

Mise en application : 03/12/2019	Version : 007	Fichier : IN-PREL-001
Rédigé par : Chantal TSOBO	Vérifié par : Georges GILSON	Approuvé par : Jean-Hugues FRANCOIS
Manuel de prélèvement		

1. Présentation du Département de Biologie Clinique

Le département de biologie clinique du CHL est composé des services suivants :

- laboratoire de microbiologie
- laboratoire d'hématologie comprenant le laboratoire de PMA
- laboratoire de biochimie avec les unités d'immunopathologie et d'immunoallergologie

a. Contacts et téléphones utiles

François Jean-Hugues (chef de Département, pharmacien biologiste responsable du laboratoire de biologie moléculaire) : Francois.Jean-Hugues@chl.lu

Schlesser Vincent (chef de Département, pharmacien biologiste responsable du laboratoire d'hématologie) : Schlesser.Vincent@chl.lu

Gilson Georges (Dr en biochimie, biologiste responsable du laboratoire de biochimie) : Gilson.Georges@chl.lu

Dr Benkhadra Farid (médecin biologiste responsable du laboratoire d'immuno-pathologie) : Benkhadra.Farid@chl.lu

Dr Tsobo Chantal (médecin biologiste responsable du laboratoire de microbiologie) : Tsobo.Chantal@chl.lu

Dr Forges Thierry (médecin biologiste responsable du laboratoire de PMA) : Forges.Thierry@chl.lu

Dr Desch Laurent (médecin biologiste responsable adjoint du laboratoire de PMA) : Desch.Laurent@chl.lu

Secrétariat (07h00 - 17h00 du lundi au vendredi) : 4411-2180

Secrétariat de PMA (07h00 - 15h00 du lundi au vendredi) : 4411-6520

Dect du technicien de nuit « labo biochimie » : 4411-8138

Dect du technicien de nuit « labo hématologie » : 4411-8047

b. Horaire des prises de sang

Prise de sang adulte (sans rendez-vous) :

Bâtiment "CENTRE" au laboratoire 1er étage : **Lundi-Vendredi: 07h00 - 15h00**

Bâtiment "EICH" en policlinique : **Lundi-Vendredi: 07h00 - 10h30**

Prise de sang pédiatrique (sans rendez-vous) :

Bâtiment "KANNERKLINIK" en polyclinique : **Lundi-Vendredi: 07h00-10h00**

c. Protection des données personnelles

Le laboratoire garantit la protection de la confidentialité des données « patients » placées sous sa responsabilité

d. Réclamations

Les réclamations sont gérées en interne via la procédure [PO-QUA-018](#).

Chaque patient, prescripteur externe au CHL ou laboratoire sous-traitant a la possibilité d'exprimer ses réclamations non-urgentes au laboratoires via l'adresse mail sec.labo@chl.lu.

2. Modalités de prescription d'analyses de biologie clinique

**UNE PRESCRIPTION MEDICALE POUR ANALYSES DE BIOLOGIE CLINIQUE EST VALIDE POUR UNE DUREE DE 2 MOIS APRES LA DATE DE PRESCRIPTION (sauf indication explicite contraire renseignée sur la prescription mais ne pouvant pas dépasser 6 mois).
Au-delà de cette validité, la prescription n'est plus opposable à la CNS.**

Aucune prescription orale n'est acceptée par le Département de biologie clinique.

Toute demande d'analyse de biologie clinique transmise au laboratoire doit être accompagnée d'une prescription médicale.

L'ordonnance = prescription médicale doit être rédigée ou remplie par le médecin-prescripteur et comporter **obligatoirement** les éléments suivants :

- l'identité du patient avec nom, prénom, date de naissance
 - en milieu hospitalisé : étiquette avec IPP du patient (Identifiant Permanent du Patient)
 - en milieu ambulancier : matricule national du patient
- la date de la prescription
- la date et heure de prélèvement
- le nom du médecin (en toutes lettres) ainsi que ses coordonnées (tq. adresse, numéro de téléphone, fax)
- la signature manuscrite du médecin-prescripteur
- en fonction des circonstances cliniques, les renseignements cliniques requis ainsi que les objectifs de la demande
- en milieu hospitalier :
 - identité du préleveur
 - unité ou service de soins
 - numéro de téléphone du service
- **Le statut « urgence » est à réserver exclusivement aux analyses indispensables à une prise en charge clinique rapide du patient.**
Ce statut urgence déclenche au niveau du laboratoire un traitement privilégié avec comme cible un rendu des résultats dans l'heure suivant la réception des échantillons.
Les analyses demandables sous statut « urgence » figurent **en gras** sur la fiche de prescription du laboratoire

L'absence d'identification du patient, une erreur dans l'identification du patient ou toute autre non-conformité pré-analytique concernant le prélèvement, l'échantillon ou son transport sont enregistrées comme telles dans le système de qualité du laboratoire et peuvent entraîner la non-exécution des analyses.

Les non-conformités pré-analytiques relevées apparaissent sur le compte-rendu des résultats délivré par le laboratoire.

Le catalogue des analyses du département de biologie clinique est disponible sur Intranet sous

[« Choisir un service/Laboratoires/2\) Catalogue des analyses »](#)

Ce catalogue renseigne sur les analyses réalisables au sein des laboratoires du CHL, sur les analyses sous-traitées à des laboratoires externes, le type de matériel nécessaire à la réalisation de l'analyse, les conditions de prélèvement et de transport, la stabilité de l'analyte, la technique utilisée ainsi que les valeurs normales.

Pour toute demande d'analyse génétique humaine, un formulaire de consentement est à faire remplir et signer par le patient (**[FO-LG-031](#)**).

3. Modalité de réception par le Département (non-conformité)

a. Définition

- Non observation d'une exigence
- Dysfonctionnement engendrant un retard ou une annulation de l'examen biologique
- Majeure : refus total
- Mineure : acceptation sous réserve et en fonction des situations

Tout prélèvement réceptionné au laboratoire est vérifié. L'acceptation ou le refus d'un prélèvement se fait en fonction des critères d'acceptation définis par le Département de biologie clinique.

b. Critères d'acceptation

Ils sont définis pour les items suivants :

- La prescription (voir chapitre 2)
- Le prélèvement (voir chapitre 2)
- L'échantillon (voir catalogue des analyses)
- Le respect des conditions pré-analytiques (voir chapitre 26)

Non-conformité bloquante : rejet d'échantillon, le préleveur et/ou le prescripteur sont avertis immédiatement et le personnel du Laboratoire renseigne la non-conformité dans GLIMS selon [PO-CDT-001](#).

4. Déroulement de l'acte de prélèvement au niveau des prises de sang ambulatoires du Département de Biologie Clinique

Rem : si un patient se présente avec une fistule, contacter le service de dialyse pour le prélèvement

a. Cheminement administratif du patient et encodage des analyses

1. Le patient passe par la réception du site concerné pour son enregistrement administratif : admission ambulatoire pour les laboratoires. Le patient y reçoit sa fiche d'admission

Remarque : si le patient vient aux prises de sang du laboratoire après une consultation médicale, l'admission est réalisée par la secrétaire de la consultation médicale.

Remarque : un patient avec cathéter ou PAC se présentant à la réception du laboratoire pour une prise de sang est à orienter vers l'unité qui le lui a posé.

2. Le patient, ensuite, se dirige vers un des locaux de prises de sang (voir § 1.b.)
3. Une des réceptionnistes du Département de biologie clinique réceptionne la fiche d'admission et la prescription médicale et donne un numéro au patient. Une prescription d'analyses biologiques a une validité de 2 mois ; il incombe au personnel du laboratoire de vérifier la validité de celle-ci.

Remarque : dans le cas d'une collecte d'urines de 24 heures ou d'un échantillon urinaire déjà rempli ou des selles, le patient va garder le récipient jusqu'à la prise de sang.

4. Le patient s'assied dans la salle d'attente
5. La réceptionniste encode les analyses demandées dans GLIMS en ayant préalablement scanné l'IPP du patient (identifiant permanent du patient propre au CHL).

Remarque : les prélèvements réalisés à la Kannerklinik sont encodés au centre de tri du Département.

6. A la fin de l'encodage, GLIMS produit les étiquettes barre-codées nécessaires pour ce patient.
7. La réceptionniste colle les étiquettes « Ordonnance » - « Scan Ordo » - « LAEXH signée par la personne ayant encodé les analyses » sur l'ordonnance ; ensuite, place celle-ci dans une pochette kangourou.

Remarque :

Les étiquettes concernant les urines sont aussi placées dans la pochette kangourou.

Le personnel des laboratoires s'occupant des prises de sang doit vérifier le numéro de la caisse de maladie du patient ainsi que l'exactitude des données administratives (adresse,...). Pour les patients « RCAM », une photocopie de l'ordonnance doit être faite pour les laboratoires et rendre l'original au patient pour que celui-ci puisse prétendre au remboursement de la facture auprès de sa caisse de maladie.

8. La pochette kangourou est placée sur le desk de réception en respectant l'ordre chronologique des heures d'admission.

b. Prélèvement

Le matériel disponible au Centre Hospitalier est décrit dans le chapitre **24. Matériel**. Ce document est aussi accessible sur l'Intranet (« Choisir un service »/ »Laboratoire »/ « point 8 Matériel de prélèvement »)

i. Préparation du matériel

- Aiguilles de ponction
En fonction du capital veineux du patient, on utilisera : aiguille à prélèvement multiple, unité de prélèvement à ailette, aiguille et seringue, aiguille avec ou sans tubulure
- Un corps de pompe ou tulipe pour prélèvement sous vide
- Seringue
- Garrot
- Compresses stériles
- Sparadrap
- Antiseptiques (OCTENIDERM Farblos®, HIBITANE®)
- Gants à usage unique
- Portoirs
- Containers pour aiguilles usagées conforme à la législation en vigueur
- Poubelle avec couvercle et sac plastique intérieur
- Essuies mains à usage unique
- Savon antiseptique

ii. Les tubes utilisés

Les laboratoires utilisent des tubes sous vide, à usage unique, en plastique ou en verre.

Les tubes sont choisis en fonction des analyses prescrites, en fonction de l'âge du patient et selon des tables de préconisation en vigueur dans le laboratoire.

La date de péremption des tubes est vérifiée avant l'acte de prélèvement.

iii. Avant le prélèvement

- Le personnel du Centre Hospitalier de Luxembourg réalisant le prélèvement **récupère la (les) ordonnance(s) ainsi que les étiquettes barre-codées du patient** sur le desk de réception et **appelle celui-ci en l'identifiant par son numéro reçu lors de l'encodage.**
- **Une fois le patient installé dans la salle de ponction dans le fauteuil de prélèvement ou position couchée, la personne qui prélève doit s'assurer de l'identité du patient via les questions ouvertes : "nom ?", "prénom ?" et "date de naissance ?" obligatoirement.**

- Le préleveur doit vérifier que les étiquettes présentes correspondent aux analyses demandées et peut ensuite préparer les tubes dont il a besoin.

Remarque :

Sur chaque étiquette délivrée à la personne assurant la prise de sang, on retrouve l'indication de la couleur du bouchon, le type de matériel (sérum, EDTA,...) ainsi que le volume du tube.

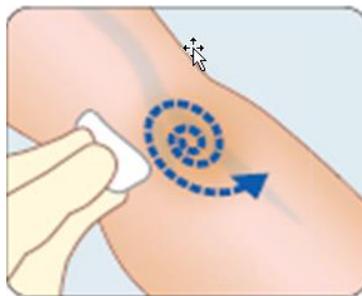
- **Pose du garrot à 10 cm environ au-dessus du site de ponction et sans trop serrer (un garrot en place plus de 1 minute peut perturber les résultats de certaines analyses).**
- Le personnel assurant la ponction doit se laver ou désinfecter les mains avant la recherche du site de ponction de chaque nouveau patient
- Repérer la veine (pli du coude, avant-bras, dos de la main), en mettant obligatoirement des gants. Demander au patient de tendre son bras en position déclive en le faisant reposer sur l'accoudoir et de serrer le poing. Pratiquer un examen visuel et une palpation pour mettre en évidence les spécifications de la veine (situation, parcours, souplesse, élasticité et calibre).
Voir procédure institutionnelle : [Ponction veineuse HYG.2.2.5](#)

Remarque : en cas de difficulté, masser le bras en remontant du poignet vers le pli du coude.

iv. Désinfection du site de ponction

Désinfection du site de ponction avec l'antiseptique (voir sous "i. préparation du matériel") :

1. Nettoyer le site de ponction avec un mouvement circulaire depuis le centre vers la périphérie



2. Laisser sécher l'antiseptique
3. Après désinfection, éviter de toucher le site de ponction.

Remarque : ne pas utiliser d'antiseptique à base d'alcool si une alcoolémie est demandée.

v. La ponction

- Oter le protecteur de l'aiguille
- Tendre la veine
- Introduire l'aiguille, biseau vers le haut, en suivant l'axe de la veine
- Introduire les tubes dans l'ordre recommandé et homogénéiser doucement les prélèvements au fur et à mesure, voir § c. **Ordre des tubes de prélèvement**

Homogénéisation :

✓ **Tube citrate (bouchon bleu clair) : 3 à 4 retournements**

- ✓ Tube sérum (bouchon jaune ou rouge) : 5 à 6 retournements
- ✓ Tube héparine (bouchon vert) : 8 à 10 retournements
- ✓ Tube EDTA (bouchon mauve) : 8 à 10 retournements
- ✓ Tube fluoré (bouchon gris) : 8 à 10 retournements

Remarque : Desserrer le garrot après le remplissage du premier tube (maximum 1 minute de garrot serré). Resserrer en cas de besoin.

- Lorsque le dernier tube est prélevé et homogénéisé, retirer avec précaution l'aiguille en ayant préalablement vérifié que le garrot est desserré.
- Comprimer le point de ponction à l'aide d'une compresse et vérifier l'arrêt du saignement
- Eliminer l'aiguille dans un container conforme à la législation en vigueur
- Poser un sparadrap avec une compresse après vérification de la coagulation du point de ponction

vi. Etiquetage des tubes de sang ou collecte des urines/selles

L'étiquetage des tubes contenant les échantillons biologiques doit être réalisé immédiatement après le prélèvement et avant le départ du patient par la personne qui a réalisé la prise de sang ou réceptionné l'urine/les selles.

Une vérification doit être faite entre l'identité du patient et le nom se trouvant sur l'étiquette.

L'étiquette doit mentionner le nom, prénom, date de naissance ou matricule du patient ainsi que son numéro de dossier.

De plus, le préleveur doit coller sur sa feuille de recensement des patients l'étiquette « Id préleveur » et la remettre au personnel des laboratoires pour permettre par la suite l'identification de la personne ayant réalisé les prélèvements.

c. Ordre des tubes de prélèvement

Disposer les tubes à portée de main en respectant l'ordre suivant pour la prise (voir [AN-PREL-014](#))

Ordre de prélèvement Recommandations CLSI (NCCLS), Déc. 2007, Doc. H3-A6 et GHT 2007 (www.gelt.org)

AVEC UNE AIGUILLE (ponction franche)



AVEC UNE UNITÉ A AILETTES

• Avec hémoculture



• Sans hémoculture



• Veiller au bon remplissage des tubes.

