;
  - caryotype médullaire.

Toute demande d'analyse doit être accompagnée : d'une ordonnance ou d'une fiche de prescription remplie et signée en précisant :

- l'identité du patient ;
- l'identité du prescripteur et sa signature (de façon identifiable/lisible) ;
- les analyses à réaliser ;
- l'indication des analyses.

Les spécificités de chaque type d'analyse (prélèvement, tube, milieu de transport, conditions particulières) sont notées dans le catalogue des analyses du CBM.

- ✓ Les analyses proposées en prénatal :
  - Caryotype constitutionnel prénatal sur produit de fausse couche ;
  - Caryotype constitutionnel prénatal sur liquide amniotique ;

Le prélèvement doit être accompagné :

- du consentement de la femme enceinte à la réalisation du prélèvement et d'une ou de plusieurs analyses en vue d'un diagnostic prénatal in utero rempli et signé par la patiente (le cas échéant son représentant légal) (consulter **l'annexe N° 1**) ;
- d'une fiche de prescription remplie et signée (au bas du formulaire de consentement, consulter **l'annexe N° 1**) ;
- de la fiche de prélèvement de diagnostic prénatal précisant :
  - L'identité de la patiente et éventuellement de son conjoint et leurs coordonnées ;
  - Les analyses à réaliser ;
  - L'indication des analyses ;
  - Les renseignements médicaux (antécédents personnels et familiaux des deux membres du couple, date de début de grossesse, parité) ;
  - L'identité du préleveur (de façon identifiable/lisible), la date, l'heure et la nature, la quantité et l'aspect du prélèvement et les remarques éventuelles concernant les conditions de prélèvement.

Les spécificités de chaque type d'analyse (prélèvement, tube, milieu de transport, conditions particulières) sont décrites au catalogue des analyses du CBM.

## **6. Préconisations pour les prélèvements microbiologiques (Bactériologie, Parasitologie, Mycologie et Mycobactéries)**

### **✓ Recommandations générales**

Les prélèvements doivent être de préférence réalisés en dehors d'une antibiothérapie.

- Le non-respect des préconisations peut entraîner une contamination des prélèvements par la flore habituelle de la peau ou des muqueuses ou encore détruire les germes pathogènes ;
- La croissance bactérienne est directement dépendante de la température. Elle ne doit pas être favorisée ni défavorisée pour conserver la flore prélevée en l'état. Si le prélèvement n'est pas traité immédiatement, il est nécessaire de veiller au respect des consignes concernant les conditions de stockage ;
- Toutes les recommandations microbiologiques sont décrites en détail (**annexe N° 4**) ;
- Un antibiogramme n'est pas systématiquement effectué sur les bactéries isolées : la réalisation de l'antibiogramme est à l'appréciation du biologiste sauf demande explicite du prescripteur. Un antibiogramme réalisé alors qu'il n'est pas nécessaire

peut entraîner un traitement inadapté voire entraîner l'apparition de résistance bactérienne ;

- Les délais de rendu de résultats sont souvent longs pour les analyses de bactériologie. Les échantillons analysés peuvent être polymicrobiens. Il est donc nécessaire de réaliser des opérations d'isolement qui diffèrent le rendu des résultats. D'autre part, la réalisation de l'antibiogramme est effectuée dans un second temps, une fois la bactérie isolée et identifiée. Enfin, certains germes sont de culture difficile.



**La qualité du résultat dépend de la qualité du prélèvement !!!**

✓ **Recommandations pour le test Quantiféron®-TB :**

Les principales indications de ce test :

- Pour le diagnostic de l'infection tuberculeuse latente ;
- Patients mis sous traitement par anti-TNF ;
- Patients infectés par le VIH lors du bilan initial ;
- Enquête autour d'un cas pour les sujets contacts (adultes et enfants > 5 ans) ;
- Professionnels de santé à l'embauche si l'IDR est > 5 mm.

Pour le diagnostic de la tuberculose maladie :

- L'utilisation du test Quantiféron® n'est pas recommandée chez l'adulte ;
- Chez l'enfant, il peut constituer une aide au diagnostic des formes paucibacillaires.

**Type d'échantillons :** Sang.

**Matériels :** Tubes spéciaux (fournis par le laboratoire, à contacter au préalable).

**Prélèvement, conservation, Transport et traitement :**

- Utiliser les 4 tubes fournis (vert et jaune = TB Antigen, Mauve = Mitogen et Gris = Nil) ;
- Remplir les 4 tubes jusqu'au trait noir indiqué sur chaque tube: ni plus haut, ni plus bas ;
- Mélanger les 4 tubes par retournement (pas vigoureusement) 10 fois ;
- Envoyer au laboratoire à température ambiante dans les 16 heures ;
- Au laboratoire, incuber les 4 tubes en position verticale après avoir agité les tubes 10 fois par retournement (pas vigoureusement) dans une étuve à 37°C pendant 16 à 24 heures ;

- Sortir les tubes de l'étuve et les faire parvenir à température ambiante dans les 2 jours au laboratoire des Mycobactéries & Tuberculose ;
- Pour les laboratoires sous-traitants, ils peuvent envoyer les tubes soit déjà incubés à 37°C soit non incubés mais à condition qu'ils parviennent dans les 16 heures après le prélèvement. Veuillez préciser lors de l'envoi si l'incubation à 37°C a déjà été réalisée ou non.

## 7. Préconisations pour les examens d'Anatomopathologie

- ✓ **Examen Histopathologique : consignes et conditions générales du prélèvement.**

### Demande d'examen :

Cette demande doit contenir :

- les informations permettant une identification univoque du patient et du médecin prescripteur ;
- les informations cliniques utiles à l'analyse et à l'interprétation des résultats.

Toute demande, pour être acceptée par le service, doit être soigneusement identifiée avec au minimum les informations suivantes :

- **Identifiant du patient :** Nom & Prénom, Sexe, Date de naissance, Numéro du dossier, Anamnèse, Mutuelle.
- **Identifiant du médecin prescripteur :** Le service d'où vient le prélèvement, le nom & prénom du médecin, le numéro téléphone, la date de prescription, le destinataire des résultats avec l'adresse exacte et actualisée du lieu où il pratique.
- **Pour l'échantillon:** Les informations indiquées sur le(s) prélèvement(s) et la demande doivent être en concordance parfaite pour que la demande puisse être définie comme conforme.
- La date et l'heure du prélèvement, ainsi que le site anatomique d'origine et l'objectif du prélèvement doivent être précisés.

### Données cliniques :

Le médecin prescripteur ou préleveur doit préciser le but de l'analyse, Il faut :

- indiquer les antécédents médicaux quand ils sont connus ;
- signaler si le même test a déjà été réalisé (dans un autre laboratoire, suivi médical effectué, etc.) et en donner le résultat ;
- signaler les traitements intercurrents s'ils peuvent interférer avec les résultats de l'analyse demandée ;

- les diagnostics connus, soupçonnés ou à écarter doivent être mentionnés ;le but de l'examen (spécialement dans le cas des examens extemporanés).

Pour plus d'informations, consulter **l'annexe N° 5**.

- ✓ **Cytologie Gynécologique** (consulter **l'annexe N° 5**)

Il s'agit d'un prélèvement au niveau du **col utérin** et de la partie profonde du **vagin (FCV)**, afin de dépister précocement toute anomalie cellulaire pouvant évoquer la présence d'une lésion précancéreuse ou d'un cancer du col utérin.

Actuellement le frottis n'est effectué qu'au niveau du col utérin (au niveau de l'exocol et de l'endocol) d'où la terminologie récente: **Frottis Cervico-Utérin (FCU)**.

- ✓ **Cytologie non gynécologique** (consulter **l'annexe N° 5**)

## VI. TRANSPORT DES ECHANTILLONS AU LABORAOIRE

### 1. Prélèvement urgent

Un échantillon signalé « **urgent** » sera traité prioritairement au laboratoire.

La notion d'**urgence** doit être signalée sur l'ordonnance.

- A l'accueil, un ticket d'urgence est délivré au patient pour que sa demande soit traitée en priorité ;
- L'état d'urgence est précisé sur le dossier du patient dans le **SIL** ;
- Après le prélèvement du patient, les échantillons correspondants sont mis dans un sachet individuel en plastique dédié avec la fiche de prélèvement. Ils sont immédiatement récupérés et vérifiés par le personnel du dispatching qui édite la feuille de paillasse.
- Informer le(s) laboratoire(s) concerné(s).

### 2. Prélèvement non urgent

- ✓ **Conditionnement**

Le préleveur place les échantillons du même patient dans un sachet individuel en plastique dédié, accompagné de la fiche de prélèvement.

Les tubes en sachet individuel sont déposés dans des paniers en position verticale, tandis que les prélèvements d'urines, selles et crachats sont mis dans un grand bac dans la salle du prélèvement, en attendant que le responsable du dispatching récupère les prélèvements (action réalisée toutes les 15 à 30 min).

Il est recommandé de ne pas mettre des échantillons provenant de patients différents dans le même sachet.

### ✓ **Vérification des prélèvements**

Le personnel responsable du dispatching vérifie :

- La présence de la fiche pour prélèvement dispatching accompagnant le prélèvement ;
- La concordance entre l'identité portée sur l'échantillon (étiquette code à barre émise par le SIL) et celle figurant sur la fiche pour prélèvement dispatching ;
- L'adéquation des tubes et contenants par rapport aux analyses demandées ;
- La conformité des tubes et contenants.

