

Biologie médicale et de Cytogénétique





LABORATOIRES DE BIOLOGIE MEDICALE ET DE CYTOGENETIQUE

LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE SAINT PHILIBERT

Il centralise les analyses de bactériologie, biochimie, hématologie, immuno-hématologie, immunologie, adressées par les établissements de santé du Groupement des Hôpitaux de l'Institut Catholique de Lille et les autres établissements ou laboratoires partenaires.

Horaires d'ouverture

7 jours sur 7 24 heures sur 24

20 22 50 10

△ 03 20 22 50 11

LABORATOIRE D'URGENCE SAINT VINCENT DE PAUL

Il réalise un nombre limité d'analyses adaptées aux situations d'urgences lorsque la rapidité du résultat conditionne la prise en charge des patients.

Il ne peut en aucun cas se substituer au laboratoire central pour l'exploration biologique des situations courantes.

Il n'exécute que les analyses **expressément urgentes** adressées exclusivement par les services de l'Hôpital Saint Vincent de Paul.

Horaires d'ouverture

7 jours sur 7 24 heures sur 24

20 22 50 10

墨03 20 22 45 79

LABORATOIRE DE CYTOGENETIQUE SAINT VINCENT DE PAUL

Il réalise des examens de cytogénétique constitutionnelle prénatale et postnatale.

Horaires d'ouverture du secrétariat

Du lundi au vendredi De 9h à 17h 1 € 03 20 87 76 57

≜03 20 87 76 59

Accueil d'analyses possible de 8h00 à 18h00

CONTACTS

CHEF DE PÔLE

Pr Anne DECOSTER

Suppléant : Pr Bruno DELOBEL

ANALYTIQUE

CYTOGENETIQUE

Chef de service : Pr Bruno DELOBEL

Biologiste : Dr Bénédicte DUBAN-BEDU

MICROBIOLOGIE

Chef de service : Pr Anne DECOSTER

Biologiste : Dr Eric DEHECQ

Biologiste: Dr Anne-France GEORGEL

IMMUNOLOGIE

Chef de service : Pr Anne DECOSTER

Biologiste : Dr Benjamin DECKMYN

Biologiste: Dr Eric DEHECQ

Biologiste: Dr Anne-France GEORGEL

HEMATOLOGIE

Chef de service : Pr Agnès CHARPENTIER

Biologiste : Dr Judith BRUGE-DEBREU

IMMUNO-HEMATOLOGIE - TRANSFUSION

Correspondante d'hémovigilance : Dr Catherine LAFON

Biologiste: Dr Judith BRUGE-DEBREU

BIOCHIMIE

Chef de service : Pr Gérard FORZY

Biologiste : Dr Vincent CHIEUX

Biologiste : Dr Benjamin DECKMYN

EXAMENS DE BIOLOGIE DELOCALISEE

Responsable : Dr Vincent CHIEUX

Suppléant : Pr Agnès CHARPENTIER

CELLULE QUALITE

Biologiste Responsable Qualité : Dr Anne-France GEORGEL

Suppléant : Mme Ophélie DUMORTIER Suppléant : M. Philippe DEJARDIN

SYSTEME INFORMATIQUE DU LABORATOIRE

Responsable : Dr Catherine LAFON

Suppléant : Pr Anne DECOSTER

Suppleant : Pr Anne-France GEORGEL

CADRE DE SANTE MEDICO-TECHNIQUE

Saint Philibert: Mme Elodie DEROMBISE

Saint Vincent de Paul : M. Damien LAMBERTON

Assistante de gestion : Mme Béatrice HOUZE DE L'AULNOIT

Table des matières

| LABORATOIRES DE BIOLOGIE MEDICALE ET DE CYTOGENETIQUE | 1 |
|---|----|
| LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE SAINT PHILIBERT | 1 |
| LABORATOIRE D'URGENCE SAINT VINCENT DE PAUL | 1 |
| LABORATOIRE DE CYTOGENETIQUE SAINT VINCENT DE PAUL | 1 |
| CONTACTS | 2 |
| GENERALITES | |
| L'EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE | 6 |
| PRESCRIPTION | 7 |
| FICHES DE CONSENTEMENT ET DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES | 8 |
| AJOUT D'ANALYSES | 8 |
| ANALYSES EN PERIODE DE GARDE | 8 |
| CATALOGUE DES ANALYSES | 9 |
| PROTOCOLES D'ESSAIS CLINIQUES ET THERAPEUTIQUES | 10 |
| NON CONFORMITES | 11 |
| RESULTATS | 12 |
| RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES | 13 |
| IDENTIFICATION DU PRELEVEMENT | 14 |
| IDENTIFICATION DE LA FEUILLE DE PRESCRITPION | 15 |
| PRELEVEMENT DES TUBES | 16 |
| ORDRE DE PRELEVEMENT DES TUBES | 17 |
| CORRESPONDANCE ENTRE TUBES ET EXAMENS DE ROUTINE | |
| MATERIEL DE PRELEVEMENT | 19 |
| ACHEMINEMENT D'UN PRELEVEMENT AU LABORATOIRE | 20 |
| TRANSPORT DES ECHANTILLONS | 21 |
| PREPARATION DU PATIENT | 22 |
| ETAT DE JEÛNE | |
| RYTHME CIRCADIEN | 22 |
| POSITION | 22 |
| PRELEVEMENT SUR CATHETER | 23 |
| PRISE DE MEDICAMENTS | 23 |
| REGIMES ALIMENTAIRES | 23 |
| HYGIENE ET SECURITE | |
| ACCIDENT D'EXPOSITION AU SANG ET AUX LIQUIDES BIOLOGIQUES | |
| ELIMINATION DES DECHETS | |
| RECUEIL ET PRELEVEMENTS PARTICULIERS | |
| BIOCHIMIE | |
| BIOCHIMIE URINAIRE SUR URINES DE 24 HEURES | |
| HPO (HYPERGLYCEMIE PROVOQUEE PAR VOIE ORALE) | |
| TEST DE O'SULLIVAN | |
| CYCLE GLYCEMIQUE | |
| DOSAGE DES MEDICAMENTS | |
| GAZ DU SANG | |
| DOSAGE DE CHLORE DANS LA SUEUR | 27 |

| RECHERCHE DE CRYOGLOBULINEMIE | 28 |
|---|------------|
| DEPISTAGE D'UNE RUPTURE PREMATUREE DES MEMBRANES | 28 |
| EXAMENS DE CYTOGENETIQUE | |
| GENETIQUE POSTNATALE (CARYOTYPE, FISH, BIOLOGIE MOLECULAIRE) | |
| GENETIQUE PRENATALE (CARYOTYPE, FISH, BIOLOGIE MOLECULAIRE) | 31 |
| HEMATOLOGIE | |
| MYELOGRAMME: PONCTION DE MOËLLE OSSEUSE | 32 |
| CYTOMETRIE EN FLUX | 34 |
| HEMOSTASE | |
| CONDITIONS DE PRELEVEMENT EN CAS DE TRAITEMENT ANTI-COAGULA | ANT35 |
| BILAN DE THROMBOSE | 35 |
| TEST PHARMACODYNAMIQUE A LA DESMOPRESSINE (MINIRIN®) (WILLE | BRAND)35 |
| IMMUNO-HEMATOLOGIE | |
| GROUPE SANGUIN (GROUPE, RHESUS, PHENOTYPE) / RAI / COOMBS | 36 |
| IMMUNOLOGIE | 37 |
| SEROTHEQUE | 37 |
| QUANTIFERON | 37 |
| MICROBIOLOGIE | |
| Examen Cyto-Bacteriologique des Urines | 39 |
| RECHERCHE D'ANTIGENE LEGIONELLE ET/OU PNEUMOCOQUE | 40 |
| COMPTE D'ADDIS OU HLM | 40 |
| HEMOCULTURES | 41 |
| PRELEVEMENTS DE GORGE | 42 |
| PRELEVEMENTS DE PUS D'OREILLE | 43 |
| PRELEVEMENTS D'OEIL | 44 |
| PRELEVEMENTS D'EXPECTORATIONS (E.C.B.C) | 45 |
| RECHERCHE DE BORDETELLA PERTUSSIS (COQUELUCHE) | 46 |
| PRELEVEMENTS ENDOBRONCHIQUES (AET, LBA, ET DIVERS) | 47 |
| PONCTION PLEURALE | |
| PONCTION DE LIQUIDE CEPHALO-RACHIQIEN (L.C.R) | 49 |
| PONCTION ARTICULAIRE | 50 |
| PRELEVEMENTS OSSEUX: INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES CHRONIQUES OU SU | R MATERIEL |
| | |
| ABCES, COLLECTIONS PURULENTES | |
| PLAIES, ECOULEMENTS | |
| PRELEVEMENTS GENITAUX OU URETRAUX | |
| RECHERCHE MICROBIOLOGIQUE STANDARD | |
| RECHERCHE DE GONOCOQUES | |
| RECHERCHE DE MYCOPLASMES ET UREAPLASMES | |
| RECHERCHE DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS | |
| RECHERCHE DE STREPTOCOQUE B EN CONTEXTE OBSTETRICAL | |
| PRELEVEMENTS NEONATAUX | |
| COPROCULTURE | |
| RECHERCHE DE TOXINE DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE | |
| RECHERCHE DE SANG DANS LES SELLES | |
| RECHERCHE D'HELICOBACTER PYLORI DANS UNE BIOPSIE GASTRIQUE | 63 |

| DISPOSITIFS INTRAVASCULAIRES (CATHETERS, CHAMBRES IMPLANTABLE | S) 64 |
|---|-------|
| LIQUIDES DE DRAIN OU DE REDON | 65 |
| RECHERCHE DE B.M.R (BACTERIES MULTI-RESISTANTES) | 66 |
| RECHERCHE DE MYCOBACTERIES (BK ET MYCOBACTERIES ATYPIQUES) | 67 |
| Prelevements d'origine pulmonaire | 67 |
| Prelevements extra-pulmonaires | 68 |
| MYCOLOGIE | 69 |
| RECHERCHE DE DERMATOPHYTES | 69 |
| Plaie ou peau intacte - squames | 69 |
| Ongles | 69 |
| CHEVEUX - POILS | 69 |
| RECHERCHE DE LEVURES | 69 |
| PARASITOLOGIE | 70 |
| ASPIRATION DUODENALE | 70 |
| LIQUIDE: CEPHALO RACHIDIEN, ARTICULAIRE, PLEURAL, ASCITE, KYSTE | 70 |
| SCOTCH TEST : OXYURE ET TENIA | 70 |
| PEAU : LEISHMANIA ET ONCHOCERCA | 71 |
| Lesion ulceree (recherche leishmania) | 71 |
| PEAU INTACTE (RECHERCHE DE MICROFILAIRES) | 71 |
| SARCOPTE (GALE) ATTENTION CONTAGIEUX !! | 71 |
| SANG: PALUDISME, FILAIRE, TRYPANOSOMIASES – PONCTION DE MOEI | |
| LEISHMANIOSE | 71 |
| SELLES | |
| SIGMOÏDOSCOPIE | |
| ENTOMOLOGIE : TIQUES ET INSECTES | |
| URINES | |
| VERS | |
| VIROLOGIE | |
| RECHERCHE DES ANTIGENES GRIPPAUX (VIRUS INFLUENZAE DE TYPE A E | • |
| RECHERCHE DE VRS (VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL) | |
| RECHERCHE DE ROTAVIRUS ET ADENOVIRUS | |
| RECHERCHE DE VIRUS HERPES DANS LA PEAU ET LES MUQUEUSES | |
| RECHERCHE DE CYTOMEGALOVIRUS | 75 |

GENERALITES

L'EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE

Un examen de biologie médicale est un acte médical qui concourt à la prévention, au dépistage, au diagnostic ou à l'évaluation du risque de survenue d'états pathologiques, à la décision et à la prise en charge thérapeutiques, à la détermination ou au suivi de l'état physiologique ou physiopathologique de l'être humain (article L. 6211-1 du Code de la santé publique).

Un examen de biologie médicale se déroule en trois phases :

- ✓ la phase pré-analytique, qui comprend le prélèvement d'un échantillon biologique sur un être humain, le recueil des éléments cliniques pertinents, la préparation, le transport et la conservation de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il est analysé ;
- ✓ la phase analytique, qui est le processus technique permettant l'obtention d'un résultat d'analyse biologique;
- ✓ la phase post-analytique, qui comprend la validation, l'interprétation contextuelle du résultat ainsi que la communication appropriée du résultat au prescripteur et, au patient, dans un délai compatible avec l'état de l'art (article L. 6211-2 du Code de la santé publique).

PRESCRIPTION

La prescription est assurée par un **professionnel habilité** et doit répondre à une question clinique. Elle s'appuie sur les recommandations de bonnes pratiques et **si nécessaire sur un échange entre clinicien et biologiste médical**.

Services internes au GHICL

Le bon de demande d'examens est daté et comporte les renseignements pré-analytiques (date, heure de prélèvement et nom du préleveur) et cliniques nécessaires à l'interprétation des examens de biologie médicale. S'il s'agit d'une prescription, celle-ci doit être en plus signée.

Une information doit être donnée au patient et son **consentement** obtenu notamment pour les actes invasifs, le sérodiagnostic VIH et les analyses de génétique.

Plusieurs bons de demande d'examens sont disponibles :

| 1 idaledia botta de demande d'examena sont diaponibles : | | | | |
|--|---------------------------|--|--|--|
| Examens urgents | BON JAUNE | | | |
| Examens non urgents (hématologie, biochimie, biologie spécialisée) | BON SAUMON | | | |
| Examens d'immuno-hématologie (groupe sanguin, RAI, Coombs) | BON ROSE | | | |
| Examens de microbiologie (bactériologie, virologie, parasitologie, mycologie) | BON VERT | | | |
| Examens d'allergologie | BON BLEU | | | |
| Examens relatifs à une Accident d'Exposition au Sang | BON ORANGE VIF | | | |
| <u>Myélogramme</u> | | | | |
| Examens de cytogénétique • fiche de liaison • consentement pré natal ou post natal | Impression par le service | | | |



D'autres bons spécifiques à certains services ou examens, établis en collaboration avec les services, sont disponibles sur l'Intranet dans la rubrique Bons de demande



Les bons de demande doivent être complétés à l'aide des cases prévues à cet effet et l'ensemble des informations demandées doit y être retrouvé.

Etablissements extérieurs au GHICL

L'ordonnance, si elle ne comprend pas de champs prévus pour les renseignements pré-analytiques, est accompagnée de l'étiquette pré-analytique qui permet un recueil des informations pré-analytiques.

Laboratoires extérieurs au GHICL

Les laboratoires dans le cadre de sous-traitance transmettent les échantillons accompagnés d'une feuille de transmission précisant l'identité du patient, les demandes d'examens et les renseignements pré-analytiques.

FICHES DE CONSENTEMENT ET DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

Pour certains examens, des fiches de consentements ou de renseignements cliniques sont nécessaires pour :

- Aider à l'interprétation
- Mieux comprendre les résultats
- Respecter la réglementation (Ex : Fiches de consentement)

Ces documents sont disponibles au niveau du « Protocole préleveur » de l'examen correspondant au niveau du <u>catalogue des analyses</u>.

AJOUT D'ANALYSES

Il est possible de réaliser certaines analyses complémentaires sur les prélèvements déjà reçus. Le **rajout est validé par le laboratoire** en fonction des délais de stabilité pré-analytique définis par le laboratoire et du volume d'échantillon restant.