• Il est recommandé d'homogénéiser le tube dès le retrait du corps de prélèvement, par plusieurs retournements lents.

• Identifier les tubes.

• Veiller à respecter les conditions recommandées de prélèvement et de transport.



Lors d'un prélèvement avec une unité à ailette (butterfly), si un tube de citrate de sodium (coagulation, bouchon bleu clair) est à prélever, amorcer la tubulure par un premier tube citrate qui sera jeté.

Remplir les tubes complètement : ne pas retirer avant la fin de l'écoulement du sang.

Ceci est d'autant plus important, sans dérogation possible, pour les tubes à hémostase (coagulation, bouchon bleu ciel) où le non respect de cette consigne fausse la proportion sang/citrate et donne des résultats incohérents.

d. Incidents possibles

i. **Malaise** : causé par l'hypoglycémie, le stress ou un malaise vagal

Conduite à tenir : allonger le patient, lui lever les jambes, le faire respirer à fond, proposer une solution de dextrose, **attendre que le patient revienne complètement à lui et ne le laisser partir que lorsqu'il se sent bien.**

ii. **Hématome** : causé par un garrot trop serré, des veines difficiles, un mauvais geste du patient, une compression trop faible après la ponction

Conduite à tenir : appliquer pansement + alcool, éventuellement une compresse d'arnica ou pommade Lasonyl (facultatif), rassurer le patient

e. Aide médicale lors de malaise sévère

Contactez le 2345 (adulte), le 8642 (enfant) et 789 (Clinique d'Eich) en avertissant préalablement le chef de département médical ou son suppléant.

5. Déroulement de l'acte de prélèvement au niveau des unités de soins

a. Cheminement administratif du patient

Un séjour doit être créé dans SAP/R3 pour chaque patient hospitalisé ou en visite/consultation ambulatoire avant de procéder à un prélèvement d'échantillon biologique.

Remarque : aucune demande d'analyse ne peut être introduite dans GLIMS tant qu'un séjour/consultation n'est pas associé(e) au patient.

b. Prélèvement sanguin

Le matériel disponible au Centre Hospitalier est décrit dans le chapitre **25. Matériel**. Ce document est aussi accessible sur l'Intranet (« Choisir un service »/ »Laboratoire »/ « point 8 Matériel de prélèvement »).

i. Préparation du matériel

- Plateau nettoyé/désinfecté et containers pour aiguilles usagées conforme à la législation en vigueur
- Aiguilles de ponction
En fonction du capital veineux du patient, on utilisera : aiguille à prélèvement multiple, unité de prélèvement à ailette, aiguille et seringue, aiguille avec ou sans tubulure
- Un corps de pompe ou tulipe pour prélèvement sous vide
- Tubes de prélèvement (**en double** pour prévenir tout problème lors de la ponction)
- Gants à usage unique
- Garrot
- Compresses stériles
- Sparadrap
- Antiseptique en solution alcoolique (sauf si demande du taux d'alcoolémie)
- Solution hydroalcoolique pour la désinfection des mains
- Protection lit

ii. Les tubes utilisés

Les laboratoires utilisent des tubes sous vide, à usage unique.

Les tubes sont choisis en fonction des analyses prescrites, en fonction de l'âge du patient et selon des tables de préconisation en vigueur dans le laboratoire.

La date de péremption des tubes est vérifiée avant l'acte de prélèvement.

iii. Avant le prélèvement

La personne réalisant le prélèvement :

- récupère la (les) ordonnance(s) ainsi que les étiquettes du patient.
- **la personne qui prélève doit s'assurer de l'identité du patient via les questions ouvertes : "nom ?", "prénom ?" et "date de naissance ?" obligatoirement.**

Remarque : Si le patient se trouve dans l'impossibilité de s'identifier, l'identification se fait à l'aide du bracelet.

- Informe le patient sur la ponction
- **Pose le garrot à 10 cm environ au-dessus du site de ponction et sans trop serrer (un garrot en place plus de 1 minute peut perturber les résultats de certaines analyses)**
- se désinfecte les mains avant la recherche du site de ponction
- repère la veine (pli du coude, avant-bras, dos de la main), en mettant obligatoirement des gants.
Voir procédure institutionnelle : [Ponction veineuse HYG.2.2.5](#)
- pratique un examen visuel et une palpation pour mettre en évidence les spécifications de la veine (situation, parcours, souplesse, élasticité et calibre).
Remarque : en cas de difficulté, masser le bras en remontant du poignet vers le pli du coude.

iv. Désinfection du site de ponction

Désinfection du site de ponction avec l'antiseptique (voir sous "i. préparation du matériel") :

1. Nettoyer le site de ponction avec un mouvement circulaire depuis le centre vers la périphérie



2. Laisser sécher l'antiseptique
3. Après désinfection, éviter de toucher le site de ponction.

Remarque : ne pas utiliser d'antiseptique à base d'alcool si une alcoolémie est demandée

v. La ponction

- Oter le protecteur de l'aiguille
- Désinfection des extrémités des doigts gantés
- Tendre la veine et l'immobiliser
- Introduire l'aiguille, biseau vers le haut, en suivant l'axe de la veine

- Introduire les tubes dans l'ordre recommandé et homogénéiser doucement les prélèvements au fur et à mesure; voir § c. **Ordre des tubes de prélèvement**

Homogénéisation :

- ✓ Tube citrate (bouchon bleu clair) : 3 à 4 retournements
- ✓ Tube sérum (bouchon jaune ou rouge) : 5 à 6 retournements
- ✓ Tube héparine (bouchon vert) : 8 à 10 retournements
- ✓ Tube EDTA (bouchon mauve) : 8 à 10 retournements
- ✓ Tube fluoré (bouchon gris) : 8 à 10 retournements

Remarque : Desserrer le garrot après le remplissage du premier tube (maximum 1 minute de garrot serré). Resserrer en cas de besoin.

- Lorsque le dernier tube est prélevé et homogénéisé, retirer avec précaution l'aiguille en ayant préalablement vérifié que le garrot est desserré.
- Comprimer le point de ponction à l'aide d'une compresse stérile et vérifier l'arrêt du saignement

Remarque : Ne pas plier l'avant bras du patient après la prise de sang

- Eliminer l'aiguille dans un container conforme à la législation en vigueur
- Poser un sparadrap après vérification de la coagulation du point de ponction.
- Oter les gants et désinfection des mains

vi. Etiquetage des tubes de sang ou collecte d'urines/selles

L'étiquetage des tubes contenant les échantillons biologiques doit être réalisé immédiatement après le prélèvement.

L'étiquetage préalablement au prélèvement est strictement interdit pour des raisons d'identitovigilance.

Une vérification doit être faite entre l'identité du patient et le nom se trouvant sur l'étiquette.

L'étiquette doit mentionner le nom, prénom, date de naissance ou matricule du patient ainsi que son numéro IPP.

vii. Rangement des prélèvements - sécurité pendant le transport

Une fois les prélèvements étiquetés, **par patient**, ils sont rangés dans une pochette kangourou munie du pictogramme "BIOHAZARD" renfermant un papier absorbant en respectant les consignes suivantes :

- Insérer le prélèvement dans la grande poche
- Enlever le protecteur de l'adhésif et appuyer fortement pour sceller le sachet
- Insérer l'ordonnance dans la poche extérieure

Les demandes urgentes sont placées dans un sachet de couleur rouge tandis que les autres sont mises dans un de couleur transparente.

Dès le moment où ils sont dans les pochettes, les prélèvements sont soit envoyés via le télétube ou stockés à l'endroit prévu dans l'unité de soin avant d'être emporté par le brancardage.

c. Ordre des tubes de prélèvement

Disposer les tubes à portée de main en respectant l'ordre suivant pour la prise :



Lors d'un prélèvement avec une unité à ailette (butterfly), si un tube de citrate de sodium (coagulation, bouchon bleu clair) est à prélever, amorcer la tubulure par un premier tube citrate qui sera jeté.

Remplir les tubes complètement : ne pas retirer avant la fin de l'écoulement du sang.

Ceci est d'autant plus important, sans dérogation possible, pour les tubes à hémostase (coagulation, bouchon bleu ciel) où le non respect de cette consigne fausse la proportion sang/citrate et donne des résultats incohérents.

6. Facteurs ayant une incidence sur la qualité du prélèvement et/ou des résultats d'analyse influençant les résultats

Listes non exhaustives.

a. Facteurs physiologiques

- i. Sexe, femme en âge de procréer, ménopause, grossesse
- ii. Age
- iii. Repos, position debout/couchée
- iv. Habitudes alimentaires, cigarettes, alcool, caféine
- v. Habitudes de vie (activités sportives,...)
- vi. Heure du prélèvement, variations saisonnières
- vii. Lieu d'habitation (altitude,...)
- viii. Voyages, déplacements

b. Facteurs thérapeutiques médicamenteux

- i. Acide acétyl salicylique (Aspirine, Aspégic,...)
- ii. AVK (Anti-Vitamine K)
- iii. Hormones (thyroïdiennes, sexuelles,...)
- iv. Antiépileptiques

c. Facteurs liés au prélèvement

- i. L'excès du temps de pose du garrot (> 2 minutes)
- ii. Le non-respect du ratio sang/anticoagulant (tube citraté)
- iii. Prélèvement réalisé sur anticoagulant inadéquat
- iv. Contamination par thromboplastine tissulaire
- v. Hémolyse : agitation vigoureuse des tubes prohibée
- vi. L'ordre de prélèvement des tubes
- vii. Ne pas respecter le délai de coagulation avant centrifugation

d. Etat de jeûne

L'état de jeûne favorise **la bonne exécution technique** des analyses et une **interprétation pertinente des résultats**.

Le jeûne assure une meilleure qualité du sérum et/ou du plasma.

Les sérums hyperlipémiques, troubles ou visqueux, peuvent poser des problèmes de pipetage ou d'interprétation.

En règle générale, une période de jeûne strict d'au moins 12 heures est recommandée avant toute 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 paramètres moins influencés par le jeûne, une période de jeûne de 4 heures est néanmoins favorable

Médicaments : Selon le cas, on dose le taux résiduel du médicament ou alors son effet sur d'autres paramètres. Il faut se tenir aux recommandations du médecin pour prendre le médicament ou non avant la prise de sang.

Pour les prélèvements urgents, le laboratoire effectuera les analyses même si les conditions idéales ne sont pas complètement respectées : les résultats obtenus seront interprétés en conséquence

7. Analyses de biologie délocalisée

a. Prélèvement capillaire

- i. Porter des gants de protection
- ii. Aseptiser le bout du doigt du patient à l'aide d'alcool et bien laisser sécher
- iii. A l'aide d'une lancette, piquer le bout du doigt du patient
- iv. Remplir le capillaire en récoltant les gouttes de sang qui s'écoulent suite à la pression exercée sur le doigt du patient (éviter les bulles d'air)
- v. Agiter délicatement le capillaire afin de mettre le sang en contact avec l'héparine
- vi. Appliquer un coton sur le doigt

Remarque 1 : un autre site de prélèvement peut éventuellement être plus adéquat suivant les circonstances : le lobe de l'oreille, le talon par exemple

Remarque 2 : pour le contrôle glycémique, l'usage d'un antiseptique cutané, quel qu'il soit, sur la zone à piquer peut fausser les résultats par réaction enzymatique avec le réactif de la bandelette (glucose dioxyréductase). Ceci est donc contre indiqué.

Remarque 3 : pour les contrôles Quick-INR sur Coagu-Chek®, l'usage d'un antiseptique cutané à base d'alcool a une interférence sur les résultats. Ceci est donc strictement contre indiqué.

b. Prélèvement artériel

Le prélèvement artériel sera effectué par le médecin

c. Prélèvement veineux

Le prélèvement peut se faire sur une seringue héparinée ou un tube héparine (bouchon vert)

8. Prélèvement capillaire (micro-tube)

- ❖ Préleveur : réaliser un lavage simple des mains ou une asepsie par friction avec un produit hydro alcoolique.
- ❖ Mettre des gants à usage unique.
- ❖ *Pour le patient autonome* : il se lave les mains avec un savon doux liquide, les rince à l'eau chaude puis les sèche minutieusement.

Pour le patient non autonome : nettoyer le site de ponction à l'aide d'une compresse imbibée d'eau chaude et de savon doux, puis rincer et sécher.

Pour un nouveau-né : du fait d'un risque infectieux supérieur, il faut nettoyer le talon en utilisant des compresses stériles, du savon liquide, de l'eau ou du sérum physiologique stérile, rincer et sécher avec une compresse stérile.

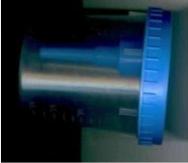
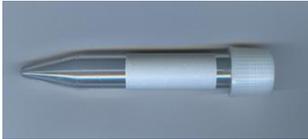
- ❖ Appliquer l'autopiqueur sur le site choisi et piquer.
- ❖ Eliminer l'autopiqueur dans un collecteur adapté sans dépose intermédiaire.
- ❖ Récolter les gouttes de sang dans le dispositif (tube) adéquat.
- ❖ Après le soin, appliquer un tampon propre sur le point de ponction en effectuant une légère compression. Chez le nouveau-né, confectionner une petite botte avec une compresse stérile.

9. Consignes en cas d'accident d'exposition au sang

[Voir procédure institutionnelle HYG.1.7](#)

10. Prélèvement urinaire au niveau des services externes aux laboratoires

a. Matériel nécessaire et analyses dépendantes

<i>Flacons</i>		<i>Analyses Effectuées</i>
<i>Réceptacles pour prélèvements</i>	<i>Réceptacles pour le laboratoire (avec étiquette du patient)</i>	
 Echantillon urinaire Réf. SAP : 1.011.812  Echantillon urinaire pédiatrique Réf SAP : 0.008.739 +  Réf. SAP : 1.021.672	 Réf SAP : 1.040.051	Analyses urinaires : Protéines, Créatinine, Urée, Sodium, Potassium, Chlore, Acide urique, Calcium, Phosphore, Glucose, Profil protéique urinaire, Protéines de Bence Jones, Screening toxicologique urinaire
		Examen cytochimique
		Tube supplémentaire si Ag bactériens solubles (<i>L. pneumophila</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. Agalactiae</i>)
	 Réf SAP : 1.040.052	Tube supplémentaire si <i>N. gonorrhoeae</i> (PCR) et <i>C. trachomatis</i> (PCR) Bactériologie courante, <i>M. hominis</i> et <i>U. urealyticum</i> , Mycologie
 Collecte urinaire de 24 heures Réf. SAP : 1.007.803	 Réf SAP : 1.040.051	Analyses urinaires : Renseigner volume et durée sur feuille de demande et le volume sur le récipient. Protéines, Créatinine, Urée, Sodium, Potassium, Chlore, Acide urique, Calcium, Phosphore, Glucose, Profil protéique urinaire, Protéines de Bence Jones
 Collecte urinaire de 24 heures Réf. SAP : 1.007.803	 Réf SAP : 1.040.051	Exploration porphyrie. Renseigner volume et durée sur feuille de demande et le volume sur le récipient. Tube enrobé d'une feuille d'aluminium !