### **3. Tri et répartition des échantillons**

Après vérification, le responsable du dispatching :

- Edite les feuilles de paillasse (par service ou plateau technique) ;
- Trie les prélèvements par service ou plateau selon les laboratoires destinataires ;
- Dépose les échantillons de sang dans des zones clairement indiquées correspondants aux différents postes techniques.

Les flacons et autres contenants sont placés dans des bacs dédiés.

En cas de manque d'un tube (difficulté de prélèvement, etc.), le responsable du dispatching demande le partage du prélèvement existant au service qui a la priorité de passer les analyses.

### **4. Température de stockage et de transport**

La plage standard de température de stockage des échantillons acceptable par le CBM pour la plupart des analyses, correspondant à une température réfrigérée  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$  pour quelques analyses ou à une température ambiante pour le reste.

N.B : Certaines analyses sous-traitées exigent une conservation à température  $-20^{\circ}\text{C}$  (catalogue des analyses du CBM).

### **5. Délais de transport au laboratoire destinataire**

Par défaut, le délai standard maximum autorisé avant l'arrivée au laboratoire (délai à surveiller particulièrement en cas de température extérieure élevée et en l'absence de glacière) est d'environ 2 heures, sauf pour la glycémie prélevé sur tube sec (30 mn).

Le personnel chargé de la récupération des prélèvements de la salle du dispatching est amené à les transporter dans des sachets en plastique Kangourous, en position verticale dans des paniers accompagnés des feuilles de paillasse qui contiennent les informations sur le patient

et les analyses à réaliser.

Il est strictement interdit de transporter les prélèvements autres que dans les conditions recommandées.

## 6. Prélèvements externes

De nombreux facteurs pré-analytiques peuvent altérer l'intégrité des échantillons biologiques. En conséquence, ces derniers doivent être acheminés dans les conditions requises par le laboratoire.

Pour tout prélèvement externe, la mention « prélèvement externe » est saisie dans le dossier patient par la caissière, et est ensuite mentionnée sur la fiche de prélèvement et de dispatching.

Tout transport dans l'espace public d'échantillons **est réglementé**, qu'il soit réalisé par le prélevé (patient lui-même) ou toute autre personne.

Selon l'ADR (**A**ccord européen relatif au transport des marchandises **D**angereuses par **R**oute), Selon la réglementation du transport des produits biologiques sur route (ADR), le prélèvement doit être conditionné dans :

- Un emballage primaire (tube ou flacon) ;
- Un emballage secondaire étanche (coffret de prélèvement ou sachet hermétique + absorbant) ;
- Un emballage tertiaire (mallette de transport par exemple, boîte) ;

La rigidité doit être suffisante pour résister à l'écrasement.

Les matières infectieuses sont les matières dont on sait ou dont on a des raisons de penser qu'elles contiennent des agents pathogènes. Les agents pathogènes sont définis comme des micro-organismes (y compris les bactéries, les virus, ...) ou comme des micro-organismes recombinés (hybrides ou mutants), dont on sait ou dont on a des raisons de penser qu'ils provoquent des maladies infectieuses chez l'animal ou chez l'homme (chapitre 2.2.62.1.1 de l'ADR).

**L'expéditeur de l'échantillon à analyser est responsable** du respect des réglementations relatives à l'emballage, voire au transport proprement dit.

## VII. CRITERES D'ACCEPTATION ET DE REFUS DES PRELEVEMENTS AU COURS DE LA PHASE PRE-ANALYTIQUE

- Les demandes d'examens sont horodatées à leur arrivée dans les différentes entités du CBM ;
- Un contrôle de l'identification des échantillons et leur conformité est effectué à leur arrivée au niveau de chaque laboratoire du CBM ;
- Toute anomalie à la réception est tracée sur une fiche de non-conformité et sur le logiciel Hexalis Qualité et impose une information du demandeur de prestation ;

### ✓ Non conformités relatives à l'Accueil :

Non-conformité	Action recommandée
Absence de l'ordonnance	<b>REFUS</b> de l'examen biologique ; Certains examens peuvent être formulés par un médecin de l'IPM (Gly, ...), demander l'avis du biologiste.
Absence des coordonnées du prescripteur	Demande d'information au patient.
Absence de la date de prescription ou antérieure	Demande d'information au patient / Prescripteur.
Absence de la signature du prescripteur	<b>REFUS</b> de l'examen (demander l'avis du biologiste).
Prescription illisible	<b>REFUS</b> de l'examen (demander l'avis du biologiste).
Absence du nom du patient ou nom erroné sur la prescription	<b>REFUS</b> de l'examen, nouvelle demande ; <b>A VERIFIER</b> avec document d'identité.
Absence de renseignements cliniques	Demande d'information au patient ; Demande d'information au prescripteur.



✓ **Non conformités relatives au Tri et Dispatching :**

Pour l'identification, il faut au minimum le nom du patient, le numéro du code à barres collé sur les échantillons et la référence.

Non-conformité	Action recommandée
Identification de l'échantillon <u>ou</u> de la feuille de paillasse absentes	<b>REFUS</b> de l'examen, nouvelle demande ; Si échantillon précieux: identification possible par l'infirmière sous sa responsabilité. Prévenir le biologiste.
Non concordance entre l'identification de la feuille de paillasse et celle de l'échantillon	<b>REFUS</b> de l'examen.
Identification incomplète ou inexacte	Demander un complément d'information ou une correction à la caissière.
Erreur d'identification signalée par rapport à la fiche de prélèvement	<b>REFUS</b> de l'examen, nouvelle demande.
Deux demandes simultanées avec la même identité	Demander confirmation et complément d'information à l'infirmière.

✓ **Non conformités relatives à l'Acheminement :**

Non-conformité	Action recommandée
Absence date/heure du prélèvement	Demande d'information au préleveur.
Délai d'acheminement dépassé	<p>Evaluer si les conditions pré-analytiques (qualité de l'échantillon et conditions de transport) de l'échantillon restent acceptables (demander avis du biologiste) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Si échantillon acceptable, traiter la demande, et formuler une remarque au niveau du compte rendu (CR);</li> <li>- Si échantillon non acceptable, <b>REFUS</b> de l'examen ;</li> </ul> <p>Demander un nouvel échantillon.</p>
Absence de l'échantillon	<p>Information du préleveur ; Information du dispatching ; Demande d'un nouvel échantillon.</p>
Non-respect de la procédure d'urgence	<p>Evaluer si les conditions pré-analytiques restent acceptables :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Si échantillon acceptable, traiter la demande, et formuler une remarque au niveau du CRE ;</li> <li>- Si échantillon non acceptable, <b>REFUS</b> de l'examen</li> </ul> <p>Demander un nouvel échantillon</p>
Tube cassé, contenant détérioré	<p><b>REFUS de l'échantillon ;</b> Informé le préleveur, le dispatching ; Demande un nouvel échantillon.</p>
Non-respect des conditions de transport des échantillons (emballage, température, mode de transport)	<p>Vérifier si les conditions pré-analytiques restent acceptables :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Si conditions acceptables, traiter la demande, formuler une remarque au niveau du CRE ;</li> <li>- Si conditions non acceptables, <b>REFUS</b> de la demande,</li> </ul>
Erreur d'acheminement	<p>Informé le dispatching (distributeur) ; Evaluer si le délai d'acheminement reste acceptable :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Si délai acceptable, traiter la demande et signaler la non-conformité.</li> </ul>

✓ **Non conformités relatives à la Qualité de l'échantillon**

Non-conformité	Action recommandée
Taux de remplissage du tube	Demander l'avis du biologiste ; Autre demande: voir selon le critère de préciosité ; Formuler une remarque au niveau du CR.
Echantillon hémolysé	Demande éventuelle d'un nouvel échantillon en fonction de l'importance d'hémolyse (++++). Si échantillon précieux (prise difficile), dérogation selon l'avis du biologiste avec remarque sur le CR.
Echantillon ictérique	Avis du biologiste selon les analyses à effectuer (affecte ou non le résultat)
Echantillon coagulé	<b>REFUS</b> d'examen ; Nouveau prélèvement.
Récipient non étanche	Information du préleveur ; Demande d'un nouvel échantillon si nécessaire
Présence de Fibrine	Possibilité de remédiation (enlever la fibrine) ; Re-centrifugation ; Avis du biologiste selon les analyses à effectuer (affecte ou non le résultat).
Présence de caillots	Avis du biologiste selon les analyses à effectuer (affecte ou non le résultat).
Contenant inadéquat	<b>REFUS</b> d'examen ; Nouveau prélèvement sur contenant adéquat
Contenant périmé	Demande d'un nouvel échantillon ; Demande d'information auprès du préleveur Retrait des périmés.
Nature de l'échantillon non déterminée	Demande d'information au préleveur et/ou prescripteur.
Volume insuffisant	Information du préleveur (avis du Biologiste).
Autres	Demander avis du biologiste.

*N.B : En cas d'échantillon précieux, toujours voir ce qui peut être fait en formulant une remarque ou réserve au niveau du compte rendu d'examen (CRE). Prévenir le biologiste.*

✓ **Non conformités relatives à l'Identification des échantillons (Identito-Vigilance) :**

<b>Non-conformité</b>	<b>Action recommandée</b>
Etiquette code à barre (ECAB) absente ou illisible	<b>REFUS</b> de l'échantillon ; Refaire un nouveau prélèvement.
Non concordance d'ECAB avec fiche de prélèvement	<b>REFUS</b> de l'échantillon ; Vérifier les autres échantillons de la journée
Echantillon absent	Vérifier au niveau de prélèvement ou salle de dispatching et de tri ; Demande d'information au niveau de la salle de prélèvement ; Demander un nouvel échantillon.
Absence de l'identité du préleveur	Demande d'information au niveau de la salle de prélèvement.
Tube supplémentaire au regard de la prescription	Demande d'information auprès du préleveur.
Nombre des tubes insuffisants pour les tests demandés	Demande d'information au dispatching ; Demande d'information au préleveur (prescription) ; Demande du prélèvement d'un autre service, s'il existe.
Echantillon en double	Information du préleveur et/ou du prescripteur.
Echantillon identique reçu en même temps	Information du préleveur et/ou du prescripteur.
Tube manquant au regard de la prescription	Demande d'un nouvel échantillon.