ANALYSES EN PERIODE DE GARDE

Tous les examens de biologie médicale (hors cytogénétique) sont réalisés du lundi au vendredi de 8h à 18h30.

Ils sont prescrits sur les différents bons adaptés aux examens ou à la notion d'urgence.

En dehors de cette période, la prise en charge des examens est définie par les tableaux suivants :

| | 18h30 – 8h Samedi à partir de 13h Dimanche et fériés | Samedi 8-13h | |
|-----------------------------|--|--|--|
| Biochimie et Hématologie | BON JAUNE | BON JAUNE + BON SAUMON (zones blanches) | |
| Immuno-hématologie | Groupes sanguins et RAI si transfusion | Pas de restriction | |
| Immunologie | Sérologies pour l'indication d'exposition au sang (AES) | | |

| | 18h30 – 8h Samedi, Dimanche et fériés à partir de 13h | Samedi 13h-17h Dimanche et fériés 8-13h | | |
|---------------|--|--|--|--|
| Microbiologie | Examen cytobactériologique du LCR Recherche du paludisme Recherche de Streptocoque B en urgence Ensemencement ECBU (suspicion de pyélonéphrite) | - Ensemencement ECBU: | | |

CATALOGUE DES ANALYSES

Le catalogue des analyses du pôle de Bio-pathologie du GHICL est disponible sur Intranet et Internet en suivant le lien suivant : <u>Catalogue des analyses</u>

Il doit constituer une aide lors de la prescription d'examens de biologie.

Mode d'emploi du catalogue :

La recherche peut s'effectuer :

1. Par ordre alphabétique : cliquer sur la lettre désirée

Liste des libellés par ordre alphabétique :



- 2. Par spécialité : choisir une spécialité parmi celles qui sont proposées
- 3. Par **nom** via le moteur de recherche : saisir le nom de l'examen souhaité * Puis appuyer sur Consulter



^{*} Des synonymes peuvent être paramétrés pour les examens concernés.

Cliquer sur l'examen souhaité : par exemple, • Sodium (sang)

La fiche de l'examen s'affiche :



« Protocole prélèveur »

Des informations spécifiques au prélèvement y figurent le cas échéant. Des accès aux fiches de renseignements cliniques, fiches de consentement, bons de demande sont disponibles par lien hypertexte.

PROTOCOLES D'ESSAIS CLINIQUES ET THERAPEUTIQUES

Aucun protocole ne sera mis en place sans l'aval de la direction de la recherche médicale, qui pilote la démarche et informe le chef de service du secteur du laboratoire concerné. Un cahier des charges du protocole d'essai clinique être adressé au chef de pôle et au chef de service et les bons de demande soumis à son approbation :

- ✓ Nom du protocole,
- ✓ Marche à suivre,
- ✓ Durée,
- ✓ Envoi des échantillons à l'extérieur : la logistique de l'envoi est à la charge du responsable de l'essai
- √ Financement de la société de transport
- ✓ Commande du milieu de transport (ex : carboglace)
- ✓ Prise en charge des analyses,
- ✓ Et toute autre information permettant d'effectuer le protocole dans les meilleures conditions

Aucune analyse ne sera réalisée et aucun prélèvement ne sera conservé sans concertation.

NON CONFORMITES

En cas de non-conformité relevée sur le bon de demande ou au niveau du prélèvement, le laboratoire le signale sur le bon de demande d'examen de la manière suivante :

- ✓ Type de non-conformité : La non-conformité relevée par le laboratoire est de nature
 - o Administrative : relative au bon de demande ou à l'identification du patient
 - o Analytique : relative à la réalisation de l'examen au laboratoire
 - o Prélèvement : relative au prélèvement lui-même
- ✓ Caractère de la non-conformité :
 - Bloquante : l'analyse n'est pas réalisée
 - Non bloquante : l'analyse est réalisée et le résultat rendu avec une action corrective immédiate ou préventive.
- ✓ Non-conformité : libellé de la non-conformité constatée.
- ✓ **Support primaire**: nature du tube concernée (EDTA, sec, fluorure, urine...)
- ✓ Analyses concernées: liste des analyses touchées par la non-conformité (code du SIL)
- ✓ Date de la non-conformité : date à laquelle le laboratoire a signalé la non-conformité
- ✓ Heure : heure à laquelle le laboratoire a signalé la non-conformité
- ✓ Opérateur : identifiant du professionnel qui a saisi la non-conformité.



Lors d'une non-conformité pré-analytique **bloquante de type administrative**, une dérogation sera accordée pour certains prélèvements dits **précieux**. Dans ce cas, la non-conformité « bloquante » sera transformée en « non bloquante ».

Le préleveur viendra identifier son prélèvement sur site si possible sinon confirmera par fax l'identité du patient à l'aide d'un formulaire spécifique (Cf. <u>HB4-ENR 04 - Confirmation de l'identité d'un prélèvement précieux mal ou non identifié</u>).



Dans le cas d'une situation particulière justifiée par une **situation clinique**, la responsabilité sera laissée au **biologiste de déroger à la non-conformité** et d'accepter le prélèvement.

RESULTATS

CONSULTATION DES RESULTATS

Les résultats sont consultables sur le serveur de résultats : <u>Protocole de consultation des résultats sur Bioweb.</u> ainsi qu'au niveau du dossier patient informatisé (TrakCare) : <u>Modalités de consultation des résultats de biologie médicale dans le dossier patient informatisé TrakCare</u>

Il faut limiter les demandes de résultats par téléphone aux cas exceptionnels.



Pour les analyses sous-traitées :

- Sur le compte-rendu du laboratoire, seuls sont mentionnés le nom de l'analyse demandée, la date de réception du résultat et le nom du laboratoire sous-traitant.
- A son retour, le compte-rendu du laboratoire sous-traitant est scanné afin d'être consultable dans le dossier patient (sauf pour les résultats de génétique constitutionnelle).



Il faut impérativement que le dossier du patient soit créé dans le dossier patient informatisé, car c'est le numéro d'identification permanente (NIP) qui permet le retour de résultat dans Bioweb et le dossier patient.

Pour les établissements extérieurs, les résultats sont tranmis par voie dématérialisée et/ou au format papier.

AVIS ET INTERPRETATION

Les intervalles de référence figurent sur le compte-rendu de résultats.

Les biologistes peuvent donner à la demande des services des commentaires concernant les résultats (prestations de conseils).

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

Le laboratoire peut être amené à communiquer des résultats par téléphone, par fax ou par courriel. Les rapports confirmant l'envoi par fax sont conservés.



Dans le cas uniquement de **résultats urgents ou pathologiques**, la transmission des résultats par téléphone est **enregistrée** dans le Système d'Information du Laboratoire.

Il est demandé au soignant auquel on a communiqué les résultats de les répéter puis de les consulter pour s'assurer de sa bonne compréhension.



La liste des critères alertes est disponible sur Intranet.



L'hémolyse, l'ictère et la lactescence du prélèvement peuvent interférer avec le dosage de certains analytes. Dans ce cas, une non-conformité bloquante ou non-bloquante sera signalée par le laboratoire.

DELAI D'OBTENTION DES RESULTATS

Le délai d'obtention des résultats dépend de l'analyse demandée, et du temps de traitement préanalytique à effectuer (centrifugation ...)

Le délai moyen de rendu de résultat (jours ouvrés) est indiqué dans le catalogue des analyses pour chaque examen (réalisé au laboratoire ou transmis à un laboratoire sous-traitant).

Le laboratoire s'engage à informer le titulaire d'un retard dans le délai de rendu de résultats



Les automates utilisés pour la réalisation des analyses doivent faire l'objet de maintenances qui peuvent induire une indisponibilité de ceux-ci pour une durée limitée. Le maximum est fait pour que ces maintenances s'effectuent en périodes creuses et aient le moins d'incidence possible sur le rendu des résultats. Des maintenances curatives peuvent également se produire en cas de dysfonctionnement ou de panne d'un automate.

RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES

Le respect des conditions pré-analytiques garantit la qualité du prélèvement. La norme 15189 et l'ordonnance du 13 janvier 2010, applicables aux laboratoires d'analyses médicales, imposent de définir et de respecter des règles de bonnes pratiques.

Le laboratoire a mis en place un système de gestion de la qualité impliquant le respect strict des procédures de prélèvement et de transmission des échantillons biologiques. C'est pourquoi, l'implication de chacun dans le respect de ces conditions pré-analytiques est nécessaire.

Quel que soit le prélèvement

- Vérifier les dates de péremption des tubes et des milieux de transport.
- Vérifier la propreté des tubes avant prélèvement.
- S'assurer du bon choix des tubes.
- S'assurer que les récipients sont hermétiquement bouchés (notamment pour les urines : ne pas remplir le récipient à ras bord).
- Les transporter dans les sachets plastiques adéquats : tube ou flacon dans le sachet, prescription dans la poche extérieure.



Dans le cas où les prélèvements doivent être transportés dans la glace, la placer dans un sachet à part.

- Consulter le catalogue des analyses.

Le non-respect des conditions de prélèvement constitue un critère de non-conformité de l'échantillon et peut par conséquent entrainer la non-exécution des analyses prescrites.

IDENTIFICATION DU PRELEVEMENT

Le laboratoire est le seul à ne pas avoir de contact direct avec le patient, il fait donc confiance à l'identité qui lui est donnée.

LES 5 ELEMENTS INDISPENSABLES POUR L'IDENTIFICATION

ETIQUETTE PATIENT

NOM D'USAGE Prénom NOM DE NAISSANCE Date de naissance Sexe

L'IDENTIFICATION AU CHEVET DU PATIENT DOIT ÊTRE VÉRIFIÉE



<u>L'identification du patient doit être vérifiée</u> : utiliser le bracelet d'identification ou, si l'état du patient le permet, lui demander de décliner son identité.

Cf. : Procédure Identification du patient et du lit

<u>Enregistrement de l'identité du patient dans</u> <u>CLINICOM</u>

L'étiquetage des récipients contenant l'échantillon biologique doit être fait au moment du prélèvement par la personne ayant réalisé celui-ci.

Ne pas utiliser d'étiquettes d'hospitalisations ou de consultations précédentes.

Si une **anomalie sur l'identité** est idenfiée dans un service de soins, ne pas oublier de prévenir les admissions et la cellule d'identito-vigilance.

St Vincent de Paul : poste 84583 ou poste 84835 (maternité)

St Philibert : poste 85123

Adresse mail de la cellule d'identito-vigilance : Identitovigilance @ghicl.net



<u>Usurpation d'identité</u> : j'ai le **devoir de signaler** au laboratoire mon doute quant à l'identité d'un patient

IDENTIFICATION DE LA FEUILLE DE PRESCRITPION

Toutes les feuilles de prescription de biologie médicale doivent impérativement comporter :

ETIQUETTE PATIENT

- NOM D'USAGE
- o **Prénom**
- o NOM DE NAISSANCE
- Date de naissance
- Sexe
- o Nom du prescripteur
- Nom et prénom du préleveur, (correctement identifiables, sans abréviation)
- o Date et **heure** de prélèvement
- Renseignements cliniques

Ces indications vérifiées par le préleveur doivent être parfaitement lisibles.

Ces éléments permettent de :

- différencier les homonymes,
- lier le patient à ses antériorités
- attribuer les valeurs de références adaptées (fonction de l'âge et du sexe)
- interpréter les résultats en fonction du contexte clinique
- connaître la personne à contacter en cas de doute sur le prélèvement ou résultat anormal



Utiliser de **l'encre noire ou bleue** pour faciliter la lecture des bons de demande d'examens et permettre la relecture après leur numérisation.



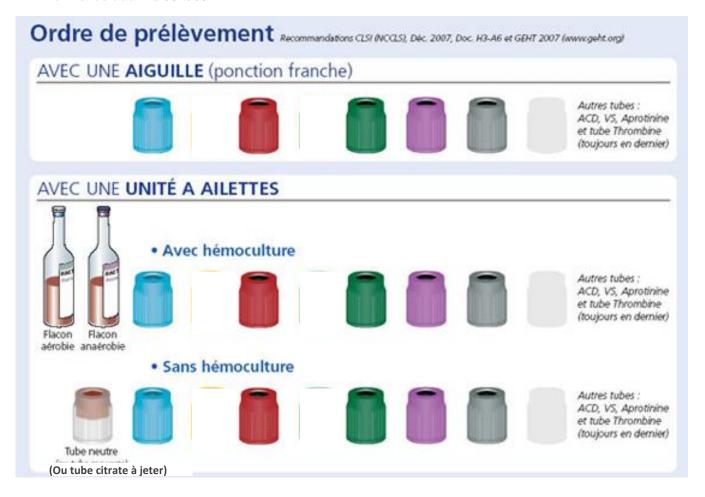
Certains examens nécessitent des renseignements cliniques particuliers (Cf. <u>HC1-ENR 01 - Liste des analyses nécessitant l'obtention de renseignements particuliers et conditions à respecter</u>).

PRELEVEMENT DES Mettre des gants Faire une antisepsie de la peau (cf protocole institutionnel). Poser le garrot (maximum 1 minute) et rechercher la veine, à prélever rapidement. Ponctionner. Desserrer le garrot dès le premier tube. Veiller au bon remplissage de tubes Retirer le tube tout en maintenant le corps de prélèvement Homogénéiser le tube dès le retrait du corps de prélèvements par 5 à 10 retournements lents En cas d'utilisation de différents types de tubes, l'ordre de prélèvement est à respecter Si unité à ailettes: Tube de purge ou hémoc puis : BLEU → ROUGE → VERT → VIOLET → GRIS Retirer l'aiguille tout en comprimant la veine avec un coton. Le patient assure la compression pendant 2 à 3 minutes Eliminer le corps de pompe ou l'unité à ailettes dans un container DASRI PCT Identifier les tubes en laissant le niveau de sang apparent Respecter les conditions de transport

ORDRE DE PRELEVEMENT DES TUBES

Les modalités de prélèvements propres à chaque analyse sont indiquées dans le <u>catalogue des</u> <u>analyses</u>, il est indispensable de les respecter.

L'ordre de prélèvement des tubes a pour but d'éviter des résultats erronés dus à une **contamination entre les additifs** de tube.