		<p>VMA, Catécholamines. Renseigner volume et durée sur feuille de demande et le volume sur le récipient.</p>
<p>Collecte urinaire de 24 heures contenant de l'acide à prendre au secrétariat du laboratoire</p>	<p>Réf SAP : 1.040.051</p>	

b. Les prélèvements urinaires

i. Considération générale

- Utiliser les pots stériles pour la récolte
- Ne jamais récolter les urines dans une panne ou un urinal
- Ne jamais demander une culture sur des urines de 24heures
- Nettoyer l'orifice urétral au savon avant tout prélèvement
- Transporter l'urine dans les 2 heures au laboratoire
- Indiquer les renseignements particuliers sur la feuille de prescription : infection en cours, traitement en cours (ATB, corticothérapie), état immunitaire, type de prélèvement (urine mi-jet, sondage vésicale, urine par ponction...etc...), recherche de pathogènes spécifiques (BK urinaire, Mycoplasmes, Parasites vésicaux, Antigènes solubles urines, etc...)

ii. Technique de prélèvement pour examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

→ Recueil de l'échantillon d'urine



1. Se laver les mains avec soin, puis effectuer une toilette intime.

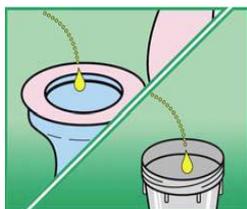


2. Ouvrir le pot de recueil et poser le couvercle avec la canule vers le haut.

Attention !!!



Ne pas soulever l'étiquette



3. Eliminer le premier jet d'urine dans les toilettes puis recueillir l'urine dans le pot.



4. Refermer le pot avec le couvercle bleu et le remettre à l'infirmière ou au laboratoire.



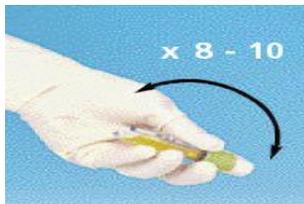
Ne pas toucher la canule du couvercle.

→ *Transfert de l'échantillon dans les tubes de prélèvement*

- Dans le cas d'un prélèvement d'un tube urine de sédiment et de bactériologie, toujours prélevé: 1) le tube pour analyse de cytochimie  puis 2) le tube de bactériologie 
- Pour assurer une bonne conservation de l'échantillon d'urine, il est important de le transférer dans le tube de bactériologie dans les 15 minutes qui suivent le recueil.



Retirer la bandelette adhésive puis prélever l'urine en insérant le tube dans le Holder.



Homogénéiser l'échantillon.



Etiqueter et envoyer les tubes rapidement au laboratoire.

Voir Annexe : [AN-PREL-025](#)

1. ECBU : nourrisson et enfant de moins de 2 ans

Chez les enfants dont une récolte par miction spontanée est impossible, la récolte des urines se fait grâce au collecteur d'urine spécifique qui s'applique sur la peau. Afin de garantir la qualité du prélèvement, ce dispositif doit être posé par le personnel soignant.

- Désinfecter soigneusement de la vulve, du méat et du périnée chez la fille ou du gland et du prépuce chez le garçon
- Sortir le collecteur de son emballage et retirer la protection qui recouvre la partie adhésive (en faisant attention de ne pas toucher l'intérieur de la poche)
- Appliquer sur la zone génitale en massant pour garantir une bonne adhérence. Ne pas dépasser le temps de pose de **1 heure**. Passé ce délai, si l'enfant n'a pas uriné, le dispositif est éliminé et remplacé par un sac collecteur neuf
- Lorsque l'enfant a uriné, retirer délicatement le collecteur puis transférer l'urine dans le pot stérile de prélèvement puis dans le tube de cytochimie et ou de bactériologie

Voir Annexe : [AN-PREL-030](#)

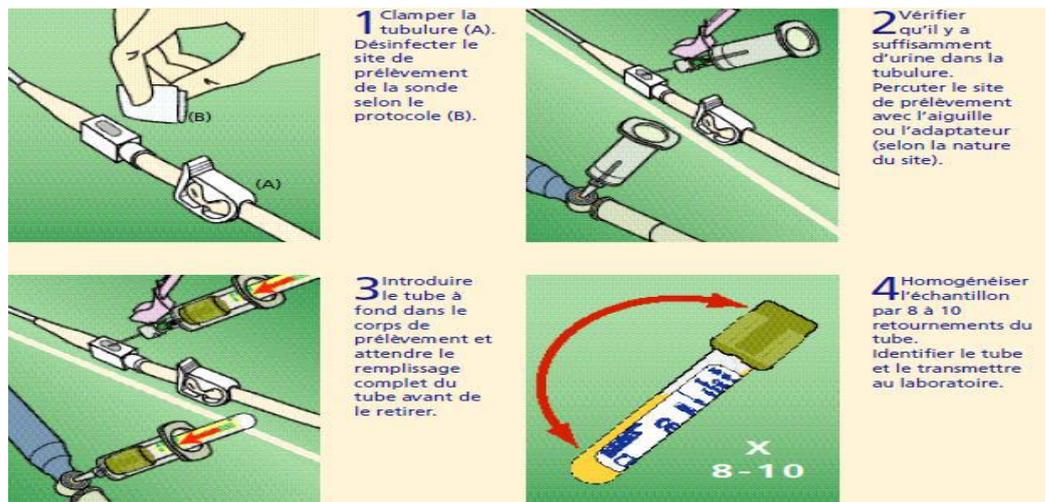
2. ECBU : sondage vésical « minute »

Dans ce cas, le sondage n'est réalisé que dans le but de récolter des urines, la sonde étant retirée immédiatement après. Ce prélèvement est à réaliser par le personnel soignant.

- Ce type de prélèvement se réalise idéalement sur une vessie pleine.
- Nettoyage et désinfection soigneuse de l'orifice urétrale
- Introduire la sonde jusqu'à la vessie.
- Rejeter les 15- 30ml d'urine initiale.
- Récolter ensuite les urines dans un pot à urine stérile et procéder au transfert dans les tubes de cytochimie et ou de bactériologie

3. ECBU : patient sondé à demeure

- Le recueil se fera par ponction après désinfection sur le site spécifique du dispositif de sonde.
- Ponctionner avec une seringue et une aiguille à l'endroit de récolte puis transférer l'urine prélevée dans les tubes de cytochimie et ou de bactériologie.



Remarques :

Ne pas déconnecter la sonde pour prélever.

Ne pas piquer dans le sac à urine.

Ne pas envoyer les embouts de sondes urinaires pour analyses urinaires

4. ECBU : ponction vésicale

Le prélèvement par ponction vésicale sus-pubienne est un geste spécialisé. Après désinfection soigneuse de la zone de ponction, l'urine est ponctionnée directement dans la vessie. L'urine ainsi prélevée doit être immédiatement transférée dans les tubes adéquats et acheminée rapidement au laboratoire.

5. ECBU : cathétérisme urétéral

Le prélèvement par cathétérisme urétéral est un geste spécialisé. Il permet l'obtention d'urine provenant séparément du rein droit ou du rein gauche. L'urine ainsi prélevée doit être immédiatement transférée dans les tubes adéquats et acheminée rapidement au laboratoire.

6. Prélèvement urinaire : circonstances particulières

a. Recherche de mycobactéries urinaires (BK)

Recueillir la totalité des urines de la nuit (après restriction hydrique sur la nuit) pendant 3 jours consécutifs.

Transmettre au laboratoire environ 30 ml d'urine dans un pot stérile (1 pot d'urine par jour et par prélèvement).

b. Recherche de mycoplasmes urinaires

Echantillon recommandé : Urines prélevées dans un pot stérile ou dans le tube sans additif : tube pour examen cytochimique (tube à bouchon beige)

c. Recherche de Chlamydia / N. gonorrhoeae par PCR

Les antiseptiques peuvent perturber la réaction PCR, ils doivent être proscrits dans ce cas.

Le lavage des mains et la toilette locale doivent être soigneux mais ne sont réalisés **qu'à l'eau uniquement**.

Echantillon recommandé : Urines 1^{er} jet dans un pot stérile ou dans le tube sans additif : tube pour examen cytochimique (tube à bouchon beige).

Remarque : Si un examen ECBU est demandé concomitamment ; réaliser le recueil pour celui-ci en milieu de jet et numéroter les tubes :

i. premier jet « 1 » pour la PCR Chlamydia /N. gonorrhoeae

ii. milieu jet « 2 » pour ECBU

d. Recherche de parasites vésicaux

Recueillir la totalité des urines du matin dans un pot stérile de préférence après un effort modéré (marche à pied, montée des escaliers,...).

Transmettre au laboratoire environ 30 ml d'urine dans un pot stérile (1 pot d'urine par jour et par prélèvement).

e. Recherche de Legionella pneumophila (antigène soluble du sérotype 1 et 6) et du Pneumocoque (antigène soluble)

Echantillon recommandé : Urines prélevées sur pot stérile ou sur tube sans additif : tube pour examen cytochimique (tube à bouchon beige)

Voir Annexe [AN-PREL-033](#)

7. Transport et conservation

Tout échantillons d'urine prélevés doit être acheminé au laboratoire à température ambiante endéans les 2 heures qui suivent le prélèvement.

En cas d'acheminement différé, la durée maximale de conservation est de 24 heures à une température de 2 à 8° C.

iii. Collecte des urines de 24 heures

1. Collecte urinaire pour analyses chimique de routine

Afin de garantir des résultats exploitables il faut collecter toutes les urines excrétées pendant la période des 24 heures. Attention si le patient doit aller à « selle » - penser à uriner avant et de collecter cet échantillon !

Préparatifs à faire par le patient / par le personnel soignant :

Recueillir les urines de 24 heures selon la procédure suivante :

- vider la vessie le matin, jeter cette urine mais noter l'heure
- collecter chaque miction urinaire dans le bidon de collecte
- garder le bidon de collecte à froid au frigo (4° C) pendant toute la durée de la collecte
- le matin suivant à l'heure notée le jour précédent vider la vessie une dernière fois dans le bidon de collecte
- bien mélanger l'urine dans le bidon de collecte
- pour les patients ambulants : acheminer le bidon de collecte rapidement au laboratoire

Remarque pour les patients hospitalisés : ne pas acheminer le bidon de collecte au laboratoire mais prélever un ou plusieurs tubes à bouchon beige (quantité nécessaire varie en fonction des analyses – vérifier dans le catalogue des analyses) à faire parvenir rapidement au laboratoire. Indiquer le volume de collecte des urines de 24 h. sur le(s) tubes et la feuille de prescription

- le bidon ou l'échantillon doit indiquer le nom du patient, sa date de naissance ainsi que la date de la collecte et être accompagné de la feuille de prescription du médecin traitant

Voir Annexe [AN-PREL-023](#)

2. Collecte urinaire acidifiée pour les dosages suivants : catécholamines + VMA, 5-HIAA, acide oxalique et acide homovanilique

Afin de garantir des résultats exploitables il faut collecter toutes les urines excrétées pendant la période des 24 heures. Attention si le patient doit aller à « selle » - penser à uriner avant et de collecter cet échantillon !

Matériel mis à disposition du patient par le laboratoire du CHL:

- petit bidon de transfert de 1 litre
- grand bidon de collecte de 2 litre renfermant 10 ml de HCl concentré : **ATTENTION, présence d'acide – ne pas uriner directement dans ce grand bidon de collecte !** (disponible au secrétariat du laboratoire 1^{er} étage)

Préparatifs à faire par le patient / par le personnel soignant:

Régime à respecter **48 h.** avant la collecte des urines :

- pour dosage des catécholamines + VMA : pas de banane, agrumes, chocolat, vanille, café et thé
- pour le dosage du 5-HIAA et de l'acide homovanilique : pas de banane, tomate, chocolat, prune, fruits secs, kiwi, agrumes, ananas, avocat et mollusques
- pour le dosage de l'acide oxalique : pas de rhubarbe, tomate, asperge, épinard, concombre, chocolat, café, agrumes

Recueillir les urines de 24 heures selon la procédure suivante :

- vider la vessie le matin, jeter cette urine mais noter l'heure
- collecter chaque miction urinaire dans le petit bidon de transfert, puis transvaser la dans le grand bidon de collecte
- garder le bidon de collecte à froid au frigo (4° C) pendant toute la durée de la collecte
- le matin suivant à l'heure notée le jour précédent vider la vessie une dernière fois dans le petit bidon de transfert et transvaser dans le grand bidon de collecte
- bien mélanger l'urine dans le grand bidon de collecte
- pour les patients ambulants : acheminer le bidon de collecte rapidement au laboratoire

voir Annexe [AN-PREL-024](#)

Remarque pour les patients hospitalisés : ne pas acheminer le bidon de collecte au laboratoire mais prélever à l'aide d'un transfer straw (ref. 1.021.672) 2 tubes à bouchon beige (ref. 1.040.051) (à l'exception de la demande d'acide oxalique urinaire pour laquelle il faut 5 tubes à bouchon beige) qui sont à faire parvenir rapidement au laboratoire. Indiquer le volume de collecte des urines de 24 h. sur les tubes et la feuille de prescription

Le bidon ou l'échantillon doit indiquer le nom du patient, sa date de naissance ainsi que la date de la collecte et être accompagné de la feuille de prescription du médecin traitant

d. Préparation du prélèvement avant envoi aux laboratoires

- Prendre le flacon du patient (bidon de collecte sur 24 heures ou échantillon) et s'assurer d'une fermeture correcte et hermétique.
- Homogénéiser le prélèvement en le retournant plusieurs fois
- Retirer l'étiquette se trouvant sur le bouchon du récipient (Attention : Zone stérile et présence de matériel piquant !)
- Dans le cas de bidon de collecte sur 24 heures, retourner le bidon.
- Dans le cas d'un flacon adapté à la collecte d'échantillon, s'assurer qu'il y a assez d'urine (la tigette du bouchon doit être immergée dans l'échantillon urinaire)
- Prendre le tube destiné au laboratoire et l'insérer dans l'ouverture du capuchon (principe identique au Venoject)
- Etiqueter le(s) tube(s) destinés aux différents laboratoires
- Dans le cas d'une collecte urinaire, renseigner volume et durée sur feuille de demande et le volume sur le(s) tube(s) destinés aux différents laboratoires.

e. Que faire en cas de présence d'un échantillon urinaire pédiatrique ou d'un flacon non-adapté au système Venoject ?

- Prendre le flacon du patient
- Homogénéiser le prélèvement
- Ouvrir le flacon
- Immerger l'accessoire blanc suivant 
- Prendre le tube destiné au laboratoire et l'insérer dans l'accessoire blanc (même principe que Venoject)
- Etiqueter le(s) tube(s) destinés aux différents laboratoires
- Dans le cas d'une collecte urinaire, renseigner volume et durée sur feuille de demande et le volume sur le(s) tube(s) destinés aux différents laboratoires.

f. Envoi vers le Centre de Tri des laboratoires

- Déposer dans une pochette « kangourou » le prélèvement ainsi que l'**ordonnance** étiquetés au nom du patient
- Faire parvenir les différents prélèvements au Centre de Tri des laboratoires qui prendra en charge l'encodage et le « dispatching » des prélèvements vers les différents laboratoires
- **Ne pas acheminer au laboratoire les bidons ni les flacons ayant servis à la collecte urinaire !!!**
- Eliminer les urines dans les bacs bleus de 60 litres (Réf SAP : 0.002.785)

11. Les prélèvements du tractus uro-génital et recherches associées

a. Considération générale

Les prélèvements du tractus uro-génital sont réalisés dans le but détecter les germes à transmission sexuelle (Gonocoques, Chlamydia trachomatis, virus de l'herpes simplex,...) ou autres germes banaux (streptocoques du groupes B, germes anaérobies,...)