## **VIII. TRANSMISSION DES COMPTES RENDUS D'EXAMENS**

Le laboratoire a mis en place une procédure pour le rendu des résultats permettant de garantir la confidentialité des données patients.

Seul le biologiste est habilité à commenter les résultats. Les secrétaires et les autres collaborateurs ne font aucun commentaire sur les résultats.

Le prescripteur est le seul interlocuteur pour les interpréter en fonction de la clinique et de la thérapeutique éventuelle.

## 1. Délais de rendu des résultats

Les délais de rendu des résultats sont indiqués au patient au moment du prélèvement sur la fiche de rendu des résultats délivrée à l'issue des prélèvements effectués.

## 2. Modalités de transmission et confidentialité

Toute l'activité du CBM est régie par le secret médical. Le personnel est tenu d'assurer la confidentialité des informations qu'il détient de part son activité au sein du CBM.

Cet engagement est mentionné dans la fiche d'engagement de confidentialité, éthique, intégrité et impartialité.

L'accès aux données informatiques est contrôlé par un code et un mot de passe, tous deux personnalisés.

Les serveurs sont basés dans le local informatique sécurisé avec accès contrôlé.

Pour assurer le respect total de la confidentialité et le secret médical des résultats, les comptes rendus d'analyses peuvent être remis personnellement au patient ou à un tiers mandaté par lui-même, sur présentation de la carte d'identité.

Les résultats sont remis après vérification de l'identité du patient.

A la demande, les comptes rendus des résultats peuvent être communiqués au médecin prescripteur ou au patient par les moyens de transmission assurant la confidentialité (Fax,...).

## 3. Prestations de conseil

Les médecins et les responsables des laboratoires du CBM sont amenés à réaliser et à tracer les prestations de conseil :

- pour les prescripteurs : conseils et /ou orientation sur le choix des analyses à prescrire et sur l'interprétation éventuelle de certains résultats.
- pour les patients : renseignements et interprétation de leurs résultats.

## IX. GESTION DES RECLAMATIONS ET SUGGESTIONS CLIENTS

Chaque client du CBM peut faire une réclamation s'il estime que le service rendu n'est pas conforme à ses attentes par téléphone, courrier, email, fax ou bien en utilisant la boîte à suggestion disponible au niveau de la salle de prélèvement.

Les réclamations ou suggestions peuvent être formulées en remplissant le **formulaire** de contact disponible à l'accueil au sein du centre de prélèvement ou en contactant le service Qualité, Hygiène et Sécurité : [ghs@pasteur.ma](mailto:ghs@pasteur.ma)

Les responsables du CBM et du centre de prélèvement s'engagent à les traiter dans les meilleurs délais.

Les coordonnées des responsables d'activités sont disponibles au chapitre "Coordonnées/contact".

## X. REGLES D'HYGIENE ET DE SECURITE

Les règles de base d'hygiène du préleveur consistent à l'utilisation de solution hydro-alcoolique ou un lavage fréquent des mains à l'eau et au savon, au contrôle de l'étanchéité absolue de tous les flacons contenant des produits biologiques et l'utilisation de matériel stérile à usage unique.

Les règles de base de sécurité consistent à programmer et organiser l'élimination des déchets de soins, en particulier des aiguilles et à bien connaître les procédures de sécurité en cas d'accident lié au prélèvement lui-même ou au transport.

### 1. Elimination des déchets potentiellement contaminés

L'élimination des déchets doit être conforme à la législation en vigueur :

- *loi n 28-00 relative à la gestion des déchets solides et à leur élimination, en juillet 2006 ;*
- *décret d'application n 2- 07-253 du 18 juillet 2008, portant classification des déchets et fixant la liste des déchets dangereux ;*
- *décret de loi n 2-9-139 relatif à la gestion des déchets médicaux et pharmaceutiques, en juin 2009.*

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

- **DAOM** : Déchet Assimilé aux Ordures Ménagères (déchets non contaminés) : papiers, emballages, coton non souillé. Ces déchets sont à éliminer dans les poubelles à papier.
- **DASRI** : Déchets d'Activité de Soin à Risque Infectieux, l'élimination de ces DASRI suit une filière d'élimination spécifique qui est **de la responsabilité du préleveur** conformément à la réglementation en vigueur :
  - Les déchets coupants et tranchants (aiguilles, tubulures) sont obligatoirement recueillis dans les récipients jaunes spécifiques = Collecteurs spécifiques pour les objets coupants, piquants ou tranchants (OPCT) ;

- Les déchets contaminés non coupants (coton souillé, gants etc.) sont recueillis dans des poubelles munies des sacs rouges. Il est interdit de jeter toute aiguille, lame ou autre objet piquant coupant tranchant dans ces poubelles.

## **2. Conduite à tenir en cas d'accident avec exposition au sang (AES) ou à des produits biologiques**

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

- Une piqure 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.

Les consignes à respecter lors d'un AES ou à des produits biologiques sont :

### **Immédiatement:**

- Stopper l'activité en cours ;
- En cas de plaie ou piqure :
  - Ne pas faire saigner ;
  - Nettoyage immédiat de la zone cutanée lésée à l'eau et au savon, puis rinçage abondant à l'eau du robinet.
  - Désinfection : 5minutes avec « dérivés chlorés » (daklin pur, ou à défaut alcool à 70°) ;
- En cas de projection sur les yeux ou sur une muqueuse :
  - Pour les yeux: rincer avec de l'eau du robinet ou du sérum physiologique pendant 10 minutes au minimum.
  - Garder les yeux 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.

### **Déclaration d'AES**

- Prévenir immédiatement le chef de service.
- Les démarches à suivre pour la déclaration et le suivi d'AES sont détaillées dans des documents spécifiques pour le CBM.

## Annexe N°1

### DIAGNOSTIC ANTENATAL CHROMOSOMIQUE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

**Date :**

<p><b>MADAME:</b>          Nom:.....          Prénom:.....          Date de naissance :.....          Antécédents :          .....          Tel: .....</p>	
<p><b>GROSSESSE ACTUELLE :</b>      <input type="checkbox"/> <b>Mono fœtale</b>      <input type="checkbox"/> <b>Gémellaire</b>          DDR :.....          Age précis de la grossesse (en SA): .....          Mesure de la clarté nucale :.....</p>	
<p><input type="checkbox"/> Liquide amniotique. Préciser son aspect :.....</p> <p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/> Villosités choriales      <input type="checkbox"/> Produit de fausse couche</p>	<p style="text-align: right;"><b>Nature du prélèvement</b>          Quantité (ml):.....  <input type="checkbox"/> Sang fœtal</p>
<p><b>INDICATION :</b></p> <p><input type="checkbox"/> Age maternel (<math>\geq 36</math> ans à la date du prélèvement)  <input type="checkbox"/> Signe d'appel biologique : triple test augmenté. Préciser sa valeur: .....  <input type="checkbox"/> Clarté nucale augmentée  <input type="checkbox"/> Signe d'appel échographique (autre que clarté nucale). Préciser :.....  <input type="checkbox"/> ATCD pour le couple de grossesse avec caryotype anormal  <input type="checkbox"/> Anomalie chromosomique parentale.  <input type="checkbox"/> Autres : Préciser: .....</p>	
<p style="text-align: right;"><b>MEDECIN TRAITANT:</b></p> <p>Nom: .....          Adresse:.....          Tel:.....</p>	



## CONSENTEMENT DE LA FEMME ENCEINTE

Après la consultation médicale, je soussignée,

Mme ....., déclare avoir reçu les informations suivantes :

- L'analyse qui m'est proposée en vue d'établir un diagnostic prénatal rend nécessaire un prélèvement de liquide amniotique, de sang fœtal ou de villosités chorales dont le risque m'a été expliqué.
- La technique utilisée pour le diagnostic anténatal chromosomique nécessite une mise en culture de cellules fœtales. Un échec de cette technique est possible, rendant nécessaire le recours à un deuxième prélèvement.
- L'analyse peut révéler d'autres affections que celle recherchée dans mon cas.

Je consens au prélèvement ainsi qu'à l'analyse de cytogénétique pour laquelle, il est effectué.

Signature de la femme enceinte :

le :

Signature du médecin traitant:

le:

## CONSENTEMENT POUR LA REALISATION D'EXAMENS DES CARACTERISTIQUES GENETIQUES D'UNE PERSONNE

**Je soussigné (e) :** ..... né (e) le : .....

Demeurant à : .....

➤ Reconnais avoir reçu par le Dr.....les informations sur les examens des caractéristiques génétique qui seront réalisés afin :

de confirmer ou d'infirmer le diagnostic d'une maladie génétique ;

de confirmer ou d'infirmer le diagnostic pré-symptomatique d'une maladie génétique ;

d'identifier un statut de porteur sain (recherche d'hétérozygote ou d'un remaniement chromosomique) ;

d'évaluer ma susceptibilité génétique à une maladie ou à un traitement médicamenteux.