- Les tubes rouges contiennent un activateur de coagulation, il est donc nécessaire de les homogénéiser également.
- Si le patient est difficile à piquer, n'hésitez pas à demander des micro-tubes ou des tubes pédiatriques au laboratoire.
- Ne jamais transvaser d'un tube à l'autre (exemple : de l'EDTA (mauve) dans un tube avec activateur de coagulation (rouge) = ↗ Potassium ↘ Calcium)



un prélèvement de 3 ml = environ 1,5 ml de sérum

CORRESPONDANCE ENTRE TUBES ET EXAMENS DE ROUTINE

| Nature du tube | Examens sanguins | | | | |
|----------------------|---|--|--|--|--|
| Tube sec (rouge) | Biochimie: Acide Urique, Alcoolémie, Amylase, Bicarbonates, Bilan Lipidique (Cholestér Triglycérides, HDL et LDL Cholestérol), Bilirubine, Calcium, CPK, Créatinine, CRP, Fer et CS Ferritine, GGT, Electrophorèse Des Protéines, Folates, Haptoglobine, IgG, IgA, IgM, Ionogramm (Na, K, Cl), Lipase, Magnésium, PAL, Phosphore, Potassium, Protéines totales, Transaminase Transferrine, Triglycérides, Troponine, Urée, Vitamine B12. Hormonologie: Ac Anti-TPO, Béta-HCG, Cortisol, TSH, T3L, T4L, Prolactine, FSH, L Oestradiol, Progestérone | | | | |
| | Marqueurs Tumoraux | | | | |
| | <u>Médicaments</u> : Acide Valproique (Dépakine), Carbamazépime (Tégrétol), Digoxine, Paracétamol, Amiklin, Gentamicine | | | | |
| | <u>Immunologie</u> : Toutes les sérologies (anticorps, antigènes) et les paramètres de l'auto-immunité | | | | |
| | Allergie: IgE Totales, Phadiatop, Trophatop, IgE Spécifiques | | | | |
| Tube citrate (bleu) | <u>Coagulation</u> : TP, INR, TCA, ACC, Fibrinogène, DDI, AT III, Facteurs de la coagulation, Protéine C, Protéine S, Résistante à la Protéine C Activée, Héparinémie - Activité Anti Xa. | | | | |
| | Plaquettes sur citrate. | | | | |
| Tube héparine (vert) | Ammoniémie | | | | |
| | Résistance globulaire | | | | |
| Tube EDTA (mauve) | <u>Hématologie</u> : NF, Réticulocytes, Plaquettes | | | | |
| No. | <u>Biochimie</u> : Folates érythrocytaires, BNP, Hémoglobine glyquée | | | | |
| | Immuno-hématologie : Groupe Rh, Phénotypes, Kell, RAI, Coombs direct | | | | |
| Tube fluorure (gris) | Glycémie, acide lactique | | | | |
| | | | | | |
| Tube VS | Vitesse de Sédimentation | | | | |

MATERIEL DE PRELEVEMENT

Une liste de matériel de prélèvement courant est disponible sur intranet (<u>Commande de matériel de prélèvement</u>)

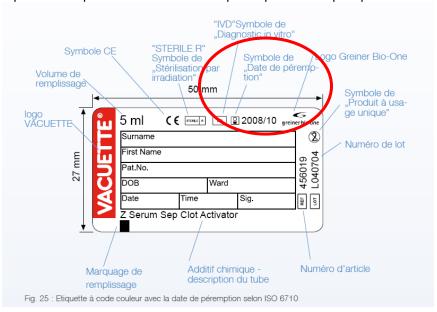
Cette liste est descendue le lundi au laboratoire dans la caisse prévue, qui est mise à disposition le mardi à partir de 12 h.

Les additifs contenus dans les tubes ne peuvent remplir leur fonction que si les tubes sont utilisés avant la date de péremption figurant sur l'étiquette.

Le tube ne doit pas être utilisé après cette date.

Pour cela:

Utilisez en premier les produits dont la date de péremption est la plus proche.





les tubes citratés (bleus) doivent être conservés à l'abri de la lumière.

Les sachets double-poche et les conteneurs pour l'élimination des aiguilles après prélèvement sont à commander au magasin.

Les aiguilles à prélèvements sont fournies par la pharmacie.



Des unités à ailettes sont délivrées par le laboratoire avec les flacons pour hémoculture.

ACHEMINEMENT D'UN PRELEVEMENT AU LABORATOIRE

Les prélèvements de biologie médicale doivent être déposés au laboratoire par le personnel soignant ou les ramasseurs de bilan du GHICL.

Pour les établissements hors GHICL, l'acheminement des prélèvements au laboratoire est sous la responsabilité du demandeur.

Ramassage des bilans

Un ramassage interne des bilans est organisé sur les deux sites du lundi au vendredi (hors jours fériés) de 7h à 18h.

HC3 - ENR 05 - Planning ramassage de bilans St Philibert

HC3 - ENR 06 - Planning ramassage de bilans St Vincent de Paul

Les prélèvements sont acheminés au laboratoire dans un contenant isotherme et résistant aux chocs, identifié « Risque biologique ».

Un cahier d'émargement est disposé dans les salles de soins de chaque service indiquant les heures de passages.



Ce ramassage interne assure également la prise en charge des commandes de matériel de laboratoire, ainsi que le retour des résultats. Il achemine également les prescriptions pour la pharmacie, la radiologie, les explorations fonctionnelles.

Dépôt des bilans au laboratoire par le personnel soignant

En dehors de ces heures, ainsi que les samedis, dimanches et jours fériés et dans le cas des prélèvements urgents, le service de soins amène les bilans au laboratoire.

Les prélèvements doivent être horodatés afin de pouvoir leur assurer une traçabilité.

Les prélèvements urgents doivent être descendus rapidement au laboratoire, horodatés et remis en main propre au personnel du laboratoire pour assurer leur prise en charge immédiate.



Une sonnette est à disposition pour les périodes de gardes (nuits et week-end).

Transport inter-sites

Un système de transport permet l'acheminement des échantillons entre St Vincent de Paul, St Philibert et les structures externes.

Les prélèvements sont placés à l'intérieur de boites rigides pouvant contenir plusieurs bilans. A l'intérieur de ces boites sont présentes des feuilles d'absorbant.

Ces boites sont placées dans une malle rigide et résistante aux chocs sur laquelle est apposé le logo UN 3373, matière biologique catégorie B. Cette malle est chargée dans le véhicule par le chauffeur.

Un <u>planning des navettes</u> est affiché au laboratoire afin que les services puissent organiser au mieux l'envoi des prélèvements en fonction des transports intersites.

Les services doivent s'organiser pour que l'ensemble des demandes d'analyses programmées journalièrement en routine soient ramassées par ces navettes, notamment dans le cas d'examens transmis à un laboratoire extérieur.

La liste des examens transmis à un laboratoire extérieur et les conditions de prélèvement et d'acheminement, sont disponibles dans le catalogue des analyses.

TRANSPORT DES ECHANTILLONS

La majorité des échantillons sont à transporter entre 15 et 25°C avant prétraitement. Pour certaines conditions particulières, consulter le catalogue des analyses.

Afin de garantir l'intégrité de l'échantillon, le laboratoire conseille d'éviter les chocs thermiques et de respecter le délai des différentes étapes pré-analytiques.



Ne jamais placer un prélèvement au réfrigérateur ou au congélateur dans l'attente de l'acheminement au laboratoire.

| Type d'analyse | Délai entre le prélèvement et la technique |
|----------------|---|
| LDH | 2h |
| Potassium | 4h |
| Phosphore | 6h |
| Ammoniémie | 30 minutes dans la glace |
| Gaz du sang | 30 minutes |
| Hémostase | 4h pour la majorité des analyses |

Des délais d'acheminement adaptés pour certains examens sont indiqués dans le catalogue des analyses.

En cas de dépassement de ces délais, le prélèvement pourra être refusé.

Les prélèvements « précieux » (LCR, gaz du sang, liquides de ponction,...) doivent être acheminés sans délai.



Les bilans non urgents ne sont pas pris en charge entre 18h30 et 8h la semaine ainsi que le samedi à partir de 13h.

PREPARATION DU PATIENT

ETAT DE JEÛNE

Pour un certain nombre d'analyses, l'état de jeûne est l'un des éléments permettant la **bonne exécution technique des analyses** et une interprétation pertinente des résultats.

En effet, certains dosages varient après le repas, parce que l'alimentation apporte elle-même certains des éléments dosés (ex : triglycérides, glucose, ...).

Après un repas, la qualité du sérum ou du plasma est modifiée (trouble, viscosité).

Une période de jeûne <u>stricte</u> est recommandée pour certaines analyses (consulter le <u>catalogue</u> <u>des analyses</u>).

L'état de jeûne strict se définit par un **délai de 12h entre le dernier repas et la prise de sang**. Il est possible de boire un verre d'eau ; il est recommandé de prendre un repas léger la veille au soir.

Pour les autres analyses, une période de jeûne (de 4h) est recommandée mais non obligatoire.

A défaut, un repas léger, pauvre en graisses, est à prévoir. Le prélèvement devra être effectué au moins 2 heures après le repas.

RYTHME CIRCADIEN

Des horaires de prélèvement sont recommandés pour un bilan sanguin.

En effet, la concentration de certains paramètres varie en cours de journée. C'est ce que l'on appelle « le rythme circadien ».

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

<u>Indications pour certains paramètres :</u>

Cortisol : dosage à 8h

- Prolactine : éviter les fins de nuit

ACTH: dosage à 8h00

Fer : dosage préférable le matin

Acide urique : dosage préférable le matinPhosphore : dosage préférable le matin

POSITION

Afin que le prélèvement se fasse de manière optimale, le patient doit être en position **couchée ou** assise.

Pour certains paramètres, des variations non négligeables (jusqu'à 50%) sont observées si le patient change de position, l'indication est reportée pour chaque paramètre concerné dans le <u>catalogue des analyses</u>.



Pour les examens concernés, pensez à indiquer la position du patient sur le bon de prescription d'analyses.

PRELEVEMENT SUR CATHETER

Dans la limite du possible, ne prélevez pas de sang d'un cathéter.

Si le prélèvement à partir d'un cathéter est **inévitable**, procédez avec le plus grand soin pour éviter de contaminer l'échantillon avec des résidus de la solution de perfusion.

Les **10 premiers millilitres** de sang provenant d'un cathéter ne doivent pas être utilisés en tant qu'échantillon et doivent être éliminés.



En cas de prélèvement via cathéter, utiliser un tube de purge.

PRISE DE MEDICAMENTS

Hormis le cas où il s'agit de doser le médicament lui-même, il convient de ne pas changer le traitement du patient.

<u>Cas particulier du dosage de T4 Libre (FT4)</u>: le dosage de FT4 doit se faire avant la prise de Levothyrox® ou 9h après.

REGIMES ALIMENTAIRES

La consommation de certains aliments et la cigarette peuvent influencer de manière significative les résultats d'analyses.

Suivez les recommandations du catalogue des analyses.

HYGIENE ET SECURITE

ACCIDENT D'EXPOSITION AU SANG ET AUX LIQUIDES BIOLOGIQUES

On définit comme accident avec exposition au sang (AES) tout **contact percutané** (piqûre, coupure) ou **muqueux** (œil, bouche) ou sur **peau lésée** (eczéma, plaie) avec du **sang ou un produit biologique** contenant du sang pour lesquels le risque viral est prouvé.

Le risque de transmission d'agents infectieux lors d'un AES concerne l'ensemble des microorganismes véhiculés par le sang ou les liquides biologiques (bactéries, virus, parasites et champignons).

En pratique, on redoute surtout le VHB, le VHC et le VIH du fait de leur prévalence, de l'existence d'une virémie chronique et de la gravité de l'infection engendrée.

Les facteurs de risque de contamination

Le risque individuel varie en fonction de la gravité de l'AES, et notamment de l'importance de l'inoculum viral.

En pratique, les accidents les plus graves sont ceux où :

- La blessure est profonde
- La virémie du patient source est élevée
- L'aiguille est utilisée pour un geste intraveineux ou intra-artériel
- L'aiguille est visiblement souillée
- L'aiguille est de gros calibre

Les accidents causés par une tierce personne peuvent également être graves car le mouvement de retrait de l'objet vulnérant est moins immédiat.

Le <u>protocole institutionnel</u> est applicable.

ELIMINATION DES DECHETS

La procédure institutionnelle déclinant les règles d'élimination des déchets est applicable :

Protocole tri des déchets hospitaliers et du linge contaminé

Fiche technique de tri des déchets solides de soins

RECUEIL ET PRELEVEMENTS PARTICULIERS

BIOCHIMIE

BIOCHIMIE URINAIRE SUR URINES DE 24 HEURES

- Au lever (par ex : 8 heures) :
 - Vider la totalité de la vessie dans les toilettes.
 - Noter sur le flacon la date et l'heure de début du recueil.
- Pendant 24 Heures:
 - Recueillir la totalité des urines de la journée et de la nuit y compris celles du lendemain au lever à la même heure (8 heures) dans le flacon fourni (ATTENTION : FLACON NON BORATÉ) par le laboratoire. Entre les recueils, le flacon doit être conservé à 4°C.
 - Noter sur le flacon la date et l'heure de fin du recueil.
- Identifier le(s) flacon(s) avec les noms, prénom et date de naissance (ou étiquette patient).
- Homogénéiser les urines de 24 H et prélever 10 ml à l'aide d'une monovette non stérile à bouchon jaune. Identifier immédiatement la monovette et noter la diurèse, la date et l'heure du début et de fin du recueil.

HPO (HYPERGLYCEMIE PROVOQUEE PAR VOIE ORALE)

- But du test : stimuler la sécrétion d'insuline et évaluer la réponse glycémique.
- <u>Indications</u>: dépistage des états diabétiques, évaluation de l'insulinosécrétion, diagnostic de l'acromégalie et suivi thérapeutique, confirmation de diabète gestationnel, diagnostic des hypoglycémies.
- <u>Dosage</u>: glycémies après prise orale de glucose (quantité différente chez la femme enceinte et les autres patients) et/ou insuline, peptide C.
- Modalités de l'examen:
 - o Le patient doit être à jeun depuis 12 h.
 - Poser éventuellement un cathéter et prélever un tube gris (= temps 0).
 - Administrer par voie orale 75 g de glucose dilué dans de l'eau (100 g pour une femme enceinte), à se procurer en pharmacie.
 - Prélever de nouveau aux temps : 60, 120 et 180 minutes.

TEST DE O'SULLIVAN

- Principe : évaluation de la glycorégulation.
- Indications: dépistage du diabète gestationnel.
- Dosage : glycémie.
- Modalité de l'examen:
 - Il n'est pas nécessaire d'être à jeun.
 - Administrer à la patiente par voie orale 50g de glucose dilué dans 200ml d'eau (T0), à se procurer en pharmacie.
 - Laisser la patiente au repos pendant une heure.
 - Prélever un tube gris une heure après ingestion du glucose (T60).

Ö

Une variante (test OMS) peut être réalisée chez la femme enceinte avec une glycémie à jeun, l'absorption de 75g de glucose et/ou une glycémie une heure puis deux heures après l'absorption.

CYCLE GLYCEMIQUE

 PRINCIPE: Etudier l'évolution de la glycémie durant une partie du nycthémère, afin de contrôler l'équilibre glycémique d'un patient ou la bonne tolérance d'un traitement chez un diabétique.

PREPARATION DU PATIENT

- Apport normo-glucidique d'au moins 200 g d'hydrates de carbone dans les 3 jours qui précèdent le test.
- o Prévenir le patient de la durée du test : 6 h environ.
- Les traitements interférant sur la glycémie devront si possible être arrêtés : corticoïdes, oestrogènes, diurétiques, inhibiteurs calciques, bêtabloquants, aspirine, IMAO, quinine, dysopyramide, perhexiline.
- Sujet à jeun depuis la veille.
- o Collation à midi raisonnable.
- S'abstenir de fumer.

MATERIEL

3 tubes sur fluorure de 5 ml pour glycémie

PROTOCOLE

- o **T 8h** : Prélever 1 tube pour **glycémie**
- T 10h : Prélever 1 tube pour glycémie
- o T 14h: Prélever 1 tube pour glycémie

TRANSMISSION AU LABORATOIRE

o **si tube sur fluorure,** à la fin du test, apporter l'ensemble des tubes correctement identifiés dans l'ordre des prélèvements au laboratoire accompagné d'un bon d'examens mentionnant : **cycle glycémique**



Pour les cycles, un bon de demande particulier existe.