Toutes les observations (aspect, une odeur particulière,...) doivent être mentionnées et chaque échantillon prélevé doit être correctement identifié.

b. Le matériel de prélèvement

Le type de l'écouvillon et la nature du milieu de transport dépendent des germes recherchés en particulier pour la recherche de *Chlamydiae*, de *Mycoplasme*, de virus et de parasites. Compte tenu d'un nombre important de germes recherchés, il est crucial de prélever suffisamment d'échantillons :

- 1 frottis avec milieu de transport au charbon pour la réalisation de l'examen direct et la recherche de germes aero-anaerobies courants, de levures et de parasites.

Prélèvement Cervico-vaginal

Prélèvement urétral



Image 1
Frottis embout noir avec milieu de transport au charbon (tige normale)



Image 2
Frottis embout orange avec milieu de transport au charbon (tige fine)

- 1 frottis sur milieu de transport approprié pour la recherche par PCR du Gonocoque et de Chlamydia trachomatis



Image 3 : Kit de prélèvement pour PCR Chlamydia et Gonocoques

- 1 frottis embout noire ou embout orange qui une fois le prélèvement effectué sera immédiatement déchargé dans le milieu de transport et de conservation spéciale en cas de recherche de Mycoplasma et Uréaplasma



Image 4 : Milieu de conservation et de transport pour recherche de Mycoplasma et Uréaplasma. Milieu conservé à 4 °C avant utilisation

- Kit de prélèvement pour la recherche spécifique du Streptocoque B



Image 5

c. Technique de prélèvement

i. Femme

1. Vulve : ulcération cutanéomuqueuse

Nettoyer la lésion avec du sérum physiologique. Si nécessaire enlever la croûte qui recouvre la lésion. Gratter délicatement la lésion jusqu'à l'apparition de liquide séreux. Enlever le liquide et les débris au moyen d'une compresse stérile. Presser la base de la lésion afin de faire ressortir du liquide de la lésion. Prélever ce liquide avec le(s) frottis adéquat(s) en fonction des germes recherchés.

En cas de lésion(s) non suintante(s), imbiber un ou deux écouvillon(s) avec quelques gouttes de sérum physiologique stérile. Prélever en frottant les lésions inflammatoires.

Remettre les écouvillons dans leur milieu de transport avant de les acheminer au laboratoire.

La recherche d'herpes simplex se fait par méthode PCR. Cette recherche doit se faire en présence de lésions cutanées douloureuses de type vésiculaire. Gratter le plancher de la lésion à l'aide de l'écouvillon sec du kit dédié (image 3) afin de recueillir des cellules, puis tremper et agiter l'écouvillon 5 secondes dans le milieu de transport contenu dans le tube. Casser l'écouvillon au point de rupture, puis refermer le tube.

2. Urètre

Ce prélèvement doit se faire si possible au moins une heure après la dernière miction et toujours avant le premier jet d'urine en recueillant le pus ou l'écoulement au niveau du méat urinaire à l'aide de l'écouvillon *frottis fin embout orange* (image 2) pour la recherche de germe courants et de levures.

Pour la recherche de ***Chlamydia trachomatis*** se fait par méthode PCR. Il est recommandé d'utiliser le kit spécial (image 3). Insérer l'écouvillon à travers l'orifice méatique à 2 ou 3 cm dans le canal urétral, puis retirer lentement en lui imprimant un mouvement de rotation. Tremper et agiter l'écouvillon 5 secondes dans le milieu de transport contenu dans le tube. Casser l'écouvillon au point de rupture, puis refermer le tube.

3. Prélèvement vaginal et d'endocol

Après la mise en place du spéculum de préférence sans lubrifiant, le prélèvement se fait à l'aide d'un frottis embout noir (image 1) au niveau de l'endocol et de la paroi vaginale en insistant au niveau du cul de sac

vaginal postérieur. Ce frottis servira à rechercher les germes courants, les levures et les parasites.

Le dépistage de fin de grossesse du streptocoque B se fait sur **frottis à embout noir** (image 1) au niveau vaginal et/ou rectal.

Écouvillonner l'ensemble de la cavité vaginale incluant absolument le balayage des parois de la moitié inférieure du vagin jusqu'au vestibule et la vulve, remettre l'écouvillon dans un milieu de transport (image 7).

Pour un prélèvement rectal, écouvillonner le **1/3 extérieur du canal anal**, puis remettre l'écouvillon dans le milieu de transport (image 7).

Pour la recherche de **Mycoplasma hominis** et **Uréaplasma urealyticum**, il faut au préalable remettre le milieu de transport à température ambiante. Écouvillonner avec un frottis à embout noir le cul de sac vaginal en frottant la muqueuse afin de récupérer le maximum de cellules. Puis décharger cet écouvillon dans le milieu de transport pour mycoplasmes (image 4).

Remarques :

Si une recherche de mycoplasmes est souhaitée en plus de la recherche de germes banaux, il est recommandé de prélever un deuxième frottis qui sera mis dans le milieu de transport pour mycoplasmes.

En cas de recherche de Mycoplasma genitalium, un frottis à embout noir supplémentaire est requis (analyse non effectuée au laboratoire du CHL).

Le prélèvement pour la PCR à la recherche de Chlamydia trachomatis et de Neisseria gonorrhoeae se fait au niveau de l'endocol à l'aide d'un kit de prélèvement spécial (image 3).

Après un nettoyage de la glaire cervicale à l'aide d'un écouvillon sec qui sera jeté, prendre l'écouvillon du kit dédié, l'introduire dans le canal endocervical, effectuer un mouvement de rotation. Retirer l'écouvillon, le tremper et agiter pendant 5 secondes dans le milieu de transport contenu dans le tube. Casser l'écouvillon au point de rupture, puis refermer le tube.

4. Autres prélèvements du tractus génital féminin

a. Glande de Bartholin

Décontaminer la peau à l'aide d'un désinfectant, puis aspirer les sérosités au niveau de l'orifice du conduit.

b. Endomètre

Recueillir l'échantillon avec un dispositif de type "pipelle de Cornier" ou équivalent.

c. Trompe de Fallope

Aspirer le liquide à l'aide d'un cathéter au moment de la césarienne ou de la laparotomie.

ii. Homme

1. Urètre

Procéder au prélèvement au moins 1 heure après la dernière miction.
Pour les germes courants et des levures : introduire un fin écouvillon embout orange (image 2) dans l'urètre, le tourner puis laisser en place 1 à 2 secondes avant de le ressortir et de le remettre dans le tube contenant le milieu de transport.

Pour la recherche des **de Chlamydia trachomatis et de Neisseria gonorrhoeae par PCR**, procéder comme décrit sur le point i.2 paragraphe 2.

2. Frottis anal

Introduire un écouvillon embout noir (image 1) à environ 2 cm du sphincter anal. Tourner l'écouvillon pour obtenir le matériel des cryptes anales.

3. Lésions du pénis : ulcération cutanéomuqueuse

Voir § c. i. 1 : technique de prélèvement des ulcérations cutanéomuqueuse de la vulve

4. Epididyme

Aspirer avec une seringue et une aiguille et transférer le prélèvement dans un tube stérile.

iii. Transport et conservation

Les écouvillons avec milieu de transport sont à acheminer le plus rapidement possible au laboratoire. Leur conservation à température ambiante ne doit pas dépasser 12 heures.

Les milieux de transport pour mycoplasme et les prélèvements pour PCR chlamydia et N. Gonorrhoeae sont à acheminer le plus rapidement possible au laboratoire. Ils peuvent être conservés à température ambiante maximum 24 heures.

12. Les prélèvements des lésions et suppurations cutanées

a. Considération générale

Seul un prélèvement avec un écouvillon associé à un milieu de transport adapté assure une bonne sensibilité pour la recherche de micro-organisme.

Du fait de la diversité des infections cutanées, l'identification précise du type d'infection, sa localisation ainsi que son caractère superficiel ou profond sont requis.

Pour les biopsies cutanées, il est essentiel d'éviter toute dessiccation de l'échantillon, soit en acheminant rapidement au laboratoire, soit en le préservant par ajout de quelques gouttes de sérum physiologique stérile.

b. Le matériel de prélèvement

- Ecouvillons avec milieu de transport universel pour cultures bactériologique aérobie :

	
Image 1 : Milieu de transport universel	Image 2 : Portagerm. Milieu de transport si une recherche spécifique de germes anaérobies est demandée

- Tube stérile

	Image 3 : Tube /flacon stérile dans lequel peuvent biopsies ou un prélèvement à caractère <i>liquide</i> .
---	---

- Seringue avec aiguille fine

c. Technique de prélèvement

Au préalable, une déterision au sérum physiologique de la zone à prélever et éventuellement désinfection des zones proximales sont nécessaires.

i. Prélèvement sur peau saine, lésion non suintante et lésion cutanée superficielle

Prélever un échantillon à l'aide d'écouvillon avec embout blanc (image 1), ou à défaut avec un écouvillon sec imbibé de sérum physiologique stérile.

ii. Prélèvement d'une lésion inflammatoire cutanée : érysipèle, hypodermite

Il faut désinfecter le site avant d'effectuer le prélèvement.

A l'aide d'une seringue et d'une fine aiguille, injecter dans la lésion un peu de sérum physiologique et ré-aspirer le maximum. Aspirer ensuite maximum 1 mL d'eau physiologique dans la seringue pour éviter toute dessiccation et boucher stérilement la seringue ou transférer le prélèvement dans un flacon stérile.

L'autre possibilité est la réalisation d'une biopsie de la lésion qu'il faut placer au fond d'un flacon stérile puis rajouter quelques gouttes de liquide physiologique afin d'éviter la dessiccation de la biopsie

iii. Prélèvement d'une lésion par morsure

Aspirer le liquide à l'aide d'une seringue et le recueillir comme indiqué ci-dessus.

A défaut, après désinfection des zones proximales, pratiquer un écouvillonnage profond sur milieu de transport adéquat notamment pour la recherche de germes anaérobies (portagerm : image 2).

iv. Prélèvement de plaies superficielles (site opératoire)

Prélever l'écoulement de la cicatrice de préférence par aspiration à la seringue, ou pratiquer une biopsie ou une aspiration à la seringue.

Remarque : L'écouvillonnage de la cicatrice est à éviter car souvent colonisée par les germes commençaux cutanés

v. Prélèvement d'ulcération, escarre, lésion cutanée nécrotique

Nettoyer la plaie, éliminer les exsudats, débrider les tissus nécrosés si nécessaire, appliquer l'antiseptique cutané et laisser sécher. Rincer abondamment à l'eau physiologique stérile.

Réaliser une biopsie de la lésion ou cureter le bord actif de la lésion et placer l'échantillon au fond d'un tube stérile puis ajouter 3 à 4 gouttes de sérum physiologique stérile.

Éventuellement, aspirer à l'aiguille fine le liquide inflammatoire produit par la lésion avec du sérum physiologique stérile si la quantité de liquide est faible.

vi. Prélèvement de plaie profonde ou abcès

Après désinfection adéquate de la région, prélever la partie la plus profonde de la lésion en évitant un contact avec les parties cutanées superficielles.

Si le prélèvement est fait en chirurgie, il convient d'envoyer une partie de la paroi de l'abcès pour cultures microbiologiques.

vii. Prélèvements spécifiques

1. Ulcération avec recherche spécifique (Herpes, tréponème, etc) : se référer au chapitre « Prélèvements uro-génitaux »
2. Prélèvement cutanés et de phanères pour examen mycologiques : se référer au chapitre spécifique

viii. Transport et conservation

Le délai de transport pour les prélèvements sur seringue, biopsies ne doit pas dépasser 2 heures à température ambiante.
Les écouvillons avec milieu de transport sont à acheminer le plus rapidement possible au laboratoire. Leur conservation à température ambiante ne doit pas dépasser 12 heures.

13. Les prélèvements de la peau et des phanères pour examen mycologique

a. Considération générale

Les levures et les dermatophytes sont les principaux champignons pathogènes de la peau et des phanères.

Ce type de recherche devra être accompagné d'un maximum de renseignements cliniques : localisation de la lésion, notion de voyage récent en zone tropicale, métier exercé, loisirs (équitation, piscines,...), notion de traitement antifongique (si tel est le cas, il est recommandé, si possible d'arrêter la prise de traitement environ 1 semaine avant un prélèvement cutané et 3 à 4 semaines avant un prélèvement unguéal), type de la mycose et nature du champignon suspecté.

b. Le matériel de prélèvement



c. Technique de prélèvement

i. Prélèvement de la peau glabre

Pour des lésions squameuses, prélever par raclage des squames en périphérie de la lésion à l'aide d'une curète, d'un vaccinostyle ou d'un grattoir et transférer délicatement ces squames dans un flacon stérile.

Pour la mise en évidence d'un *Ptyriasis versicolor*, il est recommandé de réaliser un prélèvement à l'aide d'une cellophane adhésive transparente si les lésions sont sèches, sinon les squames seront recueillies à l'aide d'une curète mousse.

ii. Prélèvement des lésions du cuir chevelu et des zones pilleuses

Examiner les cheveux à l'aide d'une lampe de Wood, puis arracher à l'aide d'une pince à épiler les cheveux fluorescents. Sinon, prélever à la loupe les cheveux cassants à proximité du bulbe.

Prélever les squames et les croutes éventuels par raclage à la curette.

Prélèvement des suppurations par écouvillonnage des lésions inflammatoires suintantes.

iii. Prélèvement des lésions des plis

En l'absence de recherche concomitante de bactéries, les lésions non inflammatoires doivent préalablement être désinfectées à l'alcool afin d'éviter un développement de la flore bactérienne cutanée :

1. Lésion sèche et squameuse : gratter à la curette ou au scalpel les squames en bordure de la lésion.
2. Lésion macérée et suintante : frotter les sérosités successivement à l'aide de minimum deux écouvillons (l'un destiné à l'examen microscopique et l'autre à la culture).
3. Lésion vésiculeuse : percer les vésicules et puis prélever la sérosité à l'aide d'un écouvillon

iv. Prélèvements des lésions unguéales

Au préalable, il faut procéder au lavage des mains ou des pieds au savon suivi d'un rinçage à l'eau et au séchage à l'air.

Couper toute la partie de l'ongle atteint avec des ciseaux stériles, jusqu'à la limite de l'ongle sain.

Prélever les poussières d'ongle en raclant la tablette interne de l'ongle ou les îlots blanchâtres de la surface de l'ongle à l'aide d'un vaccinostyle ou d'une curette stérile.