➤ Pour cela, je consens :

au prélèvement qui sera effectué chez moi.

au prélèvement qui sera effectué chez mon enfants mineur ou une personne majeur sous tutelle

➤ Je suis informé (e) que les résultats de l'examen des caractéristiques génétiques me seront transmis par Si une partie du prélèvement reste inutilisée après examen,

Je consens à ce qu'il puisse être intégré, le cas échéant, à des fins de recherche scientifique. Dans de cas, l'ensemble des données médicales me concernant seront protégées grâce à une anonymisation totale. En conséquence, je suis conscient (e) que ces études scientifiques effectuées ne seront sans aucun bénéfice ni préjudice pour moi.

Fait à.....

Le :.....

**Signature du patient adulte ou du représentant légal de  
l'enfant mineur ou du tuteur légal de l'adulte sous  
tutelle :**

## Annexe N° 2

### EXIGENCES EN HISTOCOMPATIBILITE

#### I/ Exigences relatives aux demandes d'examens:

Chaque prélèvement doit être accompagné d'une demande d'examens (**contacter le service**) et/ou une ordonnance.

##### Cas particuliers :

- 1) Donneur non apparenté de cellules souches hématopoïétiques ou d'un donneur d'organe en état de mort encéphalique: l'identité est remplacée par un numéro d'identifiant unique.
- 2) Les prélèvements des donneurs d'organes (ganglions et/ou rate) sont conditionnés dans un pot identifié par un code du centre transmetteur, selon les recommandations de l'Agence de la biomédecine. Ils sont adressés au laboratoire, accompagnés du compte rendu du résultat HLA et du prélèvement d'organe.

Les données d'identification du patient portées sur les échantillons doivent être strictement identiques à celles de la demande d'examens.

##### Les renseignements cliniques minimum exigés pour les examens d'histocompatibilité :

Toute information pertinente pouvant influencer sur les résultats et leur interprétation doit être communiqué par le client :

- ✓ Transplantation d'organes :
  - Tout événement immunisant ou traitement ayant un impact sur les résultats (Transfusion, rejet aigu ou chronique, transplantectomie, infection, vaccination, traitement par sérum anti lymphocytaire).
- ✓ Association HLA maladies :
  - Diagnostic clinique ;
  - Antigène ou allèle recherché.

Le consentement éclairé du patient (**contacter le service**) pour les examens de caractéristiques génétiques doit être associé à la prescription en cas de demande d'examen d'une association polymorphisme HLA et maladies.

#### II/ Exigences relatives aux échantillons primaires :

- ✓ **Facteurs ayant une influence sur la qualité du prélèvement et/ou des résultats d'examens.**
  - Contexte de pathologie hématologique (anomalie cytogénétique) avec risque de rendu d'un typage HLA erroné ;
  - Aplasie avec risque de quantité insuffisante de cellules ou d'ADN pour la réalisation des examens ;
  - Délai de transport des échantillons supérieur à 24 heures avec risque de dégradation cellulaire pour les analyses de sérologie et risque de résultat erroné pour les recherches d'anticorps anti-HLA ;
  - Anticoagulant inadéquat (ex. présence d'inhibiteur de PCR dans les tubes héparinés risquant d'invalider les examens de biologie moléculaire) ;
  - Traitement par Rituximab ou SAL (sérum anti-lymphocytaire) pour les recherches d'anticorps anti-HLA et les cross-match (noter la date de début du traitement).

Les examens réalisés par le laboratoire ne nécessitent pas de préparation particulière du patient (ex : être à jeun).

Les examens sont réalisés sur des prélèvements reçus conjointement à la prescription, ou sur des prélèvements réalisés à l'IPM.

### III/ Modalités de Prescriptions d'Examens Complémentaires

Le laboratoire d'Histocompatibilité suit les prescriptions d'examens qui lui sont adressées.

En cas de demande d'examens redondants le laboratoire peut être amené à supprimer des examens. Dans ce cas, la demande d'examens donne lieu à un enregistrement informatique et un compte rendu indiquant le motif de non réalisation des examens prescrits et adressé au prescripteur.

Par ailleurs, le laboratoire peut être amené à réaliser des examens complémentaires à l'initiative du biologiste, en cas de besoin pour le suivi du patient en attente de greffe ou greffé.

- Recherche des anticorps anti-HLA : Un dépistage positif peut être complété par une identification y compris par des techniques sur antigène isolé (single antigen) en vue d'identifier un anticorps anti donneur spécifique ;
- Complément de typage HLA du donneur et ou du Receveur en cas de mise en évidence chez le receveur d'une immunisation potentielle dirigée contre le donneur ;
- Mortalité cellulaire élevée rendant ininterprétable un typage HLA en lymphocytotoxicité et nécessitant un typage en biologie moléculaire ;
- En cas de demande de recherche d'anticorps anti-HLA renouvelée à moins de trois mois d'intervalle, le laboratoire peut être amené à ne pas analyser le 2<sup>ème</sup> échantillon, et à le mettre en conservation après enregistrement informatique ;
- Toute autre analyse non prescrite mais jugée utile pour le suivi des patients sera réalisée ;
- Le délai de réalisation d'examens complémentaires sera fonction des résultats de la validation de chaque examen.

Le compte-rendu précise, le cas échéant, les modifications de la prescription médicale. L'accusé de réception de ce manuel de prélèvement fait office auprès des prescripteurs d'accord pour ces modifications.




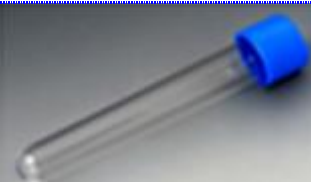
#### Examens Supplémentaires

- L'Examen supplémentaire peut être réalisé à la demande du clinicien ou du biologiste afin de compléter l'interprétation biologique du résultat ou suite à une défaillance analytique d'une première technique, sous réserve de disposer du tube adéquat et après vérification des conditions de conservation pré analytique.
- Les échantillons primaires sont conservés 7 jours au laboratoire.
- Dans le cadre de la greffe, des examens supplémentaires peuvent être réalisés à l'aide des échantillons conservés en biothèque (ADN, Sérum ...) au sein du laboratoire sous réserve de matériel suffisant.

## Annexe N°3

### EXIGENCES EN VIROLOGIE MEDICALE

---

	<p><b>1 tube sec</b> <b>2 tubes secs si plus de 3 analyses</b></p>	<p><b>Tube sec rouge</b></p> <p>Sérologie : HSV1/2, CMV, VZV, EBV, HTLV, HHV-6, HHV-8, Parvo B19, Ac Anti-rabiques, Fièvre jaune.</p>
	<p><b>2 tubes EDTA</b></p>	<p><b>Tube EDTA Violet</b></p> <p>PCR en temps réel : CMV, EBV, Parvo B19, Polyoma JC/BK, HHV-6, HHV-8.</p>
	<p><b>1 tube avec MTV</b></p>	<p><b>Kit de prélèvement Naso-pharyngé Ecouvillon + Milieu de transport Viral (MTV)</b></p> <p>PCR en temps réel : Grippe, Rhinovirus, Coronavirus, Coqueluche ...</p>
	<p><b>1 tube</b></p>	<p><b>Tube stérile</b></p> <p>PCR en temps réel : HSV1/2, Enterovirus, sur liquide céphalorachidien.</p>

---

## **REALISATION D'UN PRELEVEMENT EXTERNE NASO-PHARYNGE POUR DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DES VIRUS RESPIRATOIRES**

### **Matériel de prélèvement**

Pour la réalisation des prélèvements naso-pharyngés, le laboratoire de Virologie Médicale de l'IPM s'engage à fournir au préleveur le consommable ci-après :

- Ecouvillon en nylon floqué avec tige en plastique (les écouvillons en alginate de calcium avec tiges en bois peuvent inhiber les analyses moléculaires)
- Milieu de conservation et de transport universel (UTM pour Universal Transport Medium) pour les virus (dans lequel l'écouvillon sera introduit) ; conservé jusqu'à utilisation entre +4° et +24°C.
- Sachet plastique (rouge) à fermeture à zip avec pochette Kangourou
- Fiche de renseignements

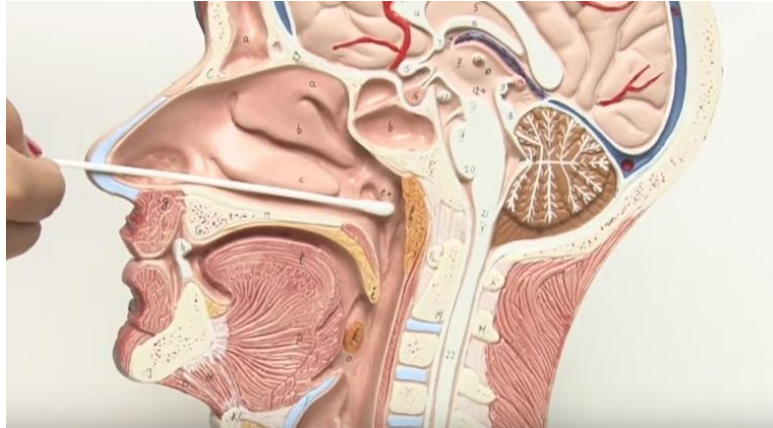
Le consommable ci-après sont à la charge du préleveur :

- Equipement de protection individuelle (EPI), Blouse, gants, masque et lunettes de protection ;
- Solution ou gel hydro-alcoolique ;
- Mouchoir jetable ;
- Marqueur indélébile ;
- Sachet en plastique pour déchets infectieux.

Le préleveur s'engage à prendre connaissance du mode opératoire ci-après et à en suivre les instructions.