DOSAGE DES MEDICAMENTS

- PRINCIPE: La précision et l'exactitude pour les horaires d'administration et de prélèvement sont de la plus haute importance pour une bonne surveillance thérapeutique. Une interprétation correcte nécessite la connaissance de l'intervalle de temps écoulé depuis la dernière prise. Pour les thérapeutiques à long terme, les prélèvements sanguins doivent être effectués à l'état d'équilibre (administration d'une même dose pendant au moins quatre demi-vies).
- D'une manière générale, les prélèvements sont faits pour connaître :
 - Soit le taux résiduel : dans ce cas, il faut prélever juste avant la prise de médicaments du matin (dosage plus fréquent pour les antibiotiques, cardiotoniques, anti-épileptiques, bronchodilatateurs, antidépresseurs).
 - Soit le taux maximum correspondant au pic après injection pour la plupart des antibiotiques et les bronchodilatateurs dans quelques cas particuliers.
 - Soit pour déterminer les constantes pharmacologiques du sujet vis-à-vis d'un médicament.
 - Soit de manière plus exceptionnelle un surdosage volontaire ou accidentel ou un sous-dosage.
- MATERIEL : Sauf exception ou conditions particulières, pour tous les médicaments, prélever un tube avec activateur de coagulation (rouge) de 5 ml.
- TRANSMISSION AU LABORATOIRE : Transmettre au laboratoire accompagné d'un bon de demande, en précisant exactement le dosage demandé.

GAZ DU SANG

Principe: Les gaz du sang permettent d'évaluer

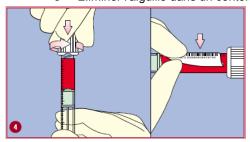
1. l'oxygénation du sang : PaO₂ l'efficacité de la ventilation : PaCO₂

l'équilibre acide-base : pH ; bicarbonates

Modalité de l'examen :

Sélectionner le matériel adéquat et préparer le site de ponction

- Régler le volume de remplissage à 1,6 mL. Retirer la protection de l'aiguille, localiser l'artère et effectuer la ponction.
- La seringue se remplit sous l'effet de la pression artérielle.
- Retirer l'aiguille de l'artère. 0
- Activer la sécurité d'une main et comprimer fermement le site de ponction pendant au moins 5 minutes.
- Eliminer l'aiguille dans un conteneur DASRI PCT



En cas de présence d'une bulle d'air, l'éliminer en pressant le piston contre une compresse.

Visser le bouchon sur la seringue tout en le poussant.

Immédiatement après le prélèvement, identifier la seringue à l'aide de l'étiquette patient.



Homogénéiser l'échantillon par 5 retournements lents puis en roulant la seringue entre les mains pendant 5 secondes.

Amener le prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire, accompagné du bon jaune de demande d'examen.



Noter sur le bon de prescriptions les informations nécessaires (heure de prélèvement, le site, le type d'échantillon, la température du patient, les réglages de respirateurs).

L'erreur liée à la collecte de l'échantillon ainsi qu'aux autres étapes de la phase pré-analytique est nettement plus importante que celle de la méthode analytique.

DOSAGE DE CHLORE DANS LA SUEUR

Principe: Il s'agit d'un test de dosage du chlore sudoral chez les enfants, test contribuant au dépistage de la mucoviscidose. L'analyse se réalise sur un échantillon de sueur recueilli sur un buvard par le médecin ou l'infirmière.

Protocole : Laver la peau à l'eau claire avant de réaliser le prélèvement. Le préleveur, équipé de gants, stimule la production de sueur et applique un buvard sur la peau pendant une demi-heure pour y récolter la sueur.

Introduire le buvard dans un flacon stérile de 15 mL juste après le prélèvement.

Le préleveur notera sur l'étiquette adéquate le poids du : tube + buvard (pesée avant le prélèvement) puis tube + buvard + sueur contenant la sueur (pesée après le prélèvement).

La masse minimale nécessaire de sueur pour réaliser ce test est de 250 mg.



A Saint Vincent de Paul : La pesée du tube puis du tube + buvard doit être réalisée sur la balance de précision se situant au laboratoire d'urgence St Vincent de Paul

RECHERCHE DE CRYOGLOBULINEMIE

Le <u>protocole</u> est disponible sur l'intranet documentaire.

DEPISTAGE D'UNE RUPTURE PREMATUREE DES MEMBRANES

<u>Principe</u>: Le test de dépistage de la rupture prématurée des membranes chez la femme enceinte permet de détecter la présence d'IGFBP1 dans les sécrétions vaginales, molécule que l'on trouve en forte concentration dans le liquide amniotique (la concentration dans le sang circulant est très faible).

<u>Matériel</u> : Le kit est composé d'un écouvillon dans une pochette pellable et d'un flacon de diluant à bouchon noir.

<u>Protocole</u>: A l'aide d'un écouvillon sec, prélever un échantillon de liquide vaginal au niveau du culde-sac vaginal postérieur.

Décharger l'écouvillon dans le flacon de diluant. La partie distale de l'écouvillon est cassée et laissée dans le flacon. Le flacon à bouchon noir contenant du diluant et la partie distale de l'écouvillon est transmis au laboratoire.



Un écouvillon imprégné de sang est non conforme. Les échantillons non conformes ne seront pas pris en charge par le laboratoire.

Ecouvillons conformes

= Niveau de contamination par du sang permettant le dosage





Ecouvillons non conformes = Niveau de contamination par du sang ne permettant pas le dosage





EXAMENS DE CYTOGENETIQUE

Génétique postnatale (caryotype, FISH, biologie moléculaire ...)

ADMINISTRATIF

Toute demande d'analyse doit être accompagnée :

- Du consentement pour étude des caractéristiques génétiques (<u>HC1-CGP0-ENR01-Consentement postnatal</u>) dûment rempli et signé par le patient ou son représentant légal.
- De l'attestation de consultation du prescripteur dûment remplie et signée (au bas du formulaire de consentement).
- De la fiche de prélèvement (<u>HC1-CGPO- ENR02 Fiche de prélèvement</u>, imprimé fuschia) précisant :
 - l'identité du patient,
 - l'identité du prescripteur (de façon identifiable/lisible)
 - les analyses à réaliser
 - l'indication des analyses
 - l'identité du préleveur (de façon identifiable/lisible), la date et l'heure de prélèvement,
 - la nature du prélèvement : (nombre et le type de tubes prélevés, la ou les zones de prélèvement (peau saine/peau lésée)).

Le cas échéant, si cette fiche n'est pas disponible, toutes ces informations doivent accompagner le prélèvement.

- De la prescription médicale et de tout renseignement clinique complémentaire pouvant être nécessaire à l'analyse (choix de la technique/interprétation), avec, si possible, des photos en cas d'exploration d'un trouble du développement de l'enfant.
- Des coordonnées administratives du patient (adresse, sécurité sociale, mutuelle)

PRELEVEMENT

✓ Sanguin : Caryotype constitutionnel sur lymphocytes / hybridation in situ / biologie moléculaire

Remarque : Indiquez si le résultat du caryotype doit être rendu en **urgence**. Le patient ne doit pas être à jeun.

Tubes

- Caryotype et FISH: tube stérile vacutainer sur héparinate de Lithium (bouchon vert)
- Analyse Chromosomique par Puce à ADN (ACPA, CGH-array...)
- Autres analyses de biologie moléculaire (syndrome de l'X fragile, qPCR...)

tube stérile vacutainer sur **EDTA (bouchon mauve)**

NB: les analyses de biologie moléculaire ne sont pas effectuées à ce jour dans notre centre et sont transmises à nos laboratoires correspondants. Selon les recommandations actuelles, le caryotype en haute résolution est remplacé par l'ACPA pour rechercher un déséquilibre de petite taille.

Volumes

- 1 tube de 4ml pour le caryotype (volume minimal en cas de prélèvement difficile : 2ml)
- 1 tube de 4ml pour une analyse de biologie moléculaire

Conservation/Acheminement

• Prélèvements à acheminer sans traitement (pas de centrifugation) à température ambiante dans les plus brefs délais au centre de génétique de l'hôpital Saint Vincent de Paul.

- En cas d'impossibilité d'acheminement le jour du prélèvement, les tubes sont à conserver au réfrigérateur (2 à 8°C). Idéalement, le prélèvement doit parvenir dans les 24 heures au laboratoire (72 heures maximum).
- Prélèvements à déposer au secrétariat du centre génétique (et non pas au laboratoire d'urgence) avant 16h00 pour satisfaire aux exigences techniques.
 Les prélèvements sont réceptionnés du lundi au vendredi.

√ Biopsies de peau (caryotype sur fibroblastes)

- Prélèvement à réaliser dans des conditions stériles et mis extemporanément dans un milieu de transport adéquat. Volume minimum de 2 mm³.
- Milieu de transport (RPMI additionné d'antibiotiques) à demander auprès de notre secrétariat lors de la prise de rendez-vous. Il sera préparé pour le jour (ou la veille et alors gardé au réfrigérateur) du prélèvement. Si la demande émane d'un hôpital ayant un laboratoire, ce dernier peut fournir le milieu de transport. Le cas échéant, le prélèvement peut être mis dans un flacon stérile contenant du sérum physiologique stérile.
- Rendez-vous auprès du secrétariat du centre de génétique indispensable pour raisons techniques.

Conservation/Acheminement

- Prélèvement à acheminer à température ambiante dans les plus brefs délais au centre de génétique de l'hôpital Saint Vincent de Paul,
- S'il n'est pas acheminé le jour même, il doit être conservé au réfrigérateur (2 à 8°C) et parvenir dans un délai maximum de 48 heures

Remarque : des analyses complémentaires en lien avec les maladies génétiques peuvent être effectuées à partir d'une biopsie de peau (biologie moléculaire, dosages biochimiques...). Notre centre peut transmettre les cultures de fibroblastes au laboratoire concerné.

✓ Produit de fausse couche (placenta)

Remarque: ne pas oublier d'indiquer tout renseignement clinique complémentaire concernant la grossesse, la patiente ou son conjoint, ou les antécédents familiaux pouvant être nécessaire à l'analyse (choix de la technique/interprétation)

- Milieu de transport (RPMI additionné d'antibiotiques) à demander, si possible, auprès de notre secrétariat.
 - Si la demande émane d'un hôpital ayant un laboratoire, ce dernier peut fournir le milieu de transport, et, le cas échéant, le prélèvement peut être mis dans un flacon stérile contenant du sérum physiologique stérile.
- **Prévenir** le secrétariat du centre de génétique chromosomique de la réalisation du prélèvement et du délai probable d'acheminement.

Conservation/Acheminement

- Le prélèvement doit être acheminé à température ambiante dans les plus brefs délais au centre de génétique de l'hôpital saint Vincent de Paul,
- S'il n'est pas acheminé le jour même, il doit être conservé au réfrigérateur (2 à 8°C) et parvenir dans un délai maximum de 48 heures

30/75

Génétique prénatale (caryotype, FISH, biologie moléculaire ...)

ADMINISTRATIF

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 dûment rempli et signé par la patiente (le cas échéant son représentant légal).
- De l'attestation d'information du prescripteur dûment remplie et signée (au bas du formulaire de consentement).
- De la fiche de prélèvement de diagnostic prénatal précisant :
 - l'identité de la patiente et éventuellement de son conjoint
 - 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.
- De la prescription médicale
- De tous les documents justifiant la demande (compte-rendu d'échographie, résultat du dosage des marqueurs sériques maternels, résultat de caryotype si antécédent d'anomalie chromosomique...)
- Des coordonnées administratives de la patiente (adresse, sécurité sociale, mutuelle)
- De la demande d'entente préalable complétée et signée.

Remarques:

- 1. Une consultation de génétique préalable peut être réalisée dans notre centre.
 - Si l'indication d'amniocentèse est retenue et le couple demandeur, le prélèvement sera effectué à l'hôpital Saint Vincent de Paul
 - Si l'indication de biopsie de trophoblaste est retenue et le couple demandeur, le prélèvement sera effectué à l'hôpital Jeanne de Flandre puis acheminé dans notre centre
- **2.** Des analyses complémentaires en lien avec les maladies génétiques peuvent être effectuées à partir d'un prélèvement fœtal (biologie moléculaire, dosages biochimiques...). Notre centre peut transmettre les cultures ou une partie du prélèvement initial au laboratoire concerné.

PRELEVEMENT

✓ Prélèvement de liquide amniotique/biopsie de villosités choriales

- Rendez-vous indispensable auprès du secrétariat du centre de génétique, pour des raisons techniques et éthiques (prélèvements précieux),
- Prélèvements mis dans des tubes coniques stériles pouvant être fournis par notre service

Conservation/Acheminement

- Amniocentèse : prélèvement à acheminer à température ambiante dans les plus brefs délais au centre de génétique de l'hôpital saint Vincent de Paul.
 - S'il n'est pas acheminé le jour même, il doit être conservé à température ambiante et parvenir dans un délai maximum de 24 heures.
- Biopsie de villosités choriales : le prélèvement doit impérativement parvenir dans la journée au centre de génétique de l'hôpital Saint Vincent de Paul
- Ces prélèvements précieux doivent être remis en mains propres à un membre de l'équipe du centre de génétique.

✓ Prélèvement de sang fœtal (ou autre analyse génétique)

Le prélèvement est effectué sur héparinate de lithium (bouchon vert) pour un caryotype et sur EDTA (bouchon mauve) pour des analyses moléculaires (cf. caryotype post natal sur sang)

HEMATOLOGIE

MYELOGRAMME: Ponction de moëlle osseuse

<u>But</u> : Il permet l'étude cytologique de la moelle osseuse sur des éléments dispersés, après aspiration et étalement sur lames de verre.

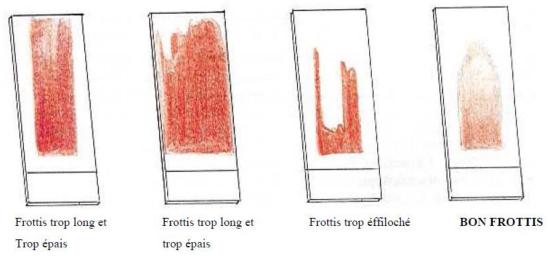
Bon de demande

Matériel de prélèvement :

- aiguilles à Ponctions Lombaires nouveau-né BD 20GA 1.50 IN (0.9 x 38 mm),
- seringue de 20 ml
- des lames à bords rodés propres et dégraissées à plages dépolies pour l'identification du patient
- un tube EDTA, format pédiatrique, pour éventuels étalements différés de frottis
- en cas de demande d'examens spécialisés, des tubes stériles Vacutainer dont le type est à discuter avec les correspondants en biologie spécialisée.

Technique de prélèvement :

- Faire une séparation du suc médullaire et du sang en déposant quelques gouttes de prélèvement à partir de la seringue sur 3 lames préalablement inclinées légèrement puis préparer les frottis sur un champ non stérile.
- Etaler des gouttes déposées sur les lames à l'aide d'une autre lame inclinée à 40° comme pour des frottis sanguins.



- Un frottis de bonne qualité n'atteint pas l'extrémité de lame et laisse quelques millimètres libres le long des bords latéraux.
- Laisser sécher le frottis
- Ne pas oublier :
 - o d'identifier chacune des lames avec le nom, prénom et la date de naissance du patient, du côté du frottis
 - o de coller sur le bon de demande d'examen les étiquettes patient

Acheminement:

Acheminer rapidement le prélèvement au laboratoire (à température ambiante).