S'il existe un périonyxis (inflammation du contour de l'ongle), prélever la suppuration par pression de la lésion grâce à un écouvillon.

v. Cas spécifiques

1. Lésion papuleuse, verruqueuse : le prélèvement se fait par écouvillonnage
2. Lésion d'aspect tumoral : si les lésions sont fistulisées, prélever les grains ou le pus. En l'absence de fistule, procéder au grattage des squames.

Dans les deux cas une biopsie cutanée est souhaitable

vi. Transport et conservation

Les squames et les cheveux peuvent se conserver plusieurs jours à température ambiante.

Les écouvillons sont à acheminer au laboratoire endéans les 12 heures.

14. Les prélèvements des liquides corporels stériles (sauf sang, urines, LCR)

a. Considération générale

Ces prélèvements sont essentiellement réalisés par ponction ou lors d'actes chirurgicaux. Leurs réalisations requièrent le respect des mesures d'asepsie rigoureuse.

Les informations cliniques sont essentielles au traitement du prélèvement : nature de l'échantillon, modalité de prélèvement, contexte globale (âge, matériel étranger, état immunitaire du patient, corticothérapie,...), antibiothérapie récente éventuelle.

La demande de recherche des germes spécifiques (BK, Nocardia, ...) doit être clairement indiquée sur la prescription.

b. Le matériel de prélèvement

	Tube ou flacon stérile
	Portagerm Flacon PORT-F
	Flacons d'hémocultures aérobies / anaérobies / pédiatriques

c. Technique de prélèvement

i. Prélèvement de liquide par ponction

Préparer le site de ponction en effectuant un nettoyage strict.

Procéder à une désinfection de type chirurgical de la peau à l'aide d'un désinfectant cutané afin de prévenir l'introduction des germes saprophytes de la peau.

Faire la ponction percutanée à l'aide d'une aiguille montée sur une seringue pour l'obtention de liquide (pleural, péricardique, péritonéale ou articulaire).

Injecter le liquide prélevé dans un tube ou un flacon stérile pour la culture aérobie et dans un flacon portagerm pour la culture anaérobie.

Si le prélèvement n'est pas transféré dans un tube/flacon comme indiqué ci-dessus, il faut veiller (après avoir ôté l'aiguille) à chasser les bulles d'air de la seringue avant de boucher cette dernière à l'aide d'un bouchon stérile (bouchon de seringue type gaz du sang).

En présence de grande quantité de liquide, il est possible **en plus** des flacons/tubes prélevés comme indiqué ci-dessus de transférer entre 5 et 10 ml de liquide dans les flacons d'hémoculture (aérobies, anaérobies) en précisant bien le type de prélèvement.

Attention : aucun examen direct ne sera fait en cas de réception de liquides de ponction transféré dans des flacons d'hémoculture.

ii. Prélèvement de liquide de drainage

Liquide de drain des séreuses, liquides de dialyse péritonéale, liquide de drain de Redon,...

Le système de drain comprend le drain fixé à la peau, une tubulure fixée au drain par une extrémité et au flacon sous vide par l'autre extrémité.

Le prélèvement doit s'effectuer au niveau du branchement « luer » auquel une seringue non montée doit s'adapter. Comme pour les prélèvements par ponction, celle-ci peut être bouchée. Une partie du liquide peut aussi être transférée dans les flacons d'hémoculture.

Attention : Les prélèvements par ponction à l'aide d'une aiguille montée sur seringue à travers le flacon sous vide sont à proscrire.

iii. Transport et conservation

Le caractère précieux de ces prélèvements nécessite un **transfert immédiat** au laboratoire dans un délai maximum de 2 heures. Si ce délai doit être dépassé, les prélèvements doivent impérativement être mis dans le milieu de transport adéquat tel que : flacon portagermes - flacon d'hémocultures.

Ils sont conservés à température ambiante jusqu'au moment de leur acheminement au laboratoire.

15. Les prélèvements des hémocultures

a. Considération générale

- **Renseignement cliniques nécessaires au moment du prélèvement :**
Heure de prélèvement, température du patient, traitement anti-infectieux éventuel.
En principe, **le prélèvement doit être fait avant toute antibiothérapie.**
En cas d'impossibilité : prélever immédiatement avant l'administration de la dose suivante d'antibiotique. Dans l'idéal, il est recommandé de prélever immédiatement après un épisode fébrile ou de frissons.
- **Site et moment du prélèvement**
La ponction veineuse est la seule méthode valable pour prélever le sang en vue d'une culture bactériologique. Les recueils de sang à travers un cathéter augmentent considérablement les risques de contamination.
- **Nombre de flacons d'hémoculture à prélever**
Prélever **2 à 3 paires de flacons pour hémoculture** (anaérobie / aérobie) soit 4 à 6 flacons **en un seul prélèvement** dans les 24 heures. L'intervalle entre deux prélèvements n'a pas d'influence sur la qualité du diagnostic.
Les prélèvements multiples ne font qu'accroître le risque de contamination et retardent la mise en place d'un traitement antibiotique éventuel. Ce prélèvement **unique** peut être renouvelé sur prescription médicale dans certaines situations cliniques : après gestes invasifs chirurgicaux ou endoscopiques, suspicion d'endocardite subaigüe, infection liée à un dispositif vasculaire.
- **Quantité de sang à prélever**
aérobie : minimum 5 ml – maximum 10 ml
anaérobie : minimum 5 ml – maximum 10 ml

b. Le matériel de prélèvement

Un flacon aérobie (vert), un flacon anaérobie (orange), un flacon pédiatrique (jaune).



- une tulipe bleue et son insert adaptés au prélèvement des flacons.



- 1 tubulure à ailette (« Butterfly blood collection set »)



- 1 adaptateur LUER pour le prélèvement des tubes si nécessaire.



- Une paire de gant à usage unique et du matériel de désinfection (compresses stériles + solution de désinfection)

Vérification préalable à effectuer avant le prélèvement :

- ✓ Vérifier la date de péremption de chaque flacon,
- ✓ Vérifier l'absence de signes de détérioration des flacons avant leur usage (décoloration, fuites, présence de dégagement gazeux)
- ✓ Vérifier l'absence de contamination bactérienne (le bouillon présent dans le flacon doit être limpide)

c. Technique de prélèvement

- Prélèvement à réaliser dans une pièce avec la porte fermée.
- Hygiène rigoureuse des mains : lavage des mains, utilisation d'une solution hydro-alcoolique
- Retirer la capsule plastique des flacons et désinfecter l'opercule de chaque flacon avec une compresse imbibée d'antiseptique iodé ou alcoolique puis laisser sécher à l'air.
- **Mettre des gants.** Ne plus palper la veine après cette étape.
- Désinfecter soigneusement le site de ponction avec une compresse stérile imbibée d'une solution antiseptique.
- Préparer une tubulure à ailettes et une tulipe bleue adaptée aux flacons.

- **Prélever en premier le flacon *aérobie*** (FA PLUS) et remplir le flacon avec le sang
- Prélever **en second le flacon *anaérobie*** (FN PLUS) et le remplir de la même façon
- Pendant le prélèvement, maintenir la bouteille à la verticale de manière à :
 - a. lire l'échelle de volume de sang ayant infusé dans le flacon
 - b. éviter le retour du bouillon de culture vers la circulation sanguine
- Effectuer un pansement sec sur l'orifice de ponction
- Remarque : Si plusieurs tubes doivent être prélevés ; il faut **toujours commencer par les flacons d'hémoculture avant de prélever tout autre tube** et ceci afin de minimiser tout risque de contamination bactérienne des flacons. Le prélèvement des autres tubes se fera comme habituellement après insertion de l'adaptateur pour tubes dans la tulipe.
- Identifier les flacons en collant l'étiquette du patient sur le flacon tout en **veillant de ne pas coller l'étiquette sur le code barre** (voir image 2).

Image 1 : Protocole de prélèvement des hémocultures

Procédure de prélèvement direct des flacons d'hémoculture BacT/ALERT®

Recommandations importantes

- Le ratio sang/bouillon recommandé est compris entre 1/5 et 1/10 :
- Flacons adultes (SA, SN / FA, FN) :**
volume optimal = 10 ml (minimum = 5 ml)
- Flacons pédiatriques (PF) :**
volume optimal = 4 ml (minimum = 1 ml)
- Ne pas utiliser de flacon dont le fond est jaune ou la date de péremption dépassée.
- Ne pas surremplir les flacons car cela peut entraîner des faux-positifs.
- Pour un meilleur contrôle du volume de sang inoculé dans le flacon, tracer un repère sur les graduations de l'étiquette.
- Afin d'éviter les contaminations, les flacons d'hémoculture doivent être prélevés avant d'éventuels tubes additionnels.
- Ne pas coller d'étiquette identifiant le prélèvement sur le code à barres du flacon.
- Transmettre le prélèvement au laboratoire le plus rapidement possible.

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



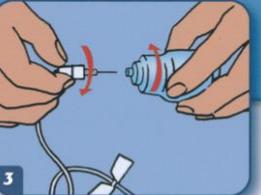
1

Nettoyer la zone de prélèvement avec un antiseptique réservé à cette usage (suivre le protocole validé par l'établissement de soins). Ne pas utiliser d'antiseptique de type polyvidone iodée si le patient possède une hypersensibilité connue à l'iode.



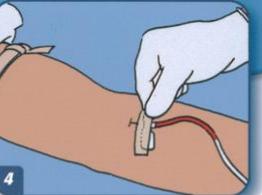
2

Retirer la capsule de protection située sur le dessus des flacons. Désinfecter le bouchon à l'aide d'une solution appropriée et laisser sécher 30 secondes à 1 minute.



3

Relier l'adaptateur BacT/ALERT au dispositif utilisé pour le prélèvement en prenant soin de **le visser à fond**.



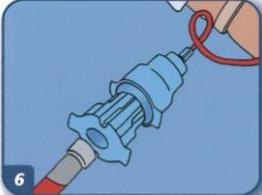
4

Pratiquer la ponction veineuse à l'aide de l'aiguille (type épicanarienne protégée).



5

Placer l'adaptateur sur le **flacon aérobic*** en le pressant le long du flacon. Procéder de la même façon avec le flacon anaérobic.
Prélever au maximum 10 ml de sang par flacon.



6

Si des tubes doivent être prélevés, placer le réducteur BacT/ALERT dans l'adaptateur. Désinfecter de nouveau les bouchons des flacons et des tubes une fois les prélèvements terminés.



7

Renseigner les flacons suivant votre procédure habituelle. Si vous utilisez une étiquette, **ne la collez pas sur la partie code à barres détachable du flacon** (procédure décrite au verso).



Image 2 : Procédure d'étiquetage des flacons

Procédure d'étiquetage pour flacons d'hémoculture BacT/ALERT

NON



OUI





Partie exclusivement réservée au **Laboratoire** de Biologie :
- ne rien coller
- ne pas endommager

Partie accessible aux **Services Préleveurs** pour y apposer une étiquette



bioMérieux SA
69280 Marcy l'Etoile
France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.fr

i. Cas spécifique

1. Prélèvements pédiatriques

Utiliser un flacon PF pédiatrique de couleur **JAUNE**

Habituellement un seul flacon pédiatrique est suffisant sauf prescription particulière du clinicien.



2. Prélèvement sur veines très difficiles

Utiliser un seul flacon FN PLUS anaérobie

3. Contexte d'endocardite infectieuse

Prélever trois paires de flacons d'hémoculture échelonnés sur 24 heures, espacés d'une heure au minimum si possible avant toute administration d'antibiotique.

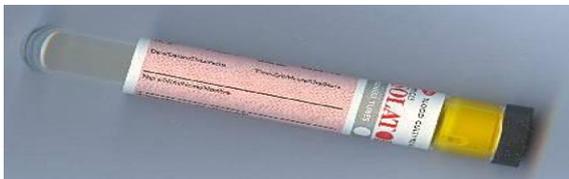
4. Pour les personnes avec un dispositif intra-vasculaire (cathéter, chambre implantable...)

Prélever en même temps (endéans les 15 minutes) deux paires de flacons d'hémoculture, l'une par ponction veineuse périphérique et l'autre sur le dispositif intra-vasculaire sans le rincer en veillant à inoculer les flacons dès l'apparition du sang dans la tubulure.

Ces prélèvements réalisés simultanément doivent être correctement identifiés et acheminés en même temps au laboratoire car ceux-ci doivent être incubés en même temps.

5. Prélèvement de sang sur **TUBE ISOLATEUR**

- Matériel



Tube Isolator (10 ml) pour Adultes



Tube Isolator (1.5 ml) pédiatrique

- Comment effectuer le prélèvement ?

Le prélèvement s'effectue de la même façon que pour les bouteilles en portant une attention particulière à la désinfection rigoureuse du bouchon en caoutchouc du tube avec un tampon d'alcool. Prélever si possible le volume maximal recommandé selon le format du tube.

- Quand prélever sur tube Isolator ?
L'utilisation des tubes Isolator doit être réservée à des cas spécifiques :
 - a. recherche de germes spécifiques dans le sang : recherche de Mycobactéries, de Brucella ou de bactéries exigeantes (Legionella, bartonella,...)
 - b. quantification de la bactériémie (utile pour la mise en évidence d'une infection sur cathéter)

- Remarque
Outre le coût exorbitant de ce type de tubes, leur manipulation fastidieuse nécessite des conditions d'asepsie rigoureuse (manipulation obligatoire sous hotte à flux laminaire afin d'éviter les contaminations).

ii. Transport et conservation

Les flacons d'hémoculture doivent être transmis dès que possible au laboratoire. Dans le cas où le transfert immédiat des flacons n'est pas possible, ceux-ci seront laissés à **température ambiante** en attendant leur acheminement au laboratoire.

16. Les prélèvements des dispositifs intravasculaires

a. Considération générale

Les cathéters sont une source fréquente d'infections chez les patients hospitalisés. Il existe deux façons de connaître le statut d'un cathéter, soit en adressant au laboratoire l'extrémité du cathéter au moment du retrait, soit en cultivant du sang prélevé via ce cathéter. Cette dernière option est utilisée dans les cas où le cathéter est suspecté d'être la cause d'une fièvre d'origine indéterminée; mais étant la seule voie d'accès son retrait serait problématique (cf. chapitre : hémoculture § i. point 4).

Le prélèvement d'un cathéter est indiqué devant des :

- signes locaux d'inflammation (rougeur, gonflement, induration, douleur à la palpation, ...)
- signes généraux (t°, altération de l'état général, hyperleucocytose)

NB : PAS de mise en culture systématique des cathéters en fin de traitement par perfusion en l'absence de signes locaux ou généraux suggérant la présence d'une infection.

b. Le matériel de prélèvement

	Bouillon Cœur Cerveille pour mise en culture de bouts de cathéter , drain, IUD, ...
	Pot à visser hermétique

c. Technique de prélèvement

- Désinfecter le pourtour du site
- Laisser sécher, puis retirer le cathéter
- Couper stérilement l'extrémité distale (± 5 cm) qui se trouvait dans la veine et la déposer dans le tube en verre contenant un bouillon de culture stérile.
- Si le dispositif intravasculaire est volumineux (DIV), le mettre dans un pot à visser hermétique, puis transvaser la totalité du bouillon dans le pot afin d'éviter le dessèchement du DIV.
- Préciser la nature et le site du cathéter sur la feuille de prescription
- Si le patient est pyrétique ($\geq 38^{\circ}\text{C}$), ne pas oublier de combiner ce prélèvement avec les hémocultures

d. Transport et conservation

Le tube doit être transmis dès que possible au laboratoire. Dans le cas où le transfert immédiat n'est pas possible, celui-ci sera laissé à **température ambiante** pendant maximum 24h en attendant son acheminement au laboratoire.