### **Mode Opératoire**

- Se laver soigneusement les mains avec de l'eau et du savon ou utiliser une solution hydro-alcoolique ;
- Porter les EPI lors de la collecte de l'échantillon (blouse, masque, gants, lunettes) ;
- Retirer le flacon avec milieu de transport de son emballage ;
- Notez le nom du patient, la date et l'heure du prélèvement sur le tube ;
- Demandez au patient d'utiliser un mouchoir (en papier à usage unique) pour se moucher et jeter le mouchoir dans le sachet pour matières infectieuses ;
- Si le patient est assis, maintenir la tête du patient légèrement inclinée en arrière pour que le passage entre la partie avant du nez et le naso-pharynx soit en ligne droite. Les nourrissons doivent être mis en décubitus dorsal ;
- Insérer l'écouvillon dans la narine, le pousser délicatement le plus loin possible en suivant le plancher de la fosse nasale, parallèlement au palais ; jusqu'à ce qu'une résistance soit rencontrée indiquant le contact avec le naso-pharynx ;



- Réaliser des mouvements rotatifs en grattant les parois du naso-pharynx pendant quelques secondes. Laisser l'écouvillon en place pendant 5 à 10 secondes pour absorber les sécrétions avant de le retirer ;
- Retirez lentement l'écouvillon (le coton de l'écouvillon doit être recouvert de mucus) et placez-le immédiatement dans le tube de collecte (contenant le milieu de transport pour virus), casser la tige qui dépasse, de manière aseptique, et refermer le tube ;
- Placer le tube dans le sachet plastique (rouge) à fermeture à zip avec pochette Kangourou ;
- Jeter le masque, les gants et tout matériel contaminé dans le sachet à déchets infectieux ;
- Se laver les mains soigneusement à l'eau et au savon ou utiliser un gel hydro-alcoolique ;
- Remplir la fiche de renseignements, la plier et la placer dans la pochette kangourou ;
- Transmettre le plus rapidement possible au laboratoire (maximum 2 heures si conservation à température ambiante, 22 heures si conservation à + 4°C).

## Fiche Clinique Syndromes Grippaux

**Information préalable du patient :** En vertu des Lois de « protection des données personnelles », chaque patient doit être informé de l'utilisation possible, par le laboratoire, à des fins de recherche, et dans le respect de la confidentialité, de son ou ses échantillon(s) biologique(s) ainsi que des données qui y sont associées.

Le laboratoire pourrait conduire certains travaux de recherche en vue d'améliorer le diagnostic et les connaissances générales sur les virus respiratoires. *Toute recherche en matière de génétique humaine est exclue de cette démarche.*

Chaque patient peut, s'il le souhaite, refuser l'utilisation de ses prélèvements et/ou données personnelles à des fins de recherche.

Suite à cette information, le patient (ou pour les mineurs, le(s) titulaire(s) de l'autorité parentale / pour les majeurs sous tutelle, le tuteur),

s'oppose

ne s'oppose pas à l'utilisation secondaire de son (ses) prélèvement(s) et données associées.

### **Identification du Médecin**

Privé.....

Hôpital : .....

Clinique : .....

Centre de Santé : .....

Téléphone/GSM : .....

### **Cachet & Signature du médecin**

### Identification du malade

Nom : ..... Prénom : .....

Sexe : M  F  Date de naissance (ou âge) : .....

Ville - Quartier : ..... Profession : .....

### Données cliniques

Date des premiers signes cliniques (< 10 jours) : /...../...../...../

Fièvre ..... °C ; Toux  ; Dyspnée  ; Asthénie  ; Myalgies  ; Expectorations  ;

Rhinite  ; Bronchite  ; Autres symptômes .....

Facteurs de risque : Grossesse  ; Maladie respiratoire chronique  : .....

Diabète  ; Maladie cardiovasculaire  : ..... ; Obésité  ; Hospitalisation  ;

Insuffisance rénale chronique  ; Autre  : .....

### Données Epidémiologiques

Contexte : Isolé  ; Familial ..... ; Travail  ; Voisins  ; Ecole

Vaccination antigrippale :  Oui date..... Nom du Vaccin  .....

Voyage à l'étranger < 15 jours avant le début des symptômes :

Non  ; Oui pays  : .....

### Prélèvements

**Date du prélèvement :**..... **Type :** Naso-pharyngé  ; autre  .....

**Date et heure de réception au labo :** .....

**Résultats :** **RT-PCR M :**  Positif  Négatif ; **RT-PCR :** Grippe A :  Positif  Négatif /  
Grippe B :  Positif  Négatif / Sous-typage Grippe A :  H3N2  H1N1pdm09  Non typable /  
Autres Virus respiratoires :  VRS  Rhinovirus  MERS-CoV /  Autres : .....



## Annexe N° 4

# PRECONISATIONS DES LABORATOIRES DE BACTERIOLOGIE, PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE ET MYCOBACTERIOLOGIE

### 1. Bonnes pratiques de l'ECBU

#### Mesures d'hygiène et de sécurité

- Se laver les mains avant et après le recueil des urines.
- Utiliser des gants stériles pour la pose des poches pédiatriques.

#### Patient non sondé avec miction volontaire prélevé au laboratoire

Le patient à miction volontaire réalise lui-même le prélèvement après avoir reçu par les infirmières les informations indispensables et matériels présentés (flacon d'ECBU sur lequel est collée l'étiquette code à barre d'identification).

Prélever si possible soit les urines du matin ou ayant séjourné au moins 4 heures dans la vessie.

Le recueil s'effectuera de la manière suivante :

##### **Chez la femme :**

- Désinfecter l'orifice urinaire et la vulve avec des lingettes désinfectantes ou savon doux ou une solution antiseptique puis essuyer avec une compresse stérile ;
- Ces opérations se font toujours d'avant en arrière ;
- Uriner en position naturelle en maintenant les grandes lèvres écartées ;
- Rejeter les premiers millilitres (10-50 ml) de la miction ;
- Recueillir les 20 à 30 ml suivants dans un flacon stérile ;
- Fermer hermétiquement le flacon, et le remettre à l'infirmière ;
- L'infirmière identifie le prélèvement lorsque le patient lui remet le flacon et renseigne sur le pot **l'heure du recueil**.

##### **Chez l'homme :**

- Désinfecter le gland et l'orifice urinaire (avec la lingette désinfectante), puis bien rincer à l'eau ;
- Rejeter les premiers millilitres (10-50 ml) de la miction ;
- Recueillir les 20 à 30 ml suivants dans un flacon stérile en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient ;
- Fermer hermétiquement le flacon, et le remettre à l'infirmière ;
- L'infirmière identifie le prélèvement lorsque le patient lui remet le flacon étiqueté (étiquette d'identification) et renseigne sur le pot **l'heure du recueil**.

#### Patient sondé à demeure

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 (étiquette d'identification) et **l'heure de l'acte**.

## Nourrisson et jeune enfant

### Chez les enfants qui ont une miction volontaire

- La méthode de choix est la collecte d'urine en milieu de jet.

### Prélèvement utilisant un collecteur d'urine pédiatrique

- Le collecteur d'urine est posé au niveau du box pédiatrique.
- L'infirmière montre à l'accompagnateur la méthode de nettoyage avec du savon doux de la région vulvaire ou le méat urinaire de l'enfant suivi d'un rinçage à l'eau en terminant par une désinfection avec une lingette antiseptique
- Mettre l'enfant sur le dos les jambes écartées ;
- Nettoyer soigneusement la peau avec une lingette imprégnée d'un antiseptique ou utiliser la solution de Dakin ;
- Détacher et jeter la découpe centrale ;
- Retirer doucement et complètement le revêtement qui protège l'adhésif, Appliquer en massant pour garantir une bonne adhérence ;
- Attendre que l'enfant urine ;
- Si l'enfant n'a pas uriné 1 heure après la pose du dispositif, il doit impérativement être éliminé et remplacé par un collecteur neuf. L'accompagnateur contacte l'infirmière pour avoir les matériels nécessaires et se chargera de remplacer la poche ;
- Pour enlever la poche, soulever un coin et détacher doucement ;
- Dès la miction terminée, l'accompagnateur remet la poche à l'infirmière ;
- L'infirmière dépose la poche dans un pot et colle l'étiquette d'identification du prélèvement en **notant l'heure**.

## Circonstances particulières

### Recueil des urines de premier jet

Le recueil du premier jet d'urine après un éventuel massage prostatique est indiqué notamment en cas de :

- Suspicion d'infection urétrale ou prostatique ;
- Recherche de *Chlamydia trachomatis* chez l'homme.

### Recherche de mycobactéries

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.

### Transfert des prélèvements au laboratoire

Transférer le prélèvement sans délai au laboratoire.

### Conservation et transport des urines prélevées à l'extérieur

- Le prélèvement est idéalement réalisé au laboratoire mais peut être effectué à l'extérieur du laboratoire en respectant les conditions de recueil, d'acheminements et de conservation de l'échantillon d'urines ;
- Les urines recueillies dans un récipient stérile doivent être acheminées rapidement au laboratoire ;
- Les urines ne doivent jamais être conservées plus de 2 heures à température ambiante ;

- A défaut, les urines peuvent être conservées à +4°C pour une durée maximale de 24h ;
- L'utilisation de milieux de conservation (tampon borate par exemple, [non disponible au laboratoire](#)) permet de conserver les urines à température ambiante pendant au moins 48h.

## 2. Prélèvement ano-génital (bactériologie)

Les prélèvements doivent permettre l'examen direct et l'ensemencement (deux écouvillons)

**Urétrites** Un prélèvement endo urétral à l'écouvillon.

**Ulcération anogénitale** Le recueil de la sérosité se fera au niveau de la base ou des bords de l'ulcère avec un vaccinostyle, une öse, une curette ou un écouvillon.