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels et préciser :

- l'indication du myélogramme
- le contexte clinico-biologique de la prescription : signes cliniques tels que adénopathies, splénomégalie...
- les antécédents hématologiques du patient.
- Ex : anémie, suivi d'hémopathies...
- le résultat des explorations biologiques et/ou radiologiques pratiquées dans le cadre de cette indication, telles que NFP, réticulocytes, bilan du fer, électrophorèse des protéines, immunofixation, recherche de protéine de Bence-Jones...
- les analyses complémentaires spécialisées souhaitées : myéloculture, immunophénotypage, caryotype, biologie moléculaire...

Prise en charge analytique:

Les lames sont enregistrées et colorées du lundi au vendredi de 8h à 17h. La lecture est assurée par un biologiste aux mêmes heures ouvrables.

Délai de réponse : de 1 à 3 jours

CYTOMETRIE EN FLUX

<u>But</u>: L'immunophénotypage par cytométrie en flux (CMF) permet d'étudier l'expression d'antigènes cellulaires membranaires ou intra-cytoplasmiques après marquage par anticorps monoclonaux fluorescents. Cette technique permet ainsi d'explorer les populations cellulaires (sous-populations lymphocytaires, blastes, etc...) afin de participer au diagnostic des hémopathies chroniques et aiguës et des déficits immunitaires.

Prélèvement :

Milieu biologique : Sang, moelle liquide, liquides divers (LCR, ascite, liquide broncho alvéolaire LBA,

etc...)

Sang: 1 tube EDTA 5 ml

Moelle: 1 tube EDTA 5 ml (1-2 mL) Liquides divers: Flacon stérile (0.5 mL)

Acheminement: Le plus tôt possible

- Délai maximal de 24 heures pour le sang et la moelle.
- Délai maximal de 12 heures pour les liquides.

Conditions de conservation / transport avant analyse : Température ambiante

IMPERATIF: joindre le <u>formulaire de demande d'examen de Cytométrie en Flux</u>.

Prise en charge analytique :

Du lundi au vendredi (éviter d'envoyer des prélèvements le vendredi après midi).

Si le bilan est prélevé le vendredi après 12h par un établissement extérieur au GHICL, celui-ci doit ajouter au prélèvement, avant envoi, du milieu de conservation « Streck Cell Preservative » (fourni par notre laboratoire) (*Cf. HC3-INS22 - Traitement pré-analytique des prélèvements (sang/moëlle) de cytométrie en flux pour les établissements extérieurs*).

Délai moyen de réponse : 1 à 3 Jours

HEMOSTASE

CONDITIONS DE PRELEVEMENT EN CAS DE TRAITEMENT ANTI-COAGULANT

Le préleveur doit gérer l'heure de la prise de sang en fonction du traitement et de l'heure de l'injection.

| HEF | PARINES et dérivés | ADMINISTRATION | TEST PRATIQUE | MOMENT DU PRELEVEMENT | |
|-------------------|----------------------------------|---|-------------------------------------|---------------------------------|--|
| HNF ¹ | Héparine sodique | IV continue (perfusion) | TCA * ou anti-Xa (HNF) ¹ | Indifférent | |
| TIME | Calciparine | SC (2-3 Injections /24H) | TCA * ou anti-Xa (HNF) ¹ | Mi-chemin entre deux injections | |
| HBPM ² | Fragmine®, fraxiparine® Lovenox® | SC (2 injections /24H) Anti-Xa (HBPM) ² | | 4 heures après | |
| TIDI W | Innohep®, Fraxodi® | SC (1 Injection /24H) | Altii-Aa (FIDEW) | l'injection | |
| Orgaran® | | SC (2-3 Injections /24H) | Anti-Xa spécifique | Mi-chemin entre deux injections | |

¹ HNF : Héparine non fractionnée

BILAN DE THROMBOSE

Délai d'arrêt du traitement avant le prélèvement :

| | AT | PC | PS | ACC | RPCa | Mutation du FV Leiden | Mutation G 20210 A du gène du FII |
|--|---------------------|----------|---------------------|--|--|---|---|
| HEPARINE | 10 jours | | | 48 heures (Traitement par HNF et à moindre degré par HBPM peut conduire à des faux positifs) | En cas d'allongement du TCA, la mutation du FV Leiden par biologie moléculaire est à privilégier | | |
| AVK | | 15 jours | 1 mois | Temps nécessaire à l'obtention d'un INR<1.5 | | Indifférent (pas d'impact du traitement sur ces analyses) | |
| CONTRACEPTIF ORAL ou TRAITEMENT HORMONAL SUBSTITUTIF | 2 cycles d'arrêt | | 2 cycles d'arrêt | | | | ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,, |

AT : AntithrombineACC: Anti Coagulant Circulant de type lupiquePC : Protéine CRPCa : Résistance à la protéine C Activée

PS : Protéine S **FV Leiden**: Facteur V (accompagné du consentement génétique)

TEST PHARMACODYNAMIQUE A LA DESMOPRESSINE (MINIRIN®) (WILLEBRAND)

² HBPM : Héparine de bas poids moléculaire

^{*} L'intérêt de l'activité anti-Xa (HNF) par rapport au TCA, est de ne pas être influencée par les variations des protéines plasmatiques notamment inflammatoires (fibrinogène...) ou de la coagulation (déficit en facteurs, anticoagulant circulant de type lupique...). L'activité anti-Xa sera à privilégier chez les patients présentant une anomalie pré-existante du TCA, notamment chez les patients de réanimation, mais aussi chez les malades présentant un syndrome inflammatoire marqué pouvant évoluer rapidement, et avec un retentissement sur le TCA.

Le <u>protocole</u> est disponible sur l'intranet documentaire.

IMMUNO-HEMATOLOGIE

GROUPE SANGUIN (groupe, rhésus, phénotype) / RAI / Coombs

DEMANDE A FAIRE SUR BON ROSE

D'après la circulaire ministérielle DGS/DHOS/AFSSAPS n° 2003-582 du 15 janvier 2003, les déterminations de groupe sanguin ne seront réalisées que sur des prélèvements dont l'étiquetage doit mentionner : nom de naissance, nom d'usage, prénom, date de naissance des patients concernés.

Sur la feuille de prescription fournie par le laboratoire, devra être apposée l'étiquette patient ainsi que :

- la date et l'heure du prélèvement,
- le nom et signature du préleveur
- nom du prescripteur

Au cas où l'ensemble des renseignements nécessaires à l'analyse ne serait pas présent, le laboratoire se réserve le droit de refuser le traitement de l'échantillon.

Pour la RAI chez la femme enceinte :

TOUJOURS préciser en cas d'injection d'anti-D :

- Posologie
- Date et heure injection

Afin que le groupe sanguin soit valide, il faut que les deux déterminations aient été réalisées sur deux échantillons différents, par deux préleveurs différents, à deux moments différents.

Si le patient possède déjà deux déterminations de groupes réalisées au GHICL après 2010, le laboratoire se réserve le droit d'annuler la nouvelle prescription de groupe sanguin.

IMMUNOLOGIE

SEROTHEQUE

Pour toutes les demandes de sérologies, du sérum est conservé congelé dans la sérothèque pendant 12 à 24 mois, pour clarifier si besoin un tableau sérologique grâce à des tests supplémentaires sur un ou des sérums de la sérothèque.

Conformément à la législation, les sérums ne pourront être utilisés aux fins de recherche que si le patient ou son représentant légal ne s'y est pas opposé.

ANNULATION DE TESTS

Le biologiste pourra annuler certains tests demandés s'ils sont jugés non contributifs au diagnostic. Cependant, les sérums correspondant aux tests annulés seront conservés dans la sérothèque et le prescripteur en sera informé.

QUANTIFERON

Le dosage se réalise grâce à un prélèvement sanguin réalisé dans 4 tubes spécifiques délivrés par le laboratoire et non interchangeables.

Une <u>fiche d'aide au prélèvement</u> est disponible sur l'intranet documentaire.

MICROBIOLOGIE

La réalisation d'un prélèvement microbiologique doit assurer la viabilité des agents infectieux potentiellement pathogènes dans le prélèvement recueilli.

Quelques règles sont donc à respecter:

- Prélever aseptiquement un échantillon suffisant du produit pathologique en récipient stérile et étanche avant traitement anti-infectieux (éviter autant que faire se peut l'écouvillon et utiliser les récipients fournis par le laboratoire).
- Pour la recherche de bactéries exigeantes, d'anaérobies ou de virus, utiliser un milieu de transport approprié.
- Adresser le prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire (tout retard favorise la multiplication de contaminants et diminue les chances d'isoler un pathogène fragile).
- Les précautions universelles et les règles de transport des produits potentiellement infectieux s'appliquent à la réalisation des prélèvements microbiologiques.

Pour une efficience maximale, les informations suivantes doivent figurer sur le bon de demande d'examens:

- Nature et site (localisation anatomique) du prélèvement
- Motif de la demande (renseignements cliniques et/ou épidémiologiques)
- Température du patient
- Notion et nature de traitement anti-infectieux récent

Examen Cyto-Bactériologique des Urines

Milieux utilisés: Flacon stérile boraté

Technique de prélèvement:

- Se laver soigneusement les mains et faire une toilette soigneuse du méat urinaire grâce à une compresse imprégnée de solution antiseptique (ou de l'eau et du savon).
- Eliminer le premier jet puis recueillir le reste de la miction dans le flacon stérile ou le flacon borate.
- Identifier le flacon

Acheminement:

Acheminer le flacon au laboratoire à température ambiante

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels et préciser s'il s'agit d'un cas particulier :

- Patient sondé à demeure
- Sondage aller/retour
- Prélèvement par cathétérisme urétral
- Péniflow
- Cystocatheter
- Prélèvement par collecteur chez un nourrisson ou après urétérostomie

La **recherche de mycobactéries** est un examen de seconde intention qui n'est exécuté que sur prescription spécifique en cas de leucocyturie sans germes (voir « Recherche de mycobactéries »).

Délai de réponse: 1 à 4 jours, 3 à 6 semaines pour les mycobactéries.

<u>Prise en charge analytique</u>: Conformément aux recommandations de la société française de microbiologie, le prélèvement ne sera pas mis en culture si plus de deux germes sont visibles à l'examen direct (signe de contamination).



Des recherches spécifiques peuvent être effectuées sur les urines (recherche de Chlamydiae, de gonocoques) : voir le paragraphe « Prélèvements génitaux ou urétraux ».



RECHERCHE D'ANTIGENE LEGIONELLE ET/OU PNEUMOCOQUE

Milieux utilisés:

- Flacon stérile de 15 ml
- Monovette urine de 15 ml non stérile (jaune)
- Flacon stérile boraté

Technique de prélèvement:

- Recueillir l'urine dans le flacon
- Identifier le flacon

Acheminement:

Acheminer le flacon au laboratoire à température ambiante dans l'heure

Délai de réponse : 1 jour

COMPTE D'ADDIS OU HLM

Milieu utilisé : Pot non stérile de grande contenance

<u>Technique de prélèvement</u>:

- Noter le nom, le prénom, la date de naissance, et l'heure exacte du début de l'examen sur le flacon collecteur d'urines utilisé.
- Faire vider la vessie et jeter les urines.
- Faire boire environ ¼ de litre d'eau.
- Indiquer au patient qu'il doit rester allongé, au repos et à jeun pendant 3 heures (recueillir les mictions pouvant survenir pendant ce temps dans le flacon collecteur).
- A la fin des 3 heures, faire vider totalement la vessie en recueillant les urines.
- Noter l'heure exacte de fin d'examen sur le flacon.

Acheminement : Acheminer dans les 6 heures au laboratoire (en dehors de périodes de garde).



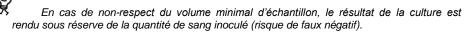
HEMOCULTURES

Milieux utilisés:

- volume de prélèvement optimal
 - Adultes: flacons standards aérobie à collerette bleue et anaérobie à collerette mauve (inoculer 10 ml de sang par flacon)
 - Enfants: flacons pédiatriques à collerette grise (inoculer 5 ml de sang)

Une graduation de 5 en 5ml est disponible sur les flacons.

- volume minimal d'échantillon
 - 5 ml pour les flacons d'hémocultures adultes



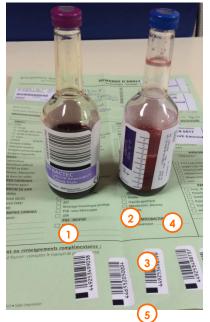
Avant utilisation : Les flacons doivent être conservés à température ambiante et à l'abri de la lumière

Technique de prélèvement:

 Il est recommandé de prélever de 4 à 6 flacons en un seul prélèvement ou de façon rapprochée (moins d'une heure)

Protocole de prélèvement des hémocultures

 Pour le premier flacon prélevé : Prélever toujours un flacon aérobie (afin de purger l'air de la tubulure et ne pas en introduire dans le flacon anaérobie)



<u>Concernant les flacons d'hémocultures, des zones particulières doivent rester visibles :</u>

- o la zone code barre 🕕
- o La date de péremption 2
- La règle de volume

Ne pas oublier:

- o d'identifier les flacons 4 attention de laisser le niveau de sang apparent.
- o de coller sur le bon les étiquettes code-barres prévues à cet effet sur les flacons. S

Acheminement:

Acheminer rapidement le prélèvement au laboratoire (à température ambiante).

Renseignements cliniques: Donner les renseignements habituels et préciser :

 Le mode de prélèvement (en périphérique direct, par voie veineuse périphérique ou centrale, par ponction artérielle, par un PAC ou

autre dispositif implantable)

- La date et l'heure du prélèvement
- Les renseignements cliniques: l'incubation des flacons est prolongée en cas de suspicion d'endocardite, de fongémie ou d'infection à germes de croissance lente (Brucella...)
- L'antibiothérapie

Prise en charge analytique:

Les flacons seront incubés dans un automate. Les résultats positifs sont communiqués dès qu'ils sont connus (l'examen direct est téléphoné dans le service).

Les flacons négatifs restent en incubation 5 jours, sauf situation particulière (14 à 21 jours pour les suspicions de fongémie ou d'endocardite).



PRELEVEMENTS DE GORGE



Milieu utilisé :

Ecouvillon avec milieu de transport + écouvillon sec

Technique de prélèvement :

De préférence à jeun, à l'aide de deux écouvillons (un pour la cytologie, un pour la culture), selon les signes cliniques :

- Angine rouge ou érythémato-pultacée : écouvillonner la ou les amygdales atteintes (ou la base des piliers du voile du palais en l'absence d'amygdales).
- Angine pseudo-membraneuse: soulever le bord de la fausse membrane et écouvillonner en dessous
 - Angine ulcéro-nécrotique : écouvillonner les lésions
- Pour la recherche de Candida, prélever au niveau de la langue, du palais ou de la face interne des joues.
- Ne **JAMAIS** prélever en cas de suspicion d'**EPIGLOTTITE** chez un enfant (Prélèvement dangereux)

Acheminement:

Acheminer les prélèvements rapidement à température ambiante.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels et préciser s'il s'agit d'un prélèvement pour la recherche de germes qui ne sont pas recherchés en routine :

- Recherche de bacilles diphtériques (Corynebacterium diphteriae)
- Recherche de méningocoques (Neisseria meningitidis)
- Recherche de gonocogues (*Neisseria gonorrheae*)
- Recherche de tréponèmes de la syphilis (*Treponema pallidum*)

Prise en charge analytique:

L'examen direct après coloration permet de diagnostiquer l'angine fuso-spirillaire de Vincent, les autres recherches nécessitent la mise en culture du prélèvement.