17. Les prélèvements LCR et du système nerveux central

a. Considération générale

Les infections du Système Nerveux Central (méningites, ventriculites, encéphalites, méningo-encéphalites, suppurations intracrâniennes) engagent souvent le pronostic vital du patient. Dans ce contexte, la prise en charge thérapeutique du patient peut (voir « doit » dans le cas des infections invasives à méningocoques) primer sur les investigations diagnostiques. Dans tous les cas, dès que l'état du patient le permet, il faut procéder sans délai aux prélèvements microbiologiques et cytochimiques qui permettront d'orienter une prise en charge adéquate du patient.

Un minimum de renseignements cliniques doit accompagner les échantillons : âge, état immunitaire avec type d'immunodépression, contexte clinique et épidémiologique (convulsion, purpura, voyages, piqûre de tique, actes de chirurgie ORL ou de neurochirurgie, traumatisme crânien ou facial,...). De même, la recherche de micro-organismes particuliers doit être précisée.

b. Le matériel de prélèvement

	<p>Tube stérile sans additif NB : Il est impératif de prélever au moins 3 TUBES pour les analyses de biochimie, de bactériologie et de cytologie de routine. Des tubes supplémentaires doivent être prélevés en cas de recherches complémentaires : recherche d'antigènes solubles, recherche de microorganismes par biologie moléculaire, mise en évidence de la production intrathécale des anticorps</p>
	<p>Flacon portagerm : Milieu de transport des liquides de ponction si recherche spécifique de germes anaérobies</p>

c. Technique de prélèvement

i. Liquide céphalorachidien par ponction

- Le liquide céphalo-rachidien doit être prélevé idéalement avant tout traitement antibiotique.
- En l'absence de contre-indication (hypertension intracrânienne, trouble majeur de la coagulation, infection locale du point de ponction), la ponction lombaire est réalisée après une asepsie rigoureuse de type chirurgical du site de ponction.
- Introduire l'aiguille avec le stylet au niveau de l'inter-espace L3-L4, L4-L5 ou L5-S1,
- Quand l'espace sous-arachnoïdien est atteint, retirer le stylet et recueillir le LCR. La quantité moyenne de LCR suffisante pour la majorité des examens

de routine à réaliser est de 3 à 5 ml, recueillie dans 3 tubes stériles numérotés 1-2-3 servant respectivement à l'examen biochimique (tube 1, minimum 1ml), microbiologique (tube 2, minimum 1 à 2 ml) et cytologique (tube 3, minimum 0,5 ml).

Remarque : si seulement un tube peut être prélevé, la priorité est donnée à la microbiologie. Si plus d'un tube est disponible, la microbiologie doit recevoir le 2ème tube

ii. LCR prélevé par drainage d'une dérivation ventriculaire

Prélever les tubes en nombre et quantité comme décrit ci-dessus:

- Le prélèvement du LCR dans le contexte d'une **dérivation ventriculaire externe** doit se faire au niveau de l'embout du robinet proximal de vidange après une désinfection soigneuse. Les prélèvements à partir du sachet de recueil sont à éviter.
- Dans le cas d'une **dérivation ventriculaire interne**, le LCR sera prélevé de préférence au niveau lombaire ou à défaut au niveau réservoir.

Remarque : dans le cas d'un retrait du matériel, celui-ci sera envoyé pour analyse microbiologique.

iii. Abscess cérébraux

- Les prélèvements d'abcès cérébraux sont généralement effectués par ponction aspiration sous scanner ou par biopsie stéréotaxique
- Les prélèvements d'empyèmes sont surtout réalisés lors d'interventions chirurgicales à visée évacuatrice
- Le liquide de ponction sera recueilli au travers une seringue qui sera :

- i. soit envoyé au laboratoire après avoir remplacé l'aiguille par un bouchon stérile



- ii. soit transvasé dans le flacon portagerm



permettant la préservation des bactéries

- iii. soit transvasé dans un récipient stérile sans additif



iv. Recherche des antigènes solubles

Cela nécessite au minimum une quantité de 1ml de LCR.

La recherche systématique des Ag solubles par la méthode d'agglutination de latex n'est pas recommandée en raison des sensibilités variables selon les bactéries. Un résultat négatif n'exclut pas une présence bactérienne. Cette recherche peut être entreprise dans le cas des méningites décapitées par les antibiotiques ou dans le cas des LCR purulents à examen microscopique négatif mais une technique par amplification génique reste préférable.

v. Recherche des micro-organismes par amplification génique

Cela nécessite au minimum une quantité de 1 à 2 ml de LCR.

Cette recherche est surtout indiquée :

- en cas de forte suspicion de méningite bactérienne avec examen direct négatif ou de LCR à examen microscopique positif mais à culture négative
- d'emblée en cas de suspicion de méningites d'origine virale ou selon le contexte clinique, en cas de méningites dues à des bactéries ou champignons de culture fastidieuse ou certains parasites (mycobactéries, borrelia, mycoplasmes, tréponème pallidum, *toxoplasma gondii*....)

vi. La recherche des anticorps dans le LCR est souvent associée à la recherche des anticorps sériques (méningites ou méningo-encéphalites dues à certains virus ou bactéries)

vii. Cas particuliers et prélèvements associés

- En présence d'un syndrome méningé fébrile, une hémoculture (au moins) doit être systématiquement prélevée
- En présence d'un purpura, une biopsie de la lésion cutanée peut être pratiquée afin de mettre en évidence l'agent pathogène par culture ou par amplification génique.

viii. Transport et conservation

L'acheminement du LCR vers le laboratoire doit se faire le plus rapidement possible avec une arrivée au laboratoire endéans les 30 minutes avec un maximum d'une heure) en raison de la lyse rapide des polynucléaires et à l'abri du froid en raison de la fragilité de certaines bactéries, notamment les méningocoques.

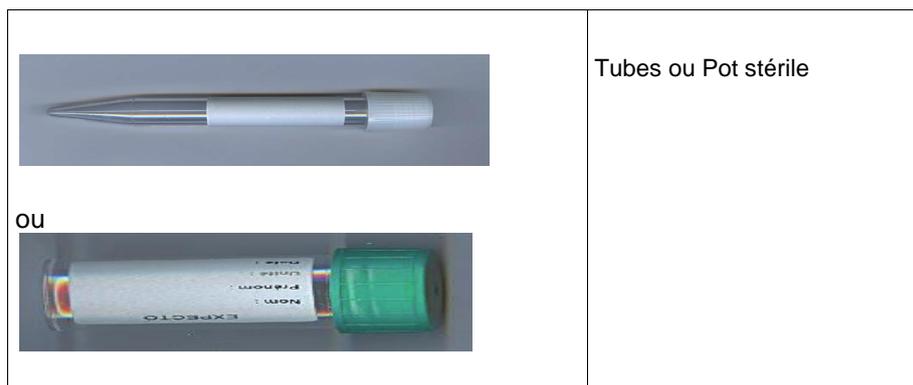
18. Les prélèvements des voies respiratoires inférieures

a. Considération générale

- Les prélèvements microbiologiques des voies respiratoires inférieures sont indiqués pour confirmer le diagnostic d'une pneumopathie infectieuse et pour identifier l'agent pathogène causal. Ils peuvent également permettre de contrôler l'efficacité d'un traitement (ex : tuberculose).
- Il est parfois nécessaire d'associer d'autres prélèvements permettant d'établir l'étiologie infectieuse d'une pneumopathie telles que les hémocultures, le recherche d'antigènes urinaires de *S.pneumoniae* ou *Legionella*, ou encore une biopsie.
- Il est **impératif** de mentionner si le patient est atteint de **mucoviscidose** ou s'il présente un **déficit de l'état immunitaire**.
- Si possible, ces prélèvements sont à effectuer avant l'instauration de toute antibiothérapie ; sinon renseigner le traitement en cours.

b. Le matériel de prélèvement

Pot « expectoration » ou tout autre type de pot stérile **sans additif** (muni d'un bouchon sécurisé permettant le transport)



c. Technique de prélèvement

Hormis l'expectoration et l'aspiration endo-trachéales, tous les prélèvements de l'arbre respiratoire inférieure sont des actes médicaux spécialisés.

i. Expectoration ou examen cyto-bactériologique des crachats (ECBC)

- Recueillir le crachat à jeun, idéalement le matin après rinçage buccodentaire avec du sérum physiologique ou de l'eau du robinet afin d'éliminer le maximum de salive.
- Ce recueil doit être fait après effort de toux (sputum expectoré). Le patient doit ressentir le crachat qui « vient des poumons »
- Si nécessaire, le recueil peut se faire après kinésithérapie respiratoire (sputum induit) en particulier chez les enfants et les personnes âgées.
- Veiller à ne pas contaminer le récipient de récolte lors du recueil en le plaçant sous la lèvre inférieure du patient

- Bien refermer et identifier avec le nom du patient, la nature et la date du prélèvement

Voir Annexe [AN-PREL-026](#)

ATTENTION :

- Il est **INUTILE** d'envoyer plus d'une « **bonne** » expectoration par jour au laboratoire.
- La **QUALITE** des prélèvements est évaluée lors de la lecture du Gram à l'examen direct des expectorations. Celles -ci seront classifiées de T1 à T5 (selon classification de Bartlett) suivant la présence ou non des globules blancs (polynucléaires) et de cellules épithéliales. Les expectorations de classe T1 à T3 sont en général contaminées par de la salive et ne sont **EN PRINCIPE PAS MIS EN CULTURE**.

ii. Fibro-aspiration

- L'aspiration directe sous fibroscope des sécrétions endo-trachéales (AET) est réalisée au moyen d'un système d'aspiration étanche relié à la sonde d'aspiration stérile introduite dans la trachée.
- Elle permet le recueil des sécrétions qui, bien que souvent contaminées par la flore oropharyngée, présenteront l'avantage d'avoir été recueillies au niveau même de la lésion ou à proximité.
- Le prélèvement est recueilli dans un pot stérile muni d'un bouchon à visser sécurisé pour le transport.

iii. Aspiration trachéale chez les patients intubés

- Réalisée au moyen d'un système d'aspiration étanche relié à la sonde d'aspiration stérile introduite dans la trachée par la canule de trachéotomie.
- Recueillir les sécrétions dans un flacon stérile

iv. Lavage broncho-alvéolaire

- Introduire le fibroscope par voie nasale ou orale ou encore à travers le tube endo-trachéal si le patient est intubé
- Instiller à l'aide d'une seringue par le canal à biopsie après blocage du bronchofibroscope dans une bronche segmentaire (= lavage bronchique) ou sous-segmentaire (=lavage broncho-alvéolaire) environ 5-20 ml de sérum physiologique
- Aspirer lentement le sérum physiologique dans un récipient stérile avant d'injecter un nouvel aliquot de sérum physiologique
- Répéter l'opération et garder les aliquots dans des récipients séparés si les sites de récolte sont différents

v. Brossage endo-bronchique

- Se fait lors de la fibroscopie, le prélèvement est effectué par brossage avec une petite brosse au niveau de la lésion suspecte
- Récupérer la brosse dans un pot stérile après antisepsie de la tige
- Le liquide recueilli lors du brossage doit être mis dans un récipient séparé de la brosse

vi. Biopsie pulmonaire

Si une biopsie pulmonaire est effectuée lors d'une fibro-endoscopie, celle-ci doit être envoyée au laboratoire dans un récipient stérile qui contient une petite quantité de liquide physiologique stérile.

vii. Tubage gastrique pour recherche de mycobactérie

- Ce type de prélèvement est souvent réservé aux enfants ou aux personnes ayant des difficultés d'expectorer volontairement.
- Le patient doit être à jeun.
- Les sécrétions bronchiques dégluties pendant le sommeil sont aspirées à l'aide d'une sonde directement introduite dans l'estomac.

viii. Cas particuliers

- La recherche de **mycobactéries du groupe Tuberculosis et mycobactéries atypiques** par culture et ou par PCR doit être spécifiée sur la feuille demande. Dans ces cas les expectorations ou les sécrétions prélevées par tubage gastrique doivent être prélevées de préférence tôt le matin pendant 3 jours consécutifs.
- La recherche spécifique de **levures/ champignons** sur demande explicite en plus de la culture aérobie.
- La recherche de bactéries atypiques telles que les ***Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*** se fait par PCR.
- La recherche de ***Legionella spp.*** peut se faire par mise en culture ou par PCR ; cependant il faut compléter l'exploration par la recherche de **l'antigène *Legionella*** urinaire.
- La recherche des **actinomycètes et nocardia sp.** et éventuellement de **germes anaérobies** s'effectue par culture et doit être explicitement spécifiée sur la demande.
- La recherche de **pneumocystes** se fait sur demande explicite et ne s'effectue que sur prélèvement recueilli à travers un fibroscope (LBA)

ix. Transport et conservation

- L'échantillon doit être acheminé rapidement au laboratoire (dans un délai maximum de 2 heures) à **température ambiante**. Ceci pour éviter la multiplication de la flore commensale oropharyngée aux dépens de bactéries plus fragiles telles que ***S. pneumoniae***.
- Si cela n'est pas possible : conservation maximale de 2 à 24 heures maximum à température ambiante.

19. Les prélèvements des voies respiratoires supérieures

a. Considération générale

Ces prélèvements sont à effectuer avant tout traitement local ou général (antiseptique ou antibiotique) ou après un arrêt du traitement d'au moins 48 heures.