**Pustules** Le recueil du contenu à la seringue (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)) ou à l'écouvillon.

**Prélèvements du tractus génital chez la femme : Les prélèvements génitaux se font sous spéculum avec un éclairage adapté.**

**Vulvo-vaginites** Ecouvillonnage des sécrétions de l'orifice vaginal et de la voûte vaginale postérieure.

**Bartholinites** Aspiration à la seringue du canal (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)) ou prélèvement à l'écouvillon.

**Cervicite** Ecouvillonnage de l'endocol.

**Endométrite** Prélèvement d'endocol et éventuellement à l'aspiration transcervicale par cathéter qui sont du domaine du spécialiste (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)).

**Annexite** Le liquide d'abcès se prélève à la seringue et les cellules tubo-péritonéales par brossage au cours de l'acte chirurgical (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)).

**Matériel intra-utérin** L'examen bactériologique se fait sur le matériel et sur l'éventuel pus (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)).

## **Prélèvements génitaux masculins (deux écouvillons fins)**

**Epididymites et prostatites** Ecouvillonnage urétral ou prélèvement de sperme, ou recueil du premier jet urinaire dans un flacon stérile.  
Le prélèvement de sperme peut être réalisé sans période d'abstinence, mais après une miction suivie d'une désinfection soignée du gland à l'aide d'un antiseptique et rinçage

**Orchites** Prélèvement d'abcès à la seringue (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)).

**Sperme** Réaliser le prélèvement après une abstinence de 2 à 8 jours, après une miction et une désinfection du gland.  
Le prélèvement du sperme est réalisé au laboratoire ou à domicile, maintenu à température ambiante et acheminé au laboratoire en moins d'une heure

### 3. Prélèvement ORL

#### Prélèvement de gorge

- Il doit être réalisé avant toute antibiothérapie locale ou générale ;
- On procède à l'écouvillonnage des amygdales (ou de l'amygdale atteinte en cas d'amygdalite unilatérale) ou, des piliers du voile du palais ;
- On réalise deux écouvillons ;

Quelques points particuliers, fonction du contexte, sont à signaler :

- en présence d'une ulcération ou d'un exsudat, le prélèvement doit s'effectuer à leur niveau ;
- lors d'une suspicion de diphtérie, le prélèvement doit porter sur la périphérie des fausses membranes ;
- pour la recherche de *N. gonorrhoeae*, si la mise en culture ne peut être immédiate, l'utilisation d'un milieu de transport de type Stuart ou Amies est indispensable (non fourni par le laboratoire).

#### Prélèvement auriculaire

**Pus de paracentèse** Réaliser le prélèvement à l'aide d'un cathlon monté sur seringue (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)) puis verser le pus dans un pot stérile ou à l'aide de deux écouvillons fins (alginate ou dacron) montés sur tige métallique.

**Otites chroniques** Le prélèvement est en général effectué à l'aide de 2 écouvillons fins.

**Otites externes** On élimine les débris et croûtes présents dans le conduit auditif à l'aide d'un premier écouvillon en coton humide, puis deux écouvillonnages successifs sont réalisés.

#### Prélèvements oculaires : Ils concernent essentiellement les prélèvements conjonctivaux :

**Conjonctivite** le prélèvement est effectué :  
 - avant toute toilette faciale ;  
 - au niveau de l'angle interne de l'œil ;  
 - avec deux écouvillons.

**Blépharite** on prélèvera alors les croûtes palpébrales et un ou deux cils à la pince à épiler stérile (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)).

**Orgelet** L'orgelet est ouvert avec un vaccinostyle stérile pour prélever le pus (à la pipette ou à l'écouvillon) (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)).

**Dacryocystite** recueil du pus au niveau des points lacrymaux palpébraux après pression sur les sacs lacrymaux (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#))

**Ulcère de Cornée** le prélèvement est effectué avec un coton monté après anesthésie locale (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)).

### 4. Prélèvement de sécrétions broncho-pulmonaires

#### Expectorations

Il doit se faire le matin, au réveil, après rinçage bucco-dentaire à l'eau distillée stérile et lors d'un effort de toux. L'examen bactériologique doit être effectué sans délai.

### **Crachats recherche de BK**

Les crachats seront prélevés le matin (de préférence à jeûne), chez un sujet qui se sera préalablement rincé la bouche à l'eau, à la suite d'un effort de toux, qui ramène les sécrétions bronchiques accumulées pendant la nuit.

Un volume de 5 ml représente une quantité convenable, le minimum exigible est de 2 ml. Le prélèvement est rapidement acheminé vers le laboratoire, sinon il sera conservé à + 4°C au réfrigérateur.

### **Brossage bronchique protégé (prélèvement réalisé par le praticien traitant)**

- Glisser la brosse télescopique au travers du fibroscope et dirigée sous contrôle de la vue dans une petite bronche de 4<sup>e</sup> ordre drainant le territoire pulmonaire radiologiquement suspect ;
- Réaliser le prélèvement bactériologique. Replacer la brosse dans la gaine et sortir le guide du fibroscope ;
- Sortir la brosse de la gaine et la couper avec des ciseaux stériles pour qu'elle tombe dans 1 ml de liquide (eau physiologique tamponnée stérile ou liquide de Ringer) que l'on agite doucement 2 minutes sur place au lit du malade.
- Apporter le prélèvement sans délai au laboratoire.

### **Lavage broncho-alvéolaire (prélèvement réalisé par le praticien traitant)**

- Instiller après blocage du bronchofibroscope dans une bronche segmentaire ou sous-segmentaire des échantillons de 50 ml de sérum physiologique (à 37°C) 4 à 6 fois et on ramène entre 20 et 60 % de la quantité injectée.
- Envoyer rapidement le pot d'aspiration du dispositif LBA rapidement au laboratoire

### **Tubage gastrique : recherche de BK (prélèvement réalisé par le praticien traitant)**

Il consiste à prélever directement dans l'estomac, les sécrétions bronchiques qui ont été dégluties inconsciemment pendant le sommeil.

Cette épreuve sera réalisée chez un sujet :

- maintenu à jeun ;
- alité depuis la veille au soir ;
- le plus tôt possible après le réveil.

Utiliser une sonde à usage unique, présentant, à son extrémité distale, des perforations nécessaires au passage du liquide et, à son extrémité proximale, un embout auquel s'adapte la seringue nécessaire à l'aspiration.

Sur ces sondes, des repères indiquent, par rapport aux arcades dentaires, les distances correspondant au cardia et au pylore. Quand la sonde est dans l'estomac, monter une seringue et aspirer le liquide gastrique. Mettre le prélèvement dans un pot stérile.

## **5. Prélèvements superficiels**

### **Plaie superficielle, brûlure, abcès ouvert, ulcération, escarre, lésions cutanées nécrotiques, Inflammation cutanée, érysipèle, hypodermite.**

- Nettoyer la plaie, éliminer les exsudats, débrider les tissus nécrosés si nécessaire.
- Rincer à l'eau physiologique stérile ;
- Faire une Biopsie (non fait au laboratoire) de la lésion ou cureter le bord actif de la lésion ;
- Eventuellement aspirer à l'aiguille fine le liquide inflammatoire produit par la lésion (très peu de matériel est suffisant). Si nécessaire, aspirer ensuite 1 ml d'eau physiologique stérile pour éviter que le prélèvement ne se dessèche dans la seringue ;

- Ecouvillonnage peu fiable.

### **Prélèvements réalisés au cours d'opération sur matériel implanté ou sur lésion osseuse (prélèvement réalisé par le praticien traitant)**

- Effectuer au minimum 3 prélèvements (écouvillonnages ou biopsies) en des sites anatomiques différents (régions osseuses diverses, matériel implanté, ciment...) et bien les identifier sur la demande d'examen ;
- Pré découper les prélèvements de manière stérile.

### **Fistule, aspiration à l'aiguille fine d'une lésion profonde (prélèvement réalisé par le praticien traitant)**

- Désinfecter la partie cutanée ou la partie superficielle. Laisser sécher ;
- Aspirer à l'aiguille la partie la plus profonde de la lésion et aspirer ensuite si nécessaire 1 ml d'eau physiologique stérile pour éviter que le prélèvement ne se dessèche dans la seringue ;
- Réaliser également un prélèvement biopsique de la paroi du trajet fistuleux.

### **Morsures**

- Aspirer le pus de la blessure dans une seringue (non fait au laboratoire); aspirer ensuite 1 ml d'eau physiologique stérile ;
- A défaut : 2 écouvillonnages profonds.

## **6. Prélèvements profonds**

### **Biopsie (prélèvement réalisé par le praticien traitant)**

- Placer la biopsie au fond d'un tube stérile ;
- Ajouter 3 ou 4 gouttes d'eau physiologique stérile (jamais dans un fixateur) pour les petits échantillons.

Les prélèvements effectués aux blocs opératoires doivent être rapidement acheminés au laboratoire et accompagnés de renseignements cliniques ainsi que la localisation précise de l'endroit où ils ont été effectués.

Les prélèvements de liquides péritonéaux, de pus d'abcès et de sérosités sont recueillis à l'aide d'une seringue qui sera rebouchée hermétiquement et stérilement ou déposées dans un pot stérile.

Les recherches de *Chlamydia* et de *Mycoplasma* sont effectuées à partir des biopsies des trompes ou d'adhérences du péritoine, le produit de brosse tubaire, le liquide de Douglas.

Les biopsies chirurgicales sont déposées dans un pot stérile.