PRELEVEMENTS DE PUS D'OREILLE



Milieux utilisés :

Ecouvillon avec milieu de transport + écouvillon sec ou flacon stérile

Technique de prélèvement :

Otites moyennes aiguës (O.M.A): prélever au cours de la paracentèse avec un cathéter stérile fin placé dans le conduit auditif interne et permettant une aspiration du pus profond par dépression légère. Le pus est conservé dans un segment du cathéter placé dans un flacon stérile fermé hermétiquement.



 Otites externes: après élimination des débris et croûtes du conduit auditif externe, recueillir les sérosités par écouvillonnage.

Acheminement:

Acheminer les prélèvements à température ambiante.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable).

PRELEVEMENTS D'OEIL

<u>Milieu utilisé</u> : Ecouvillon avec milieu de transport + écouvillon sec



Technique de prélèvement, selon la pathologie :

- Conjonctivite : écouvillonnage du pus ou de la sérosité au niveau du cul-desac lacrymal
- Blépharite : prélèvement des croûtes palpébrales et d'un ou deux cils (avec une pince à épiler stérile)
 - Orgelet : écouvillonnage du pus après incision
- Dacryocystite: écouvillonnage du pus au niveau des points palpébraux après pression sur les sacs lacrymaux
 - **Ulcère de cornée** : écouvillonnage après anesthésie locale
- Prélèvement intra-oculaire ou péri-orbitaire : en per-opératoire par un ophtalmologiste.

Acheminement:

Acheminer les prélèvements à température ambiante.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels et préciser s'il s'agit d'un prélèvement pour la recherche de germes qui ne sont pas recherchés en routine (mycobactéries, *Chlamydiae*).

PRELEVEMENTS D'EXPECTORATIONS (E.C.B.C)



Milieu utilisé : Flacon stérile

<u>Technique de prélèvement</u> (le prélèvement doit être le moins souillé possible par l'abondante flore buccale et pharyngée) :

- Effectuer le prélèvement avant toute antibiothérapie, de préférence dans l'heure qui suit le lever
- Préciser au patient qu'il est important d'obtenir du mucus bronchique (effort de toux profonde) et non un peu de salive de l'arrière-gorge
 - Faire rincer la bouche à l'eau stérile
 - Recueillir les crachats dans un pot stérile

Quantité minimale de prélèvement : 2 ml

Acheminement:

Acheminer les prélèvements à température ambiante dans l'heure suivante au laboratoire.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable) et préciser s'il s'agit d'un prélèvement pour la recherche de germes qui ne sont pas recherchés en routine :

- Recherche de mycobactéries (Mycobacterium tuberculosis et autres mycobactéries)(cf.
 « Recherche de mycobactéries »)
- Recherche de bacille de la coqueluche (Bordetella pertussis)
- Recherche de légionelles (Legionella pneumophila)
- Recherche de Nocardia
- Recherche de virus (CMV)
- Recherche d'Aspergillus

Prise en charge analytique :

Les prélèvements abondamment souillés par la salive et non purulents ne seront pas mis en culture.

<u>Délai de réponse</u>: 2 à 3 jours dans le cas général, 10 jours pour certains germes spécifiques (*Legionella*, *Aspergillus*, *Nocardia*), 3 à 6 semaines pour les mycobactéries.

RECHERCHE DE BORDETELLA PERTUSSIS (COQUELUCHE)

<u>Intérêt</u>: Bordetalla Pertussis est une bactérie provoquant la coqueluche surtout chez les enfants de moins de 5 ans, important à diagnostiquer chez les nourrissons de moins de 6 mois et possibilité de mortalité pour les nouveau-nés de moins de 3 mois. La bactérie est détectée par PCR temps réel (biologie moléculaire).

<u>Milieu utilisé</u> : flacon stérile d'aspiration naso-pharyngée ou flacon stérile + tubulure d'aspiration

<u>Prélèvements</u>: Les échantillons seront des prélèvements respiratoires nasopharyngés ou des expectorations.

<u>Acheminement</u>: Acheminer rapidement le prélèvement au laboratoire (à température ambiante).



PRELEVEMENTS ENDOBRONCHIQUES (AET, LBA, et divers)

Milieux utilisés:

Flacons stériles

Technique de prélèvement :

- PRELEVEMENTS NON PROTEGES, entraînant une possible souillure par la flore buccale et pharyngée
 - Aspiration endo-trachéale (A.E.T) et fibroaspiration : aspiration directe des sécrétions dans des pièges à sécrétions stériles
 - Lavage broncho-alvéolaire : injection perbronchique d'au moins 50 ml de sérum physiologique stérile préalablement réchauffé à 37°C dont un échantillon est récupéré par aspiration dans un pot stérile

PRELEVEMENTS PROTEGES

- Brossage protégé distal : la brosse est protégée par un double cathéter obturé. Le prélèvement est réalisé sous fibroscopie par brossage au site de l'infection
- Ponctions trans-trachéale et biopsie pulmonaire : techniques de deuxième intention, réservées à des pneumopathies graves pour recherche des bactéries anaérobies et des mycoses profondes

Quantité minimale acceptée : 2 ml

Acheminement:

Acheminer immédiatement les prélèvements à température ambiante au laboratoire.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable) et préciser s'il s'agit d'un prélèvement pour la recherche de germes qui ne sont pas recherchés en routine :

- Recherche de mycobactéries (*Mycobacterium tuberculosis* et autres mycobactéries) (voir « Recherche de mycobactéries »)
- Recherche de bacille de la coqueluche (Bordetella pertussis)
- Recherche de légionelles (Legionella pneumophila)
- Recherche de Nocardia
- Recherche de virus (CMV)
- Recherche de parasites ou de champignons (Aspergillus, Pneumocystis, Histoplasma, Cryptocoques, Toxoplasmes)

<u>Délai de réponse</u>: 2 à 3 jours dans le cas général, 10 jours pour certains germes spécifiques (*Legionella*, *Aspergillus*, *Nocardia*), 3 à 6 semaines pour les mycobactéries.

PONCTION PLEURALE



Milieux utilisés:

- Un flacon stérile,
- un tube EDTA,
- un flacon d'hémoculture anaérobie

<u>Technique de prélèvement</u> (le prélèvement doit se faire dans des conditions permettant la survie d'éventuels germes anaérobies):

- Adresser le liquide dans un flacon stérile destiné à la culture
- Mettre quelques gouttes du liquide dans un tube contenant de l'EDTA destiné à la cytologie.
- Pour préserver les éventuels germes anaérobies, inoculer quelques millilitres du liquide dans un flacon pour

hémoculture anaérobie (collerette mauve).

Acheminement:

Acheminer immédiatement les prélèvements à température ambiante au laboratoire.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable) et préciser s'il s'agit d'un prélèvement pour la recherche de germes qui ne sont pas recherchés en routine :

• Recherche de mycobactéries (*Mycobacterium tuberculosis* et autres mycobactéries) (voir « Recherche de mycobactéries »)

Prise en charge analytique:

Les résultats positifs sont communiqués dès qu'ils sont connus (l'examen direct est téléphoné dans le service).

<u>Délai de réponse</u>: 2 à 5 jours le plus souvent, 3 à 6 semaines pour les mycobactéries.

PONCTION DE LIQUIDE CEPHALO-RACHIQIEN (L.C.R)



Milieux utilisés:

Flacons stériles contenant chacun 1 mL de LCR (2 flacons chez l'enfant, 3 chez l'adulte).

En cas d'analyse complémentaire (PCR Herpes, entérovirus ou autre recherche), envoyer un flacon supplémentaire.

Technique de prélèvement :

- Le LCR est obtenu par ponction dans des conditions d'asepsie rigoureuse.
- Le LCR est réparti dans des flacons stériles étanches, numérotés et identifiés avec une étiquette au nom du patient.

La glycorachie s'interprète en fonction de la glycémie, il est donc recommandé de prélever en parallèle un tube de sang sur fluorure (dosage de glucose).

Acheminement:

Acheminer immédiatement les prélèvements à température ambiante au laboratoire.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (renseignements cliniques, antibiothérapie préalable) et préciser s'il s'agit d'un prélèvement pour la recherche de germes qui ne sont pas recherchés en routine :

- Recherche de mycobactéries en cas de suspicion de tuberculose (voir « Recherche de mycobactéries »)
- Recherche de leptospires
- Recherche de Borrelia
- Recherche d'amibes
- Recherche de Cryptococcus neoformans chez l'immunodéprimé

Prise en charge analytique:

Les résultats positifs sont communiqués dès qu'ils sont connus.

Délai de réponse : 2 à 7 jours le plus souvent, 3 à 6 semaines pour les mycobactéries.

PONCTION ARTICULAIRE



Milieux utilisés:

- Un flacon stérile,
- un tube EDTA,
- un flacon d'hémoculture anaérobie

<u>Technique de prélèvement</u> (le prélèvement doit se faire dans des conditions permettant la survie d'éventuels germes anaérobies):

- Adresser le liquide dans un flacon stérile destiné à la culture
- Mettre quelques gouttes du liquide dans un tube contenant de l'EDTA destiné à la cytologie.
- Pour préserver les germes anaérobies, inoculer 5 millilitres du liquide dans un flacon pour hémoculture anaérobie (collerette mauve)
- La recherche éventuelle de microcristaux doit être spécifiée sur le bon de demande.

Acheminement:

Acheminer immédiatement les prélèvements à température ambiante au laboratoire.

La recherche de microcristaux devant être réalisée dans l'heure suivant le prélèvement, elle ne pourra pas faire l'objet d'un rajout.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable) et préciser s'il s'agit d'un prélèvement pour la recherche de germes qui ne sont pas recherchés en routine :

- Recherche de mycobactéries (Mycobacterium tuberculosis et autres mycobactéries)
 (voir « Recherche de mycobactéries »)
- Recherche de gonocoques (*Neisseria gonorrheae*)

<u>Délai de réponse</u>: 2 à 7 jours le plus souvent, 3 à 6 semaines pour les mycobactéries.

PRELEVEMENTS OSSEUX : Infections ostéo-articulaires chroniques ou sur matériel

Les prélèvements sont effectués au bloc opératoire. Un protocole de prélèvement a été rédigé pour les infections articulaires chroniques ou sur matériel.

Il est disponible sur intranet : <u>Infections ostéo-articulaires chroniques ou sur matériel.</u>

ABCES, COLLECTIONS PURULENTES



Milieux utilisés:

- Un flacon stérile,
- un tube EDTA,
- un flacon d'hémoculture anaérobie

<u>Technique de prélèvement</u> (le prélèvement doit se faire dans des conditions permettant la survie d'éventuels germes anaérobies):

- Le prélèvement doit être effectué après désinfection soigneuse de la surface de la zone à prélever
- Il s'effectue au cours d'un abord chirurgical ou par ponction transcutanée à l'aiguille montée sur une seringue.
- En fonction du volume, le prélèvement sera transporté dans une seringue bouchée stérilement après ablation de
- l'aiguille ou dans un pot stérile.
- Pour préserver les germes anaérobies, inoculer 5 millilitres du liquide dans un flacon pour hémoculture anaérobie (collerette mauve)

Acheminement:

Acheminer les prélèvements dans les 2 heures à température ambiante au laboratoire.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable) et préciser s'il s'agit d'un prélèvement à la recherche de germes qui ne sont pas recherchés en routine :

- Recherche de mycobactéries (Mycobacterium tuberculosis et autres mycobactéries)
 (Voir « Recherche de mycobactéries »)
- Abcès du cou : FusobacteriumAbcès du cerveau : Actinomyces

<u>Délai de réponse</u> : 2 à 7 jours le plus souvent, 3 à 6 semaines pour les mycobactéries.

PLAIES, ECOULEMENTS



Milieu utilisé:

Flacon stérile

Technique de prélèvement :

- Le prélèvement doit être effectué après détersion de la zone à prélever avec du sérum physiologique stérile et éventuellement après désinfection des zones proximales
- Prélever par aspiration à la seringue ou à l'aiguille fine ou pratiquer une biopsie
- Eviter l'écouvillonnage, car l'échantillon est alors de faible volume, sujet à la dessiccation et fréquemment contaminé par la flore résidente. S'il s'agit cependant de la seule possibilité, l'écouvillon avec milieu de transport doit être utilisé et peut être humidifié avec de l'eau physiologique stérile avant de prélever (+écouvillon sans milieu de transport pour l'examen direct).
- Bulle: aspirer le liquide avec une aiguille de faible calibre et/ou racler le fond de la lésion (recherche de virus)
- Ulcères, escarres, lésions nécrotiques: nettoyer la plaie, éliminer les exsudats, débrider les tissus nécrosés, désinfecter et rincer à l'eau stérile avant de prélever. Cureter le bord actif de la lésion ou aspirer l'exsudat avec un fin cathéter à placer dans un flacon stérile fermé ou avec une seringue.

Acheminement:

Acheminer les prélèvements dans les 2 heures à température ambiante au laboratoire.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable) et préciser s'il s'agit d'un cas de morsure et l'espèce animale en cause pour que des recherches spécifiques puissent être effectuées.

PRELEVEMENTS GENITAUX OU URETRAUX

Technique de prélèvement :

- PRELEVEMENT VULVAIRE : frotter les lésions à l'aide de deux écouvillons (l'un pour la cytologie, l'autre pour la culture)
- PRELEVEMENT VAGINAL :
 - Vagin, exocol : mettre en place un spéculum et prélever à l'aide d'écouvillons stériles un maximum de sécrétions au niveau d'éventuelles lésions ou à défaut dans le cul-desac postérieur et l'exocol.
 - Endocol : nettoyer soigneusement l'exocol avec un antiseptique et le rincer avec de l'eau physiologique stérile, puis écouvillonner l'endocol de façon appuyée et prolongée pour ramener des cellules avec la glaire cervicale (des écouvillons de type cytobrosses peuvent être utilisés)
- PRELEVEMENT URETRAL
 - A réaliser à distance d'une miction. Introduire un écouvillon fin sur le premier centimètre du méat urétral, imprimer une légère rotation pour ramener des cellules épithéliales avec les sécrétions.
- PRELEVEMENT URINAIRE
 - o Recueillir les urines du premier jet dans un flacon stérile (non boraté).
- PRELEVEMENT D'ULCERATIONS GENITALES (contacter préalablement le laboratoire de microbiologie, qui fournira les milieux adaptés en fonction des germes recherchés) :
 - Nettoyer délicatement l'ulcération à la compresse stérile imbibée d'eau physiologique stérile
 - Faire sourdre la sérosité du chancre sans le faire saigner
 - o En cas de recherche de tréponèmes (syphilis), réaspirer avec un cathéter fin
 - Dans les autres cas, utiliser deux écouvillons pour frotter les lésions et mettre l'un des deux écouvillons en milieu de transport adapté.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable) et préciser les germes à rechercher : microbiologie standard, gonocoques, *Chlamydiae*, mycoplasmes, tréponèmes.

RECHERCHE MICROBIOLOGIQUE STANDARD



Milieux utilisés :

Ecouvillon avec milieu de transport + écouvillon sec

Acheminement:

Acheminer les prélèvements à température ambiante au laboratoire.

RECHERCHE DE GONOCOQUES

<u>Milieux utilisés</u>: *Neisseria gonorrhoeae* est une bactérie responsable d'infection sexuellement transmissible. Les principaux sites d'infection sont l'urètre, le col utérin, le vagin, la région anorectale, l'oropharynx et les conjonctives.