Il est important de noter que les renseignements cliniques importants mentionnés ci-dessous peuvent aider à l'orientation du choix des analyses bactériologiques à effectuer :

- l'aspect de la gorge (érythémateux, érythémato-pultacé, ulcéro-nécrotique, la présence de fausses membranes....)
- le type d'angines (aigue, récidivante,...)
- la notion de sinusite aigue ou récidivante
- si le prélèvement est fait dans le cadre d'un bilan de MST ou d'une recherche de colonisation par le *Pseudomonas aeruginosa*, les entérobactéries ou les candidas albicans chez les patients greffés et/ou d'onco-hématologie ...

b. Le matériel de prélèvement

- Ecouvillons avec milieu de transport

	Culturette avec embout blanc : Milieu de transport universel pour culture bactériologique
	Portagerm Amies Agar : Milieu de transport si une recherche spécifique de germes anaérobies est demandée
	Frottis fin avec embout vert : Milieu de transport universel tige fine: réservé pour les prélèvements naso-pharyngés
	Milieu de transport pour recherche de Chlamydia trachomatis et Nesseiria gonorrhoeae par PCR

➤ Pot/tubes stérile

 <p>OU</p> 	Tubes ou pots stériles
	Milieu de transport des liquides de ponction si recherche spécifique de germes anaérobies

– Lames porte-objet



– Abaisse-langue



– Seringues de ponction

c. Technique de prélèvement

i. Prélèvement de gorge

- Le prélèvement est à faire de préférence à jeun
- Utiliser un abaisse-langue pour dégager le pharynx en faisant émettre le son « A » au patient
- Eviter tout contact salivaire



1. Angine rouge ou érythémato-pultacé
Repérer les zones inflammatoires ou points blancs. Ecouillonner la (les) amygdale(s) atteinte(s) (ou la base des piliers du voile du palais en l'absence d'amygdale), la paroi postérieure du pharynx avec un frottis à embout blanc ou bleu.
2. Angine pseudo-membraneuse (suspicion de dyptérie)
Soulever le bord de la fausse membrane et écouillonner en dessous ou en périphérie avec un frottis à embout blanc ou bleu.
3. Angine ulcéro-nécrotique (angine de Vincent)
A l'aide d'un écouillon de frottis avec embout blanc, prélever au niveau de l'ulcération. Il est possible d'effectuer directement un étalement à partir du frottis sur lames porte-objet.
4. Phlegmon de l'amygdale
Le prélèvement doit être obtenu par ponction et transféré dans un récipient fermé (pot ou tube stérile) puisqu'il s'agit d'une collection fermée.
Il est possible d'effectuer le prélèvement par écouillonnage de la lésion en utilisant un frottis portagerm à embout bleu.
5. Recherche de Candida sp.
Prélever avec un écouillon au niveau de la langue, du palais et de la face interne des joues à l'aide d'un frottis avec embout blanc ou bleu.
6. Autres
 - Pour la recherche de *N.gonorrhoeae* : écouillonner les amygdales avec un frottis Portagerm (embout bleu) pour une culture bactérienne sinon utiliser le kit spécial PCR en cas de recherche par biologie moléculaire.
 - Pour le diagnostic d'autres type d'ulcérations de gorges ; cf la chapitre : « Prélèvements uro-génitaux chez la femme »
 - Le dépistage des bactéries multi-résistantes est traité dans le chapitre dédié

Remarque : La recherche de portage de *Neisseria meningitidis* n'a aucun intérêt !

ii. Prélèvement nasal et rhino-pharyngé et pus des sinus

1. Prélèvement rhino-pharyngé pour la recherche des antigènes viraux (RSV, Influenza, Adénovirus, Mycoplasme,...) ou des acides nucléiques par biologie moléculaire
 - Maintenir la tête du patient inclinée en arrière.
 - Insérer l'écouillon dans la narine et le pousser délicatement le plus loin possible parallèlement au palais.



- Procéder au prélèvement par écouillonnage à l'aide d'un frottis avec tige fine (embout vert) en imprimant un léger mouvement

rotatif tout en retirant lentement l'écouvillon.

- Procéder de la même façon avec le même écouvillon pour l'autre narine.
 - ou procéder par aspiration des sécrétions du rhyno-pharynx avant de les transvaser dans un récipient stérile
2. Diagnostic d'une sinusite aigüe/chronique
- L'aspiration, la ponction ou même la biopsie au niveau du méat moyen sont à réaliser par un médecin.
 - Le matériel ainsi prélevé est à transvaser idéalement dans un flacon portagerm ou dans un pot/tube stérile

Remarque : En cas d'impossibilité d'effectuer une aspiration ou une ponction, il est possible d'utiliser un frottis Portagerm avec embout bleu

3. Recherche *Bordetella pertussis* (agent de la coqueluche)
- Elle doit être réalisée le plus tôt possible au cours de la phase catarrhale (les bactéries se raréfient par la suite, notamment après apparition des quintes de toux).
 - Effectuer un écouvillonnage nasopharyngé per-nasal à l'aide d'un écouvillon fin (écouvillon avec embout vert) introduit de la narine jusqu'au cavum
 - **OU** le recueil des sécrétions nasopharyngées par aspiration qui sont transférées ensuite dans un tube ou pot sans additif constituent un matériel de choix pour la culture ou la PCR

iii. Prélèvement auriculaire

1. Otite moyenne aigüe ou récidivante
- Prélever le pus auriculaire par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon à embout bleu
 - Le pus de paracentèse est idéalement prélevé par un médecin spécialiste O.R.L à l'aide d'une seringue. Le prélèvement ainsi effectué peut être soit transféré dans un flacon portagerm soit envoyé au laboratoire tel quel dans la seringue hermétiquement bouchée sans aiguille (en chassant les bulles d'air préalablement)



2. Otite externe
Éliminer débris et croûtes, recueillir les sérosités à l'aide d'un écouvillon avec embout bleu
3. Recherche mycologique explicite (Candida, Aspergillus,...)
voir chapitre dédié aux « Prélèvement de la peau et des phanères pour examen mycologiques »
- Recueillir les squames et débris dans un pot stérile

- ou réaliser un prélèvement avec un écouvillon au préalable humidifié avec du sérum physiologique stérile.

iv. Transport et conservation

Les prélèvements correctement identifiés seront transmis au laboratoire en respectant les conditions suivantes :

- Endéans les 2 heures à température ambiante si utilisation d'un écouvillon sans milieu de transport
- Endéans les 12 heures à température ambiante si utilisation d'un écouvillon avec milieu de transport
- Les lames porte-objet sont transmises endéans les 24 heures à température ambiante.
- Kit de prélèvement pour PCR : transport à température ambiante endéans les 24 heures ou maximum 48 heures entre 2 et 8°C.

20. Les prélèvements oculaires

a. Considération générale

Les infections oculaires peuvent avoir pour conséquences la perte anatomique et/ou fonctionnelle de tout ou partie des structures oculaires. Ce risque majeur justifie une prise en charge spécialisée relevant le plus souvent de l'urgence.

Tous les renseignements cliniques (immunodépression, port de lentilles, traumatisme cornéen,...) susceptibles d'orienter le diagnostic étiologique doivent être précisés.

Les prélèvements doivent se faire de préférence :

- avant tout traitement local ou général (antiseptique ou antibiotique) ou après un arrêt du traitement d'au moins 48 heures,
- avant toute toilette oculaire,
- en dehors de l'utilisation de produits de maquillage.

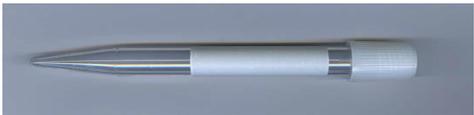
En cas de diagnostic par biologie moléculaire, il est recommandé de porter des gants sans talc et d'éliminer la fluorescéine et l'oxybuprocaine éventuellement présente par un lavage avec du sérum physiologique car ce sont de potentiels inhibiteurs de PCR.

b. Le matériel de prélèvement

- Ecouillons avec milieu de transport

	Frottis fin avec embout vert: Milieu de transport universel
<p>Ou</p> 	Frottis avec embout blanc (Tige normale) : Milieu de transport universel
<p>Ou</p> 	Portagerm Amies Agar : Milieu de transport si une recherche spécifique de germes anaérobies est demandée
	Milieu de transport pour recherche de Chlamydia trachomatis et Nessesiria gonorrhoeae par PCR

➤ Flaçon stérile

 <p>ou</p> 	Tubes ou pot stérile
	Milieu de transport des liquides de ponction si recherche spécifique de germes anaérobies

➤ Vaccinostyle

➤ Pincés chirurgicales



c. Technique de prélèvement

i. Frottis conjonctival

- Possibilité pour l'examen microscopique de faire un étalement sur deux lames à partir d'un prélèvement conjonctival effectué à l'aide d'un vaccinostyle stérile
- Pour la recherche de bactéries, levures, et virus par culture il faut procéder au recueil par écouvillonnage des sécrétions et du pus conjonctival prélevé au niveau de l'angle interne de l'œil à l'aide d'un frottis fin avec embout vert.
- Pour la recherche de Chlamydia trachomatis ou des virus (HSV, Adenovirus...) par PCR, le prélèvement doit impérativement être réalisé après lavage de l'œil avec du sérum physiologique stérile par un grattage doux conjonctival des paupières inférieures et supérieures. Décharger l'écouvillon ainsi prélevé dans son milieu de transport spécifique

ii. Cornée

- Toute kératite, ulcère ou abcès relève d'un examen ophtalmologique urgent et d'un traitement urgent.
- Il faut effectuer le prélèvement par grattage au niveau de la base et des berges de l'abcès après élimination des débris nécrotiques et fibrineux.

iii. Endophtalmie, nécrose rétinienne, uvéite

Prélèvement à effectuer de toute urgence par l'ophtalmologiste qui effectue une ponction par aspiration à la seringue de vitré et ou de l'humeur aqueuse. Le liquide d'aspiration sera soit transvasé dans récipient stérile sans additif ou flacon portagerm soit envoyé tel quel dans la seringue hermétiquement bouchée (sans aiguille!) après avoir pris soin de chasser les bulles d'air

Remarque : Les prélèvements de la conjonctive, de la plaie ou de cicatrice ont peu de valeur en cas d'endophtalmie

iv. Orgelet/chalazion

Ouvrir l'orgelet avec un vaccino-stylo puis prélever le pus par écouvillonnage

v. Annexe de l'œil

Dacryocystite : Le prélèvement est réalisé au niveau du canal lacrymal
Blépharite (paupière) :

- Prélever croûtes palpébrales et prélever 8 à 10 cils à l'aide d'une pince qu'il faut mettre dans un flacon stérile avec 2 à 3 gouttes d'eau physiologique stérile pour éviter toute dessiccation.

Attention : La recherche de demodex doit se faire extemporanément par examen direct entre lame et lamelle immédiatement après le prélèvement.

- Prélever les sérosités éventuelles par écouvillonnage.

vi. Boitier et lentille de contact

Demander au patient d'apporter les lentilles de contact dans leur boitier, sans les nettoyer ni les séparer.

Remarque : La recherche d'*Acanthamoeba* se fait sur demande explicite après prise de contact préalable avec le laboratoire.

vii. Transport et conservation

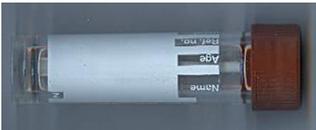
- Les échantillons sont conservés à température ambiante jusqu'à leur prise en charge par le laboratoire, dans un délai maximum de 2 heures pour les échantillons sans milieu de conservation.
- Ecouvillons avec milieu de transport : conservation à température ambiante maximum 12 heures.
- Culture virale : conservation à température ambiante maximum 12 heures.
- Kit PCR : transport à température ambiante endéans les 24 heures

21. Les prélèvements du tractus gastro-intestinal

a. Considération générale

- Les selles ou matières fécales sont les résidus de la digestion dont l'examen est d'une grande utilité en pathologie digestive.
- La coproculture à visée bactériologique permet de rechercher et d'identifier des germes responsables de diarrhées infectieuses (recherche des germes entéropathogènes).
- Des recherches spécifiques peuvent être associées à la coproculture telles que :
 - la mise en évidence **des antigènes viraux** : Rotavirus, Adenovirus, norovirus,...
 - la culture et la recherche **de la toxine A/B Clostridium difficile** si le patient a reçu des antibiotiques dans les 15 jours précédents ou si le patient hospitalisé depuis plus que 48 heures ou encore s'il a eu un épisode de diarrhée *Clostridium difficile* par le passé.
- La parasitologie permet de diagnostiquer des parasitoses intestinales. Celles-ci sont aussi responsables de symptômes intestinaux qui varient selon les parasites en cause. L'examen parasitologique des selles doit se pratiquer 3 à 4 jours après l'arrêt de certaines substances médicamenteuses pouvant gêner son interprétation (huile de paraffine, charbon, laxatifs, pansements intestinaux, baryte). Eviter la contamination par l'eau et les urines pour la détection des protozoaires intestinaux.
- Dans tous les cas, il est important de signaler tout renseignement clinique susceptible d'apporter une aide à l'interprétation des résultats comme par exemple : La notion de diarrhée dans un contexte épidémique, de diarrhée associée à la fièvre ou à des troubles de l'état général, de prise d'antibiotiques, de retour d'un pays étranger,...

b. Le matériel de prélèvement

	Flacon pour prélèvement des selles
	Lames porte objet
	Portagerm PORT-PYL Milieu de transport spécial pour recherche d'Helicobacter pylori

c. Technique de prélèvement

i. Recueil des selles

1. Coproculture / recherche de parasites / Antigènes viraux ou bactériens / Toxines A et B de Clostridium difficile
 - Des selles sont recueillies et placées dans pot stérile à l'aide de la spatule prévue. On prélève de préférence les parties de selles macroscopiquement muqueuses, glaireuses ou sanglantes.
 - Selon les situations :
 - si suspicion d'épisode aigu de diarrhée bactérienne: 2 ou 3 prélèvements peuvent être nécessaires
 - Si recherche de parasites : 3 prélèvements systématiques de selles à des moments différents sont nécessaires
 - Si recherche de Clostridium difficile (Toxine A/B et culture) : Cette analyse est à réaliser si les patients ont reçu des antibiotiques et présentent des selles liquides
 - La recherche de toxines se fait sur la selle de départ et est refaite sur le germe en culture en cas de croissance.
2. Recherche d'amibes (explicitée sur ordonnance)
 - Cette recherche se fait sur des selles fraîchement émises et recueillies dans un flacon stérile
 - Le flacon correctement identifié sur lequel sont notées la date et heure de prélèvement, doit être acheminé rapidement au laboratoire (dans un délai inférieur à 2 heures) à température ambiante. Il n'y a pas d'analyse différée possible surtout pour la mise en évidence des formes végétatives

Voir Annexe [AN-PREL-027](#)

3. Recherche d'oxyures : test de Graham (Scotch test)
 - Ce test permet de mettre en évidence les oeufs d'Oxyures (très fréquents chez les enfants et très contagieux) responsables de démangeaisons et de troubles du sommeil.
 - Porte-lames avec lames peuvent être récupérés au laboratoire
 - Le prélèvement est à réaliser de préférence le matin au lever et avant la toilette locale et avant toute défécation.
 - Se laver soigneusement les mains, appliquer le scotch transparent face adhésive sur les plis radiés de la marge anale. Retirer le scotch et bien l'appliquer ; partie adhésive à plat sur la partie transparente de la lame.
 - Réaliser 2 lames qui seront identifiées (nom, prénom, date de naissance), sans oublier de noter la date et heure de prélèvement.

Voir Annexe [AN-PREL-029](#)

4. Recherche du sang dans les selles

Voir Annexe [AN-PREL-028](#)

ii. Lavage duodéal pour recherche de parasites

- Pour recherche de *Giardia*, *Ascaris* et *Strongyloides stercoralis*....
- Le prélèvement se fait par aspiration des sécrétions à travers une sonde introduite jusqu'au niveau du duodénum (3^{ème} partie).
- Transvaser les sécrétions dans un pot stérile avant de l'acheminer rapidement au laboratoire.

iii. Biopsie gastro-duodénale pour la mise en évidence de l'*Helicobacter pylori*

- Le prélèvement se fait lors de l'endoscopie au cours de laquelle la biopsie de plusieurs fragments au niveau de l'antrum et au niveau du tiers supérieur du fundus est effectuée.
- Les prélèvements doivent être mis dans un milieu spécial (Portagerm PORT-PYL) qui sera transmis au laboratoire dans les 24 heures à température ambiante.