### **Ponction (prélèvement réalisé par le praticien traitant)**

Ils sont indiqués pour les suppurations d'une séreuse, d'un organe creux, d'un tissu ou d'une cavité abcédée. Ces prélèvements peuvent être complétés par des hémocultures. Après désinfection, les prélèvements de liquides, de pus d'abcès et de sérosités sont recueillis à l'aide d'une seringue qui sera rebouchée hermétiquement et stérilement ou le prélèvement peut être déposé dans un pot stérile.

Il faut obtenir une quantité de liquide suffisamment importante pour réaliser les analyses bactériologiques, parasitologiques et mycologiques.

## **LCR (prélèvement réalisé par le praticien traitant)**

Dans le diagnostic d'une méningite aiguë l'examen cytochimique du LCR permet de reconnaître ou de suspecter une étiologie bactérienne justifiant un traitement antibiotique immédiat.

Le prélèvement s'effectue chez un patient en milieu hospitalier par ponction lombaire entre 2 vertèbres (L4 et L5), le patient est assis penché en avant ou couché sur le côté. La ponction est faite par une aiguille pour ponction lombaire après aseptie rigoureuse.

Recueillir 3 ml de LCR dans 3 tubes stériles en verre pour les examens biochimique, microbiologique et cytologique.

L'acheminement du LCR vers le laboratoire doit se faire sans délai et à l'abri du froid.

## **7. Coproculture et parasitologie des selles (KOP)**

- Cet examen est à effectuer, si possible, lors des épisodes diarrhéiques. Il est souhaitable de faire cet examen à distance de tout traitement ;
- Recueillir les selles dans le flacon stérile ;
- Identifier le flacon avec votre nom et prénom si cela n'a pas été fait par le laboratoire. Noter la date et l'heure du recueil ;
- Acheminement dans les plus brefs délais si possible ;
- Le flacon peut être conservé **au maximum 24h au réfrigérateur et 2h à température ambiante.**

## **8. Examen parasitologique du sang (recherche de paludisme dans le sang)**

Le médecin doit fournir au laboratoire les renseignements cliniques relatifs au patient. Le moment le plus favorable pour effectuer le prélèvement varie selon l'espèce parasitaire recherchée. De manière générale, il devra être pratiqué avant la mise en œuvre d'un traitement spécifique. Pour la recherche du **Plasmodium**/ on prélèvera au moment des pics fébriles. Concernant les **microfilaires**, il faut tenir compte de leur périodicité diurne (**Loa loa**) ou nocturne (**Wuchereria bancrofti**).

- A l'aide d'un vaccinostyle, prélever une grosse goutte de sang capillaire en la déposant directement à l'extrémité d'une lame porte objet ;
- A l'aide du coin d'une deuxième lame, étaler la goutte sur 1 cm de diamètre en tournant pendant quelques secondes ;
- Laisser sécher avec soin, ne jamais fixer (cela altère la coloration) ;
- Réaliser aussi une ponction veineuse sur tube EDTA.

## **9. Hémocultures**

- Prélever de préférence lors d'un pic fébrile ;
- Prélever avant les autres prélèvements sanguins ;
- Avant le prélèvement : vérifier la date de péremption des 2 flacons ;
- Repérer et indiquer avec un marqueur, le niveau du bouillon dans chacun des deux flacons ;
- Retirer la capsule en plastique des flacons ;
- Désinfecter les bouchons avec une compresse imbibée d'alcool à 70° ou d'une solution iodée ;
- Laisser la compresse jusqu'au prélèvement ;
- Désinfection large de la zone de prélèvement du centre vers la périphérie avec une solution iodée ou alcoolique à 70°C ;
- Prélever de préférence avec une aiguille à ailettes montée sur un adaptateur (corps de pompe) ou avec une seringue de 20 ml ;
- Prélèvement avec aiguille à ailettes : prélever dans l'ordre le flacon aérobie puis le flacon anaérobie. Engager à fond le flacon dans le corps de pompe pour perforer le

bouchon. Prélever environ 8 à 10 ml de sang par flacon (si besoin, s'aider des graduations sur le côté du flacon et du niveau repéré au marqueur) ;

- Prélèvement avec seringue : distribuer 10 ml dans chaque flacon : prélever dans l'ordre le flacon anaérobie puis le flacon aérobie. En cas de difficulté (ex. prélèvement pédiatrique) : privilégier le flacon aérobie (4 ml minimum) ;
- Agiter immédiatement après le prélèvement les flacons (par 2 - 3 retournements successifs) et les identifier : nom, prénom, date, heure de prélèvement et si possible température du patient ;
- Transmettre au laboratoire, dans les plus brefs délais, à température ambiante.

## 10. Prélèvement cutané : Mycologie

### **Avant le prélèvement**

- Faire un interrogatoire détaillé : notion de voyage récent en zone tropicale, métier exercé, animaux de compagnie, loisirs (piscine, cheval) ;
- S'assurer que le malade n'est pas sous traitement antifongique local ou général. Le prélèvement doit être réalisé avant la mise en route de tout traitement antifongique ou bien après une fenêtre thérapeutique de 4 semaines.

### **Lésions de la peau glabre**

#### Lésions squameuses :

- Racler les squames à la périphérie des lésions à l'aide d'une lame de bistouri stérile, d'un grattoir de Vidal ou, à défaut, d'un vaccinostyle stérile. Puis frotter avec une compresse stérile ;
- Recueillir les échantillons dans une boîte de Petri ou un pot stérile ;
- Réaliser un prélèvement à la cellophane adhésive (« scotch-test ») pour le diagnostic rapide du Pityriasis versicolor. Cette technique n'est réalisable ni sur les régions pileuses ni sur les lésions inflammatoires ou suintantes. Dans ces cas, des squames sont prélevées à l'aide d'une curette mousse.

#### Plaies cutanées :

- Ecouvillonner (2 écouvillons stériles) les lésions concernées après les avoir nettoyées à l'alcool à 70° pour éviter le développement de la flore bactérienne contaminante en culture.

### **Lésions des plis**

#### Lésions non inflammatoires :

Nettoyer à l'alcool à 70° pour éviter le développement de la flore bactérienne contaminante en culture.

Selon l'aspect des lésions :

- **Lésion sèche et squameuse :**
  - o gratter à la curette les squames en bordure de la lésion ; frotter avec compresse stérile (pour recherche de dermatophytes).
- **Lésion macérée et suintante :**
  - o frotter les sérosités successivement à l'aide de 2 ou 3 écouvillons.
- **Lésion vésiculeuse :**
  - o percer les vésicules puis prélever la sérosité à l'écouvillon;
- **Lésions unguéales**
  - o Couper toute la partie de l'ongle atteint avec des ciseaux, jusqu'à la limite des tissus sains. Il est aussi possible de prélever des poussières d'ongles en raclant la tablette interne de l'ongle, ou les îlots blanchâtres de la surface de l'ongle, au vaccinostyle ou à la lame de bistouri stérile ;



- Prélever le pus de périonyxis éventuel (écouvillon).
- **Lésions du cuir chevelu et des zones pileuses**
- Examiner les cheveux sous une lampe de Wood ;
- Arracher avec une pince à épiler les cheveux fluorescents (cas des teignes microsporique et favique) ;
- Sinon, prélever les cheveux cassés à la loupe à proximité du bulbe. Prélever les squames et les croûtes éventuelles en raclant à la curette ;
- En cas de lésions inflammatoires suppurées, prélever les suppurations avec un écouvillon. La technique dite du «carré de moquette» **doit être** utilisée ;

### Prélèvement des ongles (périonyxis)

- Prélever les squames au niveau de la jonction partie saine – partie malade ;
- Prélever le pus en cas de périonyxis à l'aide de l'öse stérile ou un écouvillon ;
- Le prélèvement des grains se fait à l'aide d'une lame de Bistouri au niveau des nodules (cas des mycétomes).

### Autres

#### Lésions nodulaires, papuleuses, verruqueuses.....

- Le prélèvement de ce type de lésion s'effectue par écouvillonnage (ou ponction avec une aiguille stérile : prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)) ;
- Une biopsie peut également être réalisée après désinfection de la surface par un antiseptique (prélèvement [réalisé par le praticien traitant](#)).

## **Annexe N° 5**

### **PRECONISATIONS DES PRELEVEMENTS ANATOMOPATHOLOGIQUES**

#### **1. Examen Histopathologique : consignes et conditions générales du prélèvement**

##### **i- Demande d'examen**

Cette demande doit contenir :

- les informations permettant une identification univoque du patient et du médecin prescripteur ;
- les informations cliniques utiles à l'analyse et à l'interprétation des résultats.

Toute demande, pour être acceptée par le service, doit être soigneusement identifiée avec au minimum les informations suivantes :

- **Identifiant du patient** : Nom & Prénom, Sexe, Date de naissance, Numéro du dossier, Anamnèse, Mutuelle.
- **Identifiant du médecin prescripteur** : Le service d'où vient le prélèvement, le nom & prénom du médecin, le numéro téléphone, la date de prescription, le destinataire des résultats avec l'adresse exacte et actualisée du lieu où il pratique.
- **Pour l'échantillon** : Les informations indiquées sur le(s) prélèvement(s) et la demande doivent être en concordance parfaite pour que la demande puisse être définie comme conforme.  
La date et l'heure du prélèvement, ainsi que le site anatomique d'origine et l'objectif du prélèvement doivent être précisés.