Un prélèvement de qualité est nécessaire pour maintenir les micro-organismes viables, ce qui implique un transport rapide vers le laboratoire (les écouvillons sont adressés dans un milieu de transport protecteur, à condition que la durée du transport ne dépasse pas 24 heures).



Milieux utilisés :

Prélèvement vulvaire, vaginal ou urétral : Milieu de transport charbonné à demander au laboratoire

Acheminement:

Acheminer les prélèvements à température ambiante au laboratoire.

RECHERCHE DE MYCOPLASMES ET UREAPLASMES

<u>Principe</u>: Les mycoplasmes génitaux, présents à l'état commensal sur les muqueuses uro-génitales peuvent se multiplier de manière anormale et provoquer diverses infections :

- Ureaplasma urealyticum, chez l'homme, est principalement responsable d'urétrites (2ème cause d'urétrites non gonococciques). On le retrouve aussi lors de prostatites ou d'épididymites. Chez la femme enceinte, il peut être à l'origine de chorioamniotite, de rupture prématurée des membranes et par suite, d'infections du nouveau-né. Il a pu être incriminé dans l'étiologie de certains troubles de la reproduction.
- Mycoplasma hominis est impliqué dans des endométrites et salpingites. On le trouve associé aux vaginites non spécifiques.



<u>Prélèvement</u>: Urètre, endocol, vagin. Le prélèvement doit impérativement s'effectuer par grattage de la muqueuse afin de récolter les cellules auxquelles adhèrent les mycoplasmes.

Milieux utilisés:

L'écouvillon utilisé est déchargé dans 2 ml de milieu de suspension (casser l'écouvillon dans le milieu de transport)

Milieu de suspension « mycoplasme-uréaplasme » à demander au laboratoire

Acheminement:

Acheminer le milieu de transport inoculé à température ambiante au laboratoire.

RECHERCHE DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS

<u>Principe</u>: L'infection à *Chlamydia trachomatis* est un problème de santé publique en raison de la gravité de ses séquelles : notamment lésions tubaires favorisant des grossesses extra-utérines et responsables d'hypofertilité tubaire, ou douleurs pelviennes chroniques.

Pour le diagnostic biologique de l'infection à *Chlamydia trachomatis*, la détection du génome bactérien par biologie moléculaire avec amplification génique in vitro présente de bonnes performances diagnostiques.

Elle est adaptée dans toute situation clinique et pour tout prélèvement.

Milieux utilisés :

Les échantillons peuvent être

- des prélèvements d'urines :
 - Urines 1^{er} jet recueillies en flacon stérile non boraté
- des prélèvements urétraux ou cervicaux :
 - prélevés sur des écouvillons en Dacron



<u>ATTENTION</u>: en période de garde, les écouvillons en Dacron ne peuvent être pris en charge, privilégier:

- Les urines premier-jet
- en cas de suspicion de salpingite <u>uniquement</u>: un écouvillon avec milieu de transport ∑-VCM (à demander au laboratoire)

Acheminement:

 Acheminer les prélèvements dans l'heure suivante à température ambiante au laboratoire.



RECHERCHE DE STREPTOCOQUE B EN CONTEXTE OBSTETRICAL



Milieu utilisé:

Ecouvillon avec milieu de transport

<u>Technique de prélèvement</u>:

La recherche se fait sur prélèvement vaginal.

- En routine (dépistage du 8^e mois chez une femme enceinte) :
- mettre en place un spéculum et prélever à l'aide d'un écouvillon stérile un maximum de sécrétions dans le cul-de-sac postérieur et l'exocol. Cet écouvillon servira à la recherche de streptocoques B par culture.
 - o acheminer rapidement à température ambiante au laboratoire
 - o délai de réponse : 1 à 2 jours

PRELEVEMENTS NEONATAUX

Milieux utilisés:



Flacons stériles, écouvillons avec milieu de transport + écouvillons secs

Technique de prélèvement :

- Liquide gastrique (liquide amniotique ingéré) : aspirer les mucosités
- Biopsie placentaire, membranes : découper stérilement et placer dans un pot stérile fermé
- $-\,$ Prélèvements périphériques (oreille, œil ...) : prélever par écouvillonnage



Acheminement:

Acheminer les prélèvements dans l'heure suivante à température ambiante au laboratoire.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels :

- identité de la mère,
- contexte,
- renseignements cliniques,
- antibiothérapie préalable

Préciser les indications de la demande :

- fièvre maternelle,
- infection urinaire ou génitale de la mère,
- rupture des membranes de plus de 12 heures,
- souffrance fœtale sans cause obstétricale,
- accouchement prématuré,
- abcès placentaire,
- liquide amniotique méconial ou fétide,
- nouveau-né présentant une détresse respiratoire, une fièvre ou une hypothermie, un collapsus vasculaire, un purpura, des troubles du tonus ou une hépatosplénomégalie.

COPROCULTURE

Principe:

La **coproculture** est la culture bactériologique de selles pour déceler la présence de germes pathogènes normalement absents du tube digestif ou anormalement nombreux.

L'examen peut être utile dans plusieurs cas :

- recherche de bactéries responsables d'une diarrhée,
- recherche d'éventuelles bactéries résistantes chez un patient asymptomatique,
- bilan d'une intoxication alimentaire
- éventuelle détection d'indice d'une parasitose intestinale...

Le but de la coproculture consiste à tenter d'isoler au sein d'une flore complexe un nombre limité d'espèces réputées pathogènes.

Lors de demande de coproculture, recherche systématique de :

- Shigelle: en systématique en cas de demande de coproculture et pour les biopsies de muqueuses rectale ou colique
- Salmonelle: en systématique en cas de demande de coproculture et pour les biopsies de muqueuses rectale ou colique
- Campylobacter: selles liquides ou moulant le pot. On procède à la recherche des antigènes spécifiques des antigènes de Campylobacter. Les selles positives sont mises en cultures pour identification et antibiogramme du germe (Délai de rendu des résultats de recherche d'antigène: 1 à 2 jours)
- Yersinia: uniquement pour les patients âgés de moins de 20 ans ou si l'analyse est demandée
- E. coli EPEC (entéropathogène): en cas de selles moulant le pot chez les patients de moins de 2 ans ou sur demande spécifique
- E. coli O157 H7, EHEC ou STEC (entérohémorragiques), ETEC (entérotoxinogène) et autres pathovars : en cas demande spécifique ou en cas de diarrhées sanglantes.
- Candida: en cas de déséquilibre de la flore à majorité de levure à l'examen direct ou en cas de demande spécifique
- Recherche de *Plesiomonas*: uniquement si elle est demandée spécifiquement (notamment en cas d'ingestion de poissons crus ou de fruits de mer)
- Recherche d'Aeromonas: uniquement si elle est demandée spécifiquement
- Recherche de Staphylococcus aureus : uniquement si elle est demandée spécifiquement.
- Recherche de Bacillus cereus : uniquement si elle est demandée spécifiquement.
- Recherche de Clostridium perfringens: uniquement si elle est demandée spécifiquement.
- Recherche de Vibrio sp. uniquement si elle est demandée spécifiquement. Pour l'espèce V.cholerae les selles sont en général afécales avec un aspect riziforme.





Milieu utilisé:

Selles: Flacon propre à large ouverture

Biopsies: Flacons stériles

Technique de prélèvement :

- Les selles sont recueillies dès leur émission dans un récipient propre. Un échantillon du volume d'une grosse noix est prélevé à l'aide d'une spatule et transféré dans un pot hermétique. Prévoir plus de matière si demande d'examen supplémentaire.
- Les biopsies coliques: Le prélèvement est reçu dans un flacon stérile de préférence dans quelques gouttes d'eau physiologique

Acheminement:

Le prélèvement de selles doit être acheminé rapidement au laboratoire.

Les **biopsies** et doivent être acheminé rapidement au laboratoire où elles sont conservées à + 4° et ensemencées dans les 12 heures.

Renseignements cliniques :

Compte tenu de la diversité des espèces potentiellement responsables, la mise en culture sera orientée en fonction des différents contextes épidémio-cliniques significatifs.

Donner les **renseignements habituels** (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable) **et préciser en particulier** s'il s'agit :

- d'un patient de retour d'un pays tropical
- d'une suspicion de syndrome hémolytique et urémique
- d'une suspicion de TIAC (toxi-infection alimentaire collective)
- d'un syndrome cholériforme

RECHERCHE DE TOXINE DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE



Principe:

Le *Clostridium difficile* est devenu l'agent étiologique le plus important de la diarrhée nosocomiale dans le monde.

Toutes les souches de *C. difficile* produisent de la glutamate déshydrogénase (GDH).

Certaines souches de *C. difficile* produisent deux toxines (la toxine A et la toxine B) qui sont toutes deux été associées à la maladie.

Les souches de *C. difficile* qui ne contiennent pas les gènes de la toxine A et de la toxine B sont considérées comme étant non pathogènes.

Milieu utilisé:

Flacon propre à large ouverture

Technique de prélèvement :

Echantillon de selles

Acheminement:

Acheminer au dans l'heure laboratoire à température ambiante

Prise en charge analytique:

Le protocole institutionnel est applicable.

L'examen est réalisé uniquement sur les échantillons liquides ou moulant le pot.

On procède d'abord à la recherche de GDH. En cas de GDH positive (présence de *Clostridium difficile*), la recherche du gène de la toxine est réalisée par PCR.

Si la PCR est positive, le prélèvement est mis en culture. Une identification et un antibiotype sont réalisés pour les souches de *Clostridium difficile* isolées (en effet, les souches résistantes à la fois aux antibiotiques marqueurs érythromycine et moxifloxacine sont hautement suspectes d'être une souche hypertoxinogène 027).

Les recherches de GDH positives ainsi que le résultat de la recherche de toxine sont téléphonés dans le service et communiqués à l'EOH.

Délai de réponse : 1 jour (jours ouvrables) pour la GDH et la toxine, 7 à 14 jours pour la culture.

RECHERCHE DE SANG DANS LES SELLES

Observer un régime alimentaire à base de végétaux riches en résidus (salades, épinards, prunes, céréales, raisins, pommes).

Ce régime permet de déceler des lésions silencieuses grâce aux saignements provoqués par le frottement des matières riches en résidus.

Milieu utilisé:

Pot non stérile pour coproculture

Technique de prélèvement :

- Le recueil des selles doit être effectué 3 jours de suite.
- L'analyse est réalisée sur selles fraîchement émises
- Pendant les 2 jours qui précèdent et pendant l'examen, ne prendre aucun médicament à base :
 - o d'aspirine
 - o d'anti-inflammatoires
 - o de corticoïdes
- Réaliser l'examen en dehors de toute perte sanguine menstruelle, hémorragie génitale, saignement de nez, de gencives ou crise hémorroïdaire.
- Éviter la contamination des selles par les urines.

Acheminement: Acheminer dans l'heure au laboratoire.

RECHERCHE D'HELICOBACTER PYLORI DANS UNE BIOPSIE GASTRIQUE

Helicobacter pylori est une bactérie qui colonise la paroi stomacale de près de 50% de la population. Il peut être responsable de pathologies digestives : gastrite, ulcère gastroduodénal, certains cancers gastriques...

La recherche d'*Helicobacter pylori* s'effectue par la mise en culture de la bactérie : il s'agit de la méthode diagnostique de référence la plus spécifique qui permet aussi de déterminer la sensibilité de la bactérie aux antibiotiques.

Milieu utilisé:

Milieu de transport spécifique pour H. pylori (à retirer auprès du laboratoire)

<u>Technique de prélèvement</u>:

Biopsie gastrique (antre ou fundus) au bloc opératoire

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable). Préciser en particulier s'il y a un contexte d'échec de l'antibiothérapie.



Acheminement:

Au cours de l'endoscopie gastrique, plusieurs biopsies sont prélevées : elles doivent être acheminées rapidement au laboratoire et techniquées dans les plus brefs délais.

- Si le délai entre le prélèvement et l'acheminement au laboratoire est inférieur à 2h : le transport peut se faire à température ambiante, dans du sérum physiologique.
- Si le délai entre le prélèvement et l'acheminement au laboratoire est supérieur à 2h : La ou les biopsies doivent être insérées dans un milieu de transport gélosé Portagerm Pylori (bioMérieux). La biopsie peut alors y être conservée à température ambiante pendant maximum 48h avant d'être techniquée.

<u>Prise en charge analytique</u>: En cas d'examen direct positif, le prescripteur en est informé par un biologiste.

DISPOSITIFS INTRAVASCULAIRES (CATHETERS, CHAMBRES IMPLANTABLES)

<u>Intérêt</u>: Documenter l'implication d'un dispositif intravasculaire dans un état septique, distinguer la contamination et la colonisation.

<u>Technique de prélèvement</u>:

- CATHETER: après ablation du cathéter, couper avec des ciseaux stériles et placer dans un pot stérile fermé:
 - o Pour les cathéters longs : 5 cm de l'extrémité distale
 - o Pour les cathéters courts : la totalité de la partie insérée



- CHAMBRE IMPLANTABLE : réaliser des prélèvements étagés :
 - o Ecouvillonnage externe de la chambre
 - o Ecouvillonnage de la loge ou recueil des sérosités
 - Rinçage de la partie fermée de la chambre (avec de l'eau physiologique stérile)
 - o Prélèvement du cathéter



Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable). Préciser en particulier s'il y a un contexte d'hyperthermie, frissons, choc septique, infection locale.



Acheminement:

Acheminer les prélèvements à température ambiante dans les 2 heures suivantes au laboratoire.

<u>Délai de réponse</u> : 2 à 4 jours.

LIQUIDES DE DRAIN OU DE REDON

<u>Principe</u>: Les liquides de drain de redon sont normalement stériles. L'intérêt de la mise en culture d'un liquide provenant d'un système de drainage est la surveillance de l'efficacité d'un traitement anti-infectieux.

<u>Technique de prélèvement</u>:

Tous les prélèvements doivent provenir de systèmes de drainage clos. Le flacon de récupération du liquide doit être envoyé au laboratoire après avoir été **fermé hermétiquement par clampage** de la tubulure.



Bien identifier et différencier les flacons prélevés

Renseignements cliniques :

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable). L'origine et la localisation anatomique de chaque liquide doivent être indiquées avec précision.

Acheminement:

Acheminer les prélèvements dans l'heure à température ambiante au laboratoire.

<u>Délai de réponse</u> : 3 à 6 jours.



RECHERCHE DE B.M.R (Bactéries multi-résistantes)



Principe : Etablir le statut des patients vis-à-vis des BMR.

Milieux utilisés : Ecouvillons avec milieux de transport ou flacons stériles

Technique de prélèvement :

La politique de dépistage est définie par l'équipe opérationnelle d'hygiène en concertation avec le microbiologiste et les cliniciens concernés.

Au GHICL, il a été décidé de rechercher :

- les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (**SARM**) par écouvillonnage nasal
- les Entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) par écouvillonnage rectal
- Une fois par semaine dans le service de réanimation : les *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime (PARC) et les *Acinetobacter baumannii* multi résistant aux β -lactamines (ABMR dont ABRI) dans l'AET (aspiration endotrachéale)

Les autres recherches se font à la demande des services après accord du biologiste et de l'EOH (<u>Fiche de renseignements cliniques</u>)

La recherche d'EPC doit être auparavant validée par l'EOH (prélèvement par écouvillonnage rectal).

En cas d'épidémie, seront recherchés les PARC et ABMR dans les prélèvements pré-cités et sur écouvillonnage d'aisselles.