Remarque : En cas de non-utilisation de ce milieu de conservation, il est possible de transférer les fragments dans un récipient stérile contenant 0.5 ml de sérum physiologique stérile. Dans ces conditions le prélèvement doit IMPERATIVEMENT être adressé au laboratoire dans les 2 heures compte tenu du caractère fragile de ce micro-organisme

iv. Biopsie du colon (rectum, caecum)

- La recherche bactériologique courante se limitera à la mise en évidence des germes entéro-pathogènes.
- Les recherches spécifiques telles que les cultures de mycobactéries, les cultures virales, la mise en évidence des agents infectieux par PCR se font sur demande explicite.

v. Transport et conservation

- Les prélèvements des selles sont à apporter rapidement au laboratoire à température ambiante dans un délai maximum de 2 heures afin d'éviter la dessiccation et la prolifération des bactéries commensales. Sinon ils peuvent être conservés au frigo avec un délai maximal :
 - de 12 heures entre 2-8°C pour une coproculture,
 - de 24 heures entre 2-8°C pour une recherche isolée des antigènes ou de Toxines A/B de *Clostridium difficile*,
 - de 72 heures entre 2-8°C pour une recherche seule de Rotavirus /Adenovirus
- Les prélèvements pour la recherche de parasites dans les selles ou sur lavage duodéal doivent parvenir au laboratoire dans les 2 heures à température ambiante
- Les prélèvements de biopsies gastro-duodénales sont transférés dans les 24 heures à température ambiante sur milieu de transport portagerm Portagerm PORT-PYL sinon les transférer dans les 2 heures à température ambiante

- Les prélèvements de biopsie du colon sont à transférer au laboratoire dans un délai maximum de :
 - 2 heures à température ambiante pour une bactériologie courante, culture virale ou analyses par PCR,
 - sinon, ils pourront être conservés pendant maximum 12 heures entre 2-8 °C

22. Les prélèvements systématiques périnataux

a. Considération générale

L'analyse des prélèvements réalisés en période périnatale immédiate a pour but de diagnostiquer les infections néonatales « précoces ». Toute suspicion d'infection materno-fœtale (IMF) est une urgence thérapeutique.

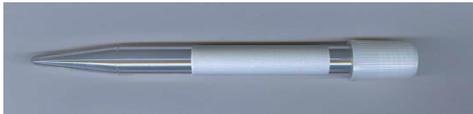
Les prélèvements doivent être effectués chez le nouveau-né :

- lorsqu'il existe un problème infectieux maternel ou
- si l'accouchement a eu lieu dans un contexte à risque infectieux ou
- si l'examen du nouveau-né laisse suspecter une infection néonatale.

Remarque : Le portage vaginal ou la bactériurie pendant la grossesse à *Streptococcus agalactiae* n'est pas une indication dans la mesure où une antibioprofylaxie adaptée a été effectuée chez la mère lors de l'accouchement.

Lors de l'envoi des prélèvements du nouveau-né, il est nécessaire de préciser le lien parental entre l'enfant et la mère afin que la correspondance entre les résultats positifs chez l'un et l'autre puisse être facilement établie.

b. Le matériel de prélèvement

	Culturette avec embout blanc : Milieu de transport universel pour culture bactériologique
OU	ou
	Portagerm Amies Agar : Milieu de transport si une recherche spécifique de germes anaérobies est demandée
	Tube stérile sans additif

c. Technique de prélèvement

i. Liquide gastrique

Quelques millilitres sont prélevés stérilement par aspiration à l'aide d'une sonde gastrique et mis dans un tube stérile. Le liquide gastrique du nouveau-né reflète approximativement le contenu bactérien du liquide amniotique

Idéalement le prélèvement se fait en salle de naissance pendant les 12 premières heures de vie.

ii. Prélèvements périphériques

Effectuer 2 prélèvements par écouvillonnage à l'aide d'écouvillons stériles des cavités naturelles ou de la peau du nouveau-né (conduit auditif externe, narines, bouche, yeux, ombilic ou anus) au plus près de l'accouchement.

Idéalement le prélèvement se fait en salle de naissance pendant les 12 premières heures de vie.

iii. Prélèvements de placenta (si suspicion de listériose néonatale)

- Prélever des carottes placentaires d'environ 1 cm² au niveau des zones macroscopiquement anormales ou, à défaut, près du site d'insertion du cordon. Le(s) morceau(x) de placenta recueilli(s) est (sont) déposé(s) dans un (des) flacon(s) stérile(s)
- Réaliser deux frottis par grattage : l'un sur la face amniotique et l'autre sur la face maternelle du placenta

iv. Cas particuliers

1. Prélèvements conjonctivaux

En cas de conjonctivite néonatale, effectuer le prélèvement à l'aide d'écouvillons stériles sur milieu de transport adaptés en fonction des germes suspectés. Idéalement ces prélèvements sont effectués :

- avant tout traitement local ou en généralement à distance de toute toilette oculaire
- par frottement doux de la conjonctive de l'angle extérieur vers l'angle intérieur de l'œil

2. Prélèvements respiratoires pour la recherche de mycoplasmes

Ce prélèvement est conseillé chez le nouveau-né prématuré : recueillir les sécrétions broncho-pulmonaires dans un pot stérile ou à l'aide d'un écouvillon stérile.

3. Autres types de prélèvements

- Hémocultures : se référer au chapitre « prélèvement des hémocultures »
- LCR : se référer au chapitre « prélèvement des LCR »

4. Prélèvements chez la mère

Ces prélèvements peuvent être associés selon le contexte clinique : hémocultures, urines, prélèvements génitaux, prélèvement face maternel placenta

v. Transport et conservation

Les prélèvements doivent être acheminés endéans les 2 heures au laboratoire à température ambiante.

23. Les prélèvements de dépistage – portage – recherche des bactéries multi-résistantes

a. Considération générale

Le terme « Bactéries multi-résistantes » ou « BMR » regroupe un ensemble de bactéries hétérogènes tant du point de vue du risque épidémique que de l'accumulation de mécanismes de résistance naturels ou acquis. Classiquement sont regroupés sous le terme BMR :

- Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (MRSA = SARM)
- Entérobactéries productrices de β lactamases à spectre étendu (entérobactéries – BLSE ou ESBL)
- Entérocoques résistants aux glycopeptides (VRE ou ERV ou ERG)
- Bacilles à Gram (BGN) tels que les entérobactéries, les pseudomonas spp et les acinetobacter spp producteurs de carbapénèmes (CPE)
- Pseudomonas aeruginosa résistant à la ceftazidime (PARC)
- Acinetobacter baumannii multi-résistant aux bêta-lactamines (ABMR)
- Staphylococcus aureus de sensibilité réduite aux glycopeptides (GISA)

L'objectif est de connaître le statut des patients vis à vis des BMR afin :

- de mettre en œuvre des précautions de prévention complémentaires en plus des précautions standard en vigueur (dépistage d'entrée)
- d'identifier rapidement une transmission croisée au sein d'un secteur de soin (dépistage itératifs)
- de mesurer l'épidémiologie d'un secteur d'hospitalisation (dépistage à la sortie de l'unité)
- de réaliser la décontamination nasale, cutanée ou digestive par exemple en préopératoire (dépistage avant geste invasif)

b. Le matériel de prélèvement

	Frottis avec embout blanc : Milieu de transport universel à utiliser en cas de prélèvements suivants : plis inguinaux - aisselles - gorge – anal -plaies
	Frottis fin avec embout vert: Milieu de transport universel tige fine réservé pour les prélèvements suivants : Nez

c. Technique de prélèvement

La politique de prélèvement est définie par l'équipe institutionnelle d'hygiène hospitalière.

i. Qui prélever ?

- Patient hospitalisé dans les services à risque élevé de transmission croisée
- Patient transféré de services, hôpitaux, régions, pays à forte incidences de BMR
- Patient à haut risque d'infection (dialysés chroniques, porteurs de cathéter central de longue durée,...)
- Patient devant bénéficier d'une chirurgie cardiaque ou orthopédique programmée et venant de l'unité de réanimation, de secteur de long et/ou de moyen séjour ou en cas de lésions chroniques.
- Patient ayant présenté antérieurement une infection ou une colonisation à BMR
- Contact de cas connus dans un contexte épidémique

ii. Quand prélever ?

- Le plus souvent le dépistage se fait à l'entrée du patient dans l'unité de soin.
- La fréquence de prélèvement en cours d'hospitalisation est fonction de la durée moyenne de séjour et est définie selon les recommandations de l'équipe de l'hygiène hospitalière
- De même, en cas de situation épidémique, la fréquence de dépistage s'effectuera selon un rythme défini par l'équipe d'hygiène hospitalière.

Remarque : Le dépistage systématique dans des secteurs de soins à faible fréquence de BMR n'est pas recommandé

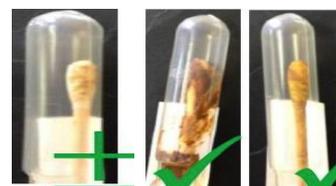
ii. Quels sites prélever ?

Les BMR colonisant les muqueuses, le prélèvement de dépistage est réalisé au niveau des muqueuses naso-pharyngées / rectales :

- Ecouvillonnage nasal et/ou gorge, associé à un site cutané complémentaire (exemple : plis inguinaux ou aisselles pour la recherche de MRSA).
- Ecouvillonnage anal pour la recherche des entérobactéries ESBL, des VRE, des bacilles Gram négatif producteurs de carbapénèmases, PARC, ABMR
- Ecouvillonnage d'une plaie chronique pour la recherche des MRSA, enterobactéries ESBL, BGN producteurs des carbapénèmases, PARC, ABMR
- Prélèvement de gorge ou aspiration trachéale pour la recherche de PARC, ABMR

i. Comment prélever ?

- Désinfecter soigneusement les mains avant le prélèvement
- Prélever avant toute toilette ou antiseptie, à l'aide d'écouvillons stériles
- Prélèvement nasal : frotter l'écouvillon au niveau de la partie antérieure des deux fosses nasales (un seul écouvillon pour les deux narines)
- Prélèvement des plis inguinaux ou axillaires : appliquer la partie cotonnée sur le site à prélever en effectuant plusieurs rotations pour récupérer le maximum de matériel biologique (un seul écouvillon pour les deux cotés)
- Prélèvement de gorge : le prélèvement est à faire de préférence à jeun. Utiliser un abaisse-langue pour dégager le pharynx en faisant émettre le son « A » au patient. Procéder à l'écouvillonnage du pharynx et des amygdales tout en prenant soin d'éviter tout contact salivaire
- Pour le **prélèvement anal** : Introduire l'écouvillon au niveau intra-rectal profond et recueillir des matières fécales (visibles à l'œil nu)



Attention : Un simple écouvillonnage de la marge anale ne suffit pas car tout écouvillonnage blanc ou peu chargé peut engendrer des résultats faussement négatifs.



- En cas de recherche concomitante de VRE, de BLSE ou de carbapénèmases, il est préférable de prélever autant d'écouvillons que de recherche demandée
- Identifier clairement chaque écouvillon en précisant le site de prélèvement
-

ii. Cas particuliers

- En présence d'un dispositif intratrachéal, le prélèvement de gorge est remplacé par des sécrétions provenant de l'aspiration trachéale
- En cas de stomie, le prélèvement sera effectué par écouvillonnage de l'orifice de la stomie
- L'écouvillonnage des sites autres que ceux cités ci-dessus peuvent être effectués suivant les recommandations de l'équipe d'hygiène hospitalière (dans ces cas il est crucial de noter clairement sur la prescription le site de prélèvement et le type de BMR recherché)

iii. Transport et conservation

Les prélèvements doivent être acheminés au laboratoire à température ambiante endéans les 24 heures.

24. Prélèvements chez le couple infertile (laboratoire de PMA)

a. Considérations générales

Le laboratoire de PMA traite deux types de prélèvements :

- Prélèvements à visée diagnostique
 - Sperme éjaculé
 - Spermogramme/spermocytogramme
 - Contrôle après vasectomie
 - Test de migration survie (en deuxième intention)
 - MAR-test (en deuxième intention)
 - Spermoculture
 - Biochimie séminale (fructose, acide citrique, zinc, L-carnitine et alpha-glucosidase, sous-traité par CERBA)
 - Fragmentation de l'ADN (sous-traité par BIOMNIS)
 - Urines (pour la recherche d'une éjaculation rétrograde)
 - Mucus cervical

Prélèvements réalisés exclusivement au laboratoire de PMA, sur prescription médicale et sur rendez-vous.

- Prélèvements à visée thérapeutique
 - Sperme éjaculé (au laboratoire de PMA)
 - Spermatozoïdes prélevés chirurgicalement (au bloc opératoire CHL ou hôpitaux conventionnés)
 - Liquides folliculaires (au bloc opératoire CHL ou hôpitaux conventionnés)

Prélèvements réalisés exclusivement après concertation clinico-biologique.

b. Le matériel de prélèvement

Le matériel de prélèvement est fourni par le laboratoire de PMA. Pour le sperme éjaculé (et les urines), il s'agit d'un réceptacle stérile testé quant à sa non-toxicité pour les spermatozoïdes ; pour le mucus cervical, il s'agit d'un dispositif de type Aspiglaire.

La description du matériel utilisé au bloc opératoire pour le prélèvement des liquides folliculaires ou des spermatozoïdes dans le testicule ou dans les voies génitales masculines n'entre pas dans le champ de ce manuel de prélèvement.

c. Technique de prélèvement

Selon l'analyse prescrite respecter les consignes suivantes :

- Spermogramme/spermocytogramme, spermoculture, migration-survie, MAR-test, biochimie séminale, fragmentation de l'ADN, contrôle après vasectomie
 - 2 à 7 jours d'abstinence sexuelle
 - Protocole d'hygiène expliqué individuellement le jour du prélèvement
 - Prélèvement par le patient (masturbation) dans une salle de recueil dédiée et spécifiquement équipée
- Recherche d'éjaculation rétrograde :
 - Boire de l'eau de Vichy la veille et le matin même de l'examen,

- Protocole d'hygiène expliqué individuellement le jour du prélèvement
 - Prélèvement de sperme par le patient (masturbation) dans une salle de recueil dédiée et spécifiquement équipée
 - Recueil d'urines après masturbation
 - Test de Hühner
 - rapport sexuel 9 à 14 heures avant le RDV (jour du cycle défini par le prescripteur)
 - Prélèvement chirurgical de spermatozoïdes (TESE...) et liquides folliculaires
 - Prélèvements réalisés exclusivement après concertation clinico-biologique (hors champ du manuel de prélèvement)
- De rapporter le jour du RV : l'ordonnance médicale, sa carte d'identité et la carte de

25. Matériel pour prélèvement biologique

Voir sur l'Intranet : [Laboratoire – 8\) Matériel de prélèvement](#)

26. Conditions spéciales

a. Tests dynamiques

i. Test au lactose

Objectif : cette épreuve a pour objectif de dépister une déficience de la lactase intestinale transformant le lactose en glucose et galactose. Une déficience en lactase, d'origine congénitale (très rare) ou acquise (baisse physiologique avec l'âge ou due à la maladie coeliaque, sprue tropicale, gastro-entérite aiguë) ne permet plus à l'intestin de métaboliser le lactose qui s'accumule dans la lumière intestinale. Ceci peut provoquer des symptômes comme des