##### **ii- Données cliniques**

Le médecin prescripteur ou préleveur doit préciser le but de l'analyse, Il faut :

- indiquer les antécédents médicaux quand ils sont connus ;
- signaler si le même test a déjà été réalisé (dans un autre laboratoire, suivi médicale effectuée, etc.) et en donner le résultat ;
- signaler les traitements intercurrents s'ils peuvent interférer avec les résultats de l'analyse demandée ;
- les diagnostics connus, soupçonnés ou à écarter doivent être mentionnés ;
- le but de l'examen (spécialement dans le cas des examens extemporanés).

##### **iii-Prélèvement**

Tout incident survenant au cours du prélèvement et qui pourrait avoir un impact sur la qualité du tissu prélevé, doit être signalé sur la demande.

Pour chaque pièce opératoire orientée par des fils ou autre, il faut préciser clairement dans la demande l'identification de ces fils ou autre.

Tous les échantillons destinés en Anatomopathologie (excepté les extemporanées) sont, fixés immédiatement par une solution à base de **formol tamponné à 10%**, **aucun autre type de fixateur n'est accepté** : c'est une exigence technique pour assurer la qualité des analyses spéciales éventuelles (immunohistologie, biologie moléculaire).

- La fixation doit se faire rapidement, dans l'heure qui suit le prélèvement ;
- La quantité de formol utilisée doit être suffisante pour recouvrir l'échantillon dans son Entièrement (**10 fois le volume de la biopsie et au moins 2 fois le volume de la pièce**) ;
- L'heure de la fixation de l'échantillon doit être mentionnée sur la demande ;
- La durée de fixation recommandée varie entre **6 et 48 heures pour les biopsies et 24 à 72h pour les pièces opératoires. Ce délai est une donnée à remplir sur le formulaire** ;
- La fixation se réalise à la température ambiante ; **ne pas chauffer, ne pas congeler** ;

- Le préleveur veillera scrupuleusement à l'**étanchéité des flacons**, les pots mal fermés constituent une grande part de non-conformité et nuisent à la qualité du prélèvement :
  - mauvaise fixation due à la perte du niveau suffisant de formol ;
  - perte possible de l'échantillon (pot vide !) ;
  - danger chimique pour les utilisateurs.

Le médecin demandeur devra vérifier la fixation adéquate du prélèvement et émettra une réserve dans le cas contraire.

Tous les tissus biologiques doivent être considérés comme potentiellement infectieux et donc les mesures préventives de base doivent être appliquées aux règles ou mesures de précaution universelles.

Pour tout prélèvement urgent, autre que les prélèvements extemporanés, une procédure d'acheminement d'urgence est possible, pour ce appeler le laboratoire d'anatomopathologie.

#### **iv- Examen extemporané**

Il s'agit d'examen histologique réalisé en urgence. Le but de cet examen est d'adapter la procédure chirurgicale aux caractéristiques de la pathologie mise en évidence durant l'intervention.

Les techniques histologiques de cet examen se basent sur la technique de coupes à congélation. Les coupes sont réalisées au cryostat et colorées selon la technique HE-extemporanée.

**L'avantage de cette technique est sa rapidité** (5 minutes/lame).

Le diagnostic posé extemporanément doit être validé par l'analyse du prélèvement congelé, après fixation et coloration classique.

#### Renseignements pratiques:

- La technique se pratique uniquement à partir de matériel frais, **ne pas mettre de sérum physiologique ni de fixateur** ;
- Pour l'examen extemporané, il se fait sur RDV, le prélèvement à l'état frais doit arriver dans le plus bref délai au laboratoire d'Anatomopathologie (**délai d'acheminement inférieur à 30 minutes**) ;
- Le laboratoire doit être joignable via le téléphone ;
- Le résultat est transmis dans les 45 minutes maximum ;
- Le protocole extemporané est transmis par téléphone. Il est intégré au protocole final associé à la validation définitive.

#### **Fiche de non conformité**

Une gestion de la conformité des prélèvements doit assurer une prise en charge optimale pour assurer la qualité des examens anatomopathologiques demandés. Toute personne, à tout niveau, doit relever le non conformité, qu'elle constate.

#### **Récapitulatif et Liste des non-conformités des examens anatomoopathologiques**

Nature de la non-conformité	Niveau
Utilisation d'un mauvais fixateur (autre que le formol tamponné 10%)	
Prélèvement non identifié (absence nom/prénom sur le flacon transmis)	<b>Bloquant</b>
Inversion d'identité (permutation des prélèvements)	

Absence de prélèvement dans le flacon transmis (flacon vide : prélèvement perdu, prélèvement non réalisé)	
Lames de cytologie reçues brisées	
Délai avant fixation supérieur à 1 heure ou non mentionné	
Temps de fixation non renseigné	
Prélèvement coloré à l'éosine	
Absence de renseignements sur la nature et le siège du prélèvement	
Discordance entre le nom du patient sur le prélèvement / sur la demande	Non Bloquant
Discordance nombre de prélèvements reçu/nombre sur la demande	
Flacon inadapté au prélèvement	
Erreur sur l'identité (erreur de prénom)	
Tissu frais pour extemporané reçu tardivement (plus de 30 min)	
Etallements cytologiques non identifiés	

### **Etendue des non conformités bloquantes**

Dans la mesure du possible et au bénéfice du patient, aucune analyse n'est jamais «bloquée définitivement» mais seulement « temporairement » jusqu'à résolution du problème rencontré et elle est réalisée dans les meilleurs délais, avec retard éventuel du résultat.

En effet, Dans le cas d'un échantillon primaire irremplaçable ou critique, l'analyse pourra être réalisée dans les meilleurs délais, mais le résultat ne sera délivré qu'après obtention d'une confirmation écrite ou téléphonique prouvant que la personne responsable du prélèvement en assume la pleine responsabilité et qu'elle fournisse les informations nécessaires. Dans ce cas-là, il convient que la signature de la personne attestant l'identification soit enregistrée avec la demande ou qu'elle puisse y être rattachée. Si, pour une raison quelconque, cette exigence n'est pas respectée, il convient que le nom de la personne responsable soit reporté dans le compte rendu du résultat.

## **2. Examen Cytopathologique : conditions générales du prélèvement**

### **Cytologie Gynécologique « Frottis Cervico-Vaginal (FCV) / Frottis Cervico-Utérin (FCU) »**

- **Intérêts**

Il s'agit d'un prélèvement au niveau du **col utérin** et de la partie profonde du **vagin (FCV)**, afin de dépister précocement toute anomalie cellulaire pouvant évoquer la présence d'une lésion précancéreuse ou d'un cancer du col utérin.

Actuellement le frottis n'est effectué qu'au niveau du col utérin (au niveau de l'exocol et de l'endocol) d'où la terminologie récente: **Frottis Cervico-Utérin (FCU)**.

- **Rythme et conditions de réalisation**

- Ils sont effectués une fois tous les 3 ans (quand le frottis est considéré tout à fait normal) et cela jusqu'à l'âge de 65 ans ;
- Le frottis doit être réalisé chez toutes les femmes en période d'activité génitale :
  - Il est réalisé en dehors des règles et de tout saignement ;

- Il doit être réalisé 48 h après un rapport sexuel ;
- Il ne faut pas qu'il soit réalisé après une toilette vaginale, ni après la mise en place d'ovules ou de crème vaginale (48 heures au moins), ni en cas d'infection cervico-vaginale (un mois après le traitement de l'infection).
  
- Le frottis cervico-utérin (FCU) est fait après installation en position gynécologique et après la mise en place d'un speculum sans lubrifiant.
  
- Le frottis cervico-utérin (FCU) peut être effectué :
- **Soit par la technique classique**, c'est-à-dire sur lames (une lame pour le frottis de l'exocol et la jonction endo-exocervicale, puis une deuxième lame pour le frottis de l'endocol).
  - Le prélèvement se fait par raclage à l'aide:
    - ✓ d'une petite spatule d'ayre (à extrémité simple et extrémité bifide) afin de réaliser les prélèvements au niveau de la muqueuse tapissant la portion vaginale du **col utérin**; ce prélèvement doit être obligatoirement réalisé au niveau de la jonction entre la muqueuse de l'exocol et la muqueuse de l'endocol ;
    - ✓ d'une petite brosse pour faire le prélèvement de la muqueuse tapissant l'endocol (le canal cervical).
- **Soit par la technique monocouche, dans un milieu liquide**: le frottis est effectué à l'aide d'une brosse spéciale permettant d'effectuer simultanément un prélèvement au niveau de l'exocol, de la ligne de jonction endo-exocervicale et de l'endocol; cette brosse est introduite dans le flacon de recueil qui contient le liquide de conservation.

### **3. Cytologie non gynécologique**

#### **Recommandations générales du prélèvement**

- Les **urines** sont prélevées et conservées dans des pots en plastique de 100 à 200 ml contenant du fixateur (formol 4%, pH neutre) :
- Le volume de fixateur doit représenter au minimum 25% du volume total du prélèvement ;
- Les urines fixées doivent être acheminées au laboratoire d'anatomopathologie dans les 24 heures maximum.
  
- Les **liquides céphalo-rachidiens (LCR)**, les **liquides d'ascite**, les **liquides péritonéaux**, les **liquides pleuraux**, les **liquides péricardiques**, les **liquides articulaires** etc... sont acheminés frais au laboratoire :
  - Le transfert doit être rapide (< 30 minutes) ;
  - Si le prélèvement ne peut être acheminé endéans les 30 minutes, il doit être fixé au formol (4%, pH neutre).
  
- Les **liquides de lavage broncho-alvéolaire (LBA)**, les **aspirations bronchiques**, les **brossages** d'origine bronchique etc... sont acheminés au laboratoire d'anatomopathologie fixés au formol (4%, pH neutre).