La recherche d'Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) s'effectuera sur écouvillonnage rectal ou recueil de selles pour les patients transférés d'hôpitaux à forte émergence en ERV après accord du biologiste et de l'EOH.

Acheminement:

Acheminer au laboratoire à température ambiante.

RECHERCHE DE MYCOBACTERIES (BK et mycobactéries atypiques)

<u>Principe</u>: *Mycobacterium tuberculosis* est la bactérie (ou mycobactérie) responsable de la tuberculose. Il existe d'autres types de mycobactéries, toujours pathogènes, qui peuvent aussi être recherchées au cours de ces prélèvements.

Milieux utilisés:

Il faut utiliser des flacons stériles sans conservateur, à usage unique, à fermeture hermétique.

Prélèvement :

Les prélèvements, réalisés avant tout traitement antibiotique, doivent être **répétés 3 fois** (émission irrégulière dans les prélèvements pulmonaires, faible quantité dans les autres prélèvements).



<u>Certains prélèvements sont inadéquats</u> : les crachats salivaires, les prélèvements sur écouvillon (trop faible volume prélevé), les urines prélevées dans le cadre d'un ECBU ou sans leucocyturie et/ou hématurie ou sans anomalies cliniques.

Prélèvements d'origine pulmonaire

- <u>EXPECTORATION</u>:

Les crachats sont prélevés le matin, à jeun si possible, 3 jours de suite (5 ml de crachats doivent être obtenus, au minimum 2 à 3 ml).

- TUBAGES GASTRIQUES:

5 à 6 ml des sécrétions bronchiques dégluties sont recueillies dans un récipient stérile par aspiration du liquide gastrique chez un patient à jeun, maintenu alité depuis la veille, le plus tôt possible après le réveil. Le tubage gastrique est effectué 3 jours de suite.



Acheminer rapidement le prélèvement au laboratoire. En effet, l'acidité gastrique est néfaste pour les mycobactéries, et il est recommandé de le traiter dans les 4 heures.

- ASPIRATION ENDO-TRACHEALE (A.E.T): Recueillir les sécrétions respiratoires à l'aide d'une sonde d'aspiration chez les patients intubés.
- PRELEVEMENTS SOUS FIBROSCOPIE: aspiration bronchique, biopsie pleurale et pulmonaire, liquide de lavage broncho-alvéolaire.
 La fibroscopie est responsable d'une irritation qui se manifeste par l'émission de crachats dans les heures qui suivent: il est important de recueillir ces crachats, qui ont un taux de positivité élevé.

Prélèvements extra-pulmonaires

- <u>LIQUIDES DE PONCTION</u>: Les liquides sont prélevés dans des pots stériles. S'ils sont séro-fibrineux (liquide pleural, liquide d'ascite, liquide articulaire, LCR hémorragique, par exemple), on les prélève préférentiellement sur héparine. Plus le prélèvement est important, plus il est contributif car il s'agit souvent de prélèvements pauci-bacillaires (pour un LCR: 1 à 2 ml).
- SANG et MOELLE OSSEUSE : Prélever sur héparine
- <u>URINES</u>: La totalité des urines de la nuit doit être recueillie après restriction hydrique sur la nuit. Elle est à réaliser 3 jours de suite.
 L'examen n'est réalisé qu'en cas de leucocyturie (sauf chez l'immunodéprimé) et en l'absence de germes banals.
- SELLES: Cet examen n'est plus recommandé, on lui préfère la biopsie colique
- TISSUS, GANGLIONS, BIOPSIES, PEAU, OS: Recueillir une quantité suffisante de tissu et le placer dans un flacon stérile.

ABCES, LESIONS CUTANEES, PLAIES :

Ne jamais utiliser d'écouvillons.

Désinfecter la peau avent tout prélèvement.

Ponctionner les abcès.

Réaliser les prélèvements de plaies ou lésions cutanées à la périphérie des lésions, en privilégiant une biopsie.

<u>Acheminement</u>: Les prélèvements doivent être acheminés rapidement au laboratoire (dans les 2 heures).

<u>Délai de rendu de résultats</u> : 2 à 3 jours pour l'examen direct ; minimum 4 semaines pour une culture positive

MYCOLOGIE (Bon vert)

RECHERCHE DE DERMATOPHYTES



Technique de prélèvement : ne pas utiliser d'écouvillons

Plaie ou peau intacte - squames

- Nettoyer la zone à prélever et la rincer à l'eau physiologique stérile.
- Gratter la périphérie de la lésion avec une lame de bistouri de façon à obtenir des squames.
- Placer les débris obtenus dans un flacon stérile fermé.

Ongles

- Nettoyer la zone à prélever et la rincer à l'eau physiologique stérile.
- Avec une curette ou une lame de bistouri, détacher une portion des débris sous l'ongle ou couper une partie de l'ongle avec des ciseaux ou gratter la surface dorsale de l'ongle avec une lame en rejetant les squames superficielles et en conservant les plus profondes.
- Placer le spécimen dans un flacon stérile fermé.

Cheveux - poils

- Le prélèvement doit impérativement contenir la racine (bulbe), car le champignon infecte habituellement à partir de la racine.
- Avec une pince à épiler, arracher une dizaine de poils ou cheveux dans la zone malade.
- Si les cheveux sont cassés jusqu'à la racine, utiliser une lame de bistouri pour gratter la zone affectée et obtenir des débris.
- Placer les prélèvements dans un flacon stérile fermé.

Renseignements cliniques:

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable).

Acheminement:

Acheminer les prélèvements à température ambiante au laboratoire.

Délai de réponse : 21 à 28 jours.

RECHERCHE DE LEVURES

Les prélèvements sont à effectuer selon les protocoles de bactériologie.



PARASITOLOGIE

<u>Généralités</u>

Indiquer s'il y a lieu sur la requête le pathogène recherché.

Indiquer si le patient reçoit des antibiotiques, des anti-parasitaires et s'il s'agit d'un retour de voyage et les pays visités.

ASPIRATION DUODENALE

Obtenir un minimum de 2 ml de sécrétions après introduction d'un tube nasogastrique. Placer les sécrétions dans un pot stérile.

Transporter immédiatement au laboratoire.

LIQUIDE: Céphalo rachidien, articulaire, pleural, ascite, kyste.

Prélever 1 à 2 ml dans un tube stérile.

Envoyer au laboratoire immédiatement à T° ambiante

SCOTCH TEST: OXYURE ET TENIA

Utiliser une bande de papier adhésif transparent (type Scotch transparent brillant) placé coté collant à l'extérieur et maintenu par un abaisse-langue en bois.

Recueillir les œufs en appuyant fermement la bandelette sur la région anale.

Placer le côté adhésif sur une lame de microscope identifiée au nom du patient et faire parvenir au laboratoire dans un sachet plastique étanche.

Prélever de préférence tôt le matin avant la douche ou utilisation des toilettes, pendant 4 à 5 jours consécutifs.

Faire parvenir au laboratoire à température ambiante en moins de 24 heures.

PEAU: LEISHMANIA ET ONCHOCERCA

Lésion ulcérée (recherche leishmania)

- o Faire un grattage ou mieux, une biopsie en marge de la lésion.
- o Placer dans un contenant stérile humidifié avec de l'eau physiologique stérile et acheminer immédiatement au laboratoire à T° ambiante.

Peau intacte (recherche de microfilaires)

- o Le prélèvement doit être superficiel et ne pas provoquer le saignement.
- o La région dorsale inter-scapulaire est utilisée.
- o Soulever la peau avec la pointe (biseau) d'une aiguille.
- o Couper la portion de peau au-dessus de l'aiguille.
- o Déposer l'échantillon dans un tube contenant 0.5 ml d'eau physiologique stérile.
- o Acheminer immédiatement au laboratoire à T° ambiante.

SARCOPTE (GALE) ATTENTION CONTAGIEUX!!

Appliquer un peu de vaseline liquide, puis gratter pour enlever les squames et ouvrir les sillons. Récupérer les squames dans la vaseline avec la lame de bistouri et étaler sur une lame de verre qui sera mise dans un pot.

Acheminer rapidement le prélèvement au laboratoire.

SANG: PALUDISME, FILAIRE, TRYPANOSOMIASES - PONCTION DE MOELE OSSEUSE: LEISHMANIOSE



Prélever environ 5 ml de sang dans un tube EDTA pour la recherche de plasmodium

Pour la recherche de microfilaires, trypanosomes, leishmania, utiliser de préférence un tube sur citrate. Contacter auparavant le biologiste.

Envoyer immédiatement au laboratoire à T° ambiante.

La ponction de moelle osseuse sera effectuée selon les mêmes modalités qu'une ponction à visée hématologique.

SELLES

Technique de prélèvement :

- Les selles sont recueillies dès leur émission dans un récipient propre. Un échantillon du volume d'une grosse noix est prélevé à l'aide d'une spatule et transféré dans un pot hermétique.
- Le recueil doit s'effectuer 3 jours de suite
- Prélever les selles avant l'administration d'antibiotiques ou d'anti-diarrhéiques. Éviter l'utilisation de substances qui interférent avec la détection de parasites 7 jours avant le prélèvement : huile minérale, baryum, bismuth.

Acheminer les prélèvements au laboratoire à température ambiante : dans la demi-heure pour les selles liquides, dans l'heure pour les selles semi-formées, dans les 24 heures pour les selles moulées.

Donner les renseignements habituels (contexte, renseignements cliniques, antibiothérapie préalable) et préciser en particulier s'il s'agit d'un patient de retour d'un pays tropical. Pour les recherches spéciales sur selles fraîches, communiquer avec le laboratoire

Délai de réponse : 5 à 7 jours

SIGMOÏDOSCOPIE

Placer le spécimen dans un contenant stérile avec un peu d'eau physiologique stérile.

Acheminer immédiatement au laboratoire.

ENTOMOLOGIE: TIQUES ET INSECTES

Mettre dans un contenant étanche avec une gaze humide pour éviter le dessèchement ou mieux placer l'insecte dans de l'alcool.

Acheminer au laboratoire à T° ambiante le plus rapidement possible.

URINES



Recueillir l'urine dans un pot stérile NON BORATÉ.

L'excrétion des **schistosomes** étant maximale **entre midi et 15 heures**, prélever le spécimen au milieu de la journée.

Chez les patients avec hématurie, prélever la dernière partie du jet où le mucus et le sang sont le plus concentrés.

Acheminer au laboratoire dans les 2 heures suivant le prélèvement, à T° ambiante.

VERS

Acheminer au laboratoire dans un contenant stérile avec un peu d'eau physiologique stérile, à température ambiante, dans les 24 heures.

Ne pas enrouler dans des compresses ou papier de toilette (ce qui pourrait assécher le ver et nuire à l'identification).

VIROLOGIE

Les prélèvements doivent être faits le plus tôt possible au début des symptômes lorsque l'excrétion virale est maximale.

L'acheminement dans les plus brefs délais au laboratoire est primordial pour améliorer le taux de détection car la viabilité des virus diminue rapidement avec le temps s'ils ne sont pas en milieu de transport.

Bien indiquer sur la requête les renseignements cliniques pertinents et le virus recherché.

RECHERCHE DES ANTIGENES GRIPPAUX (VIRUS INFLUENZAE DE TYPE A ET B)

<u>Principe</u>: test destiné à la détection qualitative des antigènes du virus Influenza de type A et B dans les échantillons humains nasopharyngés pour l'aide au diagnostic de l'infection à Influenza.

Milieux utilisés : Flacon stérile ou écouvillon

Prélèvement :

Les échantillons peuvent arriver au laboratoire sous deux formes :

- lavage nasal, aspirats nasopharyngés dans un flacon qui peut contenir aussi le tube d'aspiration (pédiatrie).
- prélèvement nasal et nasopharyngé profond sur écouvillon (adultes).

<u>Acheminement</u>: Acheminer au laboratoire dans l'heure à température ambiante.

Délai de rendu de résultats : 1 à 2 jours

RECHERCHE DE VRS (VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL)

<u>Principe</u>: test destiné à détecter les antigènes du V.R.S. dans des échantillons humains provenant d'un lavage nasal, d'un aspirât nasopharyngé ou d'un écouvillonnage nasal ou nasopharyngé.

Milieux utilisés : Flacon stérile ou écouvillon

Prélèvement :

Les échantillons peuvent arriver au laboratoire sous deux formes :

- lavage nasal, aspirâts nasopharyngés dans un flacon qui peut contenir aussi le tube d'aspiration.
- prélèvement nasal et nasopharyngé sur un écouvillon.

Attention: le sang peut entraîner des résultats faussement positifs. Les prélèvements visuellement contaminés par du sang ne seront pas pris en charge.

Acheminement: Acheminer au laboratoire dans l'heure à température ambiante.

Délai de rendu de résultats : 1 à 2 jours





RECHERCHE DE ROTAVIRUS ET ADENOVIRUS

<u>Principe</u>: La plupart des gastro-entérites sont d'origine virale. Les rotavirus sont responsables de plus de 50% des cas, surtout chez le nourrisson. Le diagnostic est surtout nécessaire chez le nourrisson hospitalisé, en cas de diarrhées chez l'immunodéprimé, dans les cas groupés et les infections nosocomiales.

Milieux utilisés : pot stérile

<u>Prélèvement</u>: Les selles sont recueillies dès leur émission dans un récipient propre. Un échantillon du volume d'une grosse noix est prélevé à l'aide d'une spatule et transféré dans un pot hermétique.

Acheminement: Acheminer au laboratoire dans l'heure à température ambiante.

Délai de rendu de résultats : 1 à 2 jours



RECHERCHE DE VIRUS HERPES DANS LA PEAU ET LES MUQUEUSES

Principe:

Le virus herpès simplex (HSV) se retrouve dans le liquide de lésions, dans la salive et les sécrétions vaginales et se transmet par contact direct avec les lésions ainsi que par voies sexuelle et périnatale. Dans une majeure partie des infections à HSV, le tableau clinique dominant est celui de la formation de vésicules sur la peau et au niveau des muqueuses (bouche et appareil génital). La recherche est réalisée par technique de PCR en temps réel.

Milieux utilisés:

Ecouvillons secs stériles

<u>Prélèvement</u>: Les prélèvements se font sur la peau et les muqueuses. Pour les autres types de prélèvements, se référer au <u>catalogue des analyses</u>.

Prélever les spécimens le plus tôt possible dès le début de l'infection. Des lésions croûtées ou en voie de cicatrisation contiennent déjà peu de virus.

Les lésions vésiculaires contiennent une plus grande quantité de virus que les lésions ulcérées ou sèches.

Nettoyer la vésicule ou l'ulcère avec de l'eau physiologique stérile.

Acheminement:

Acheminer les prélèvements à température ambiante au laboratoire.

RECHERCHE DE CYTOMEGALOVIRUS

Principe:

La recherche de Cytomégalovirus humain (CMV) est réalisée par PCR en temps réel.

Milieux utilisés :

Tubes EDTA

Flacons stériles

Prélèvement :

Les prélèvements suivants sont acceptés :

- liquide amniotique recueilli dans un flacon stérile
- sang entier prélevé dans un tube EDTA
- prélèvements de LCR recueilli dans un flacon stérile
- prélèvements d'urines recueillies dans un flacon stérile
- biopsies dans un flacon stérile

Acheminement:

Acheminer les prélèvements à température ambiante au laboratoire.

<u>Délai de réponse</u> : 2 à 4 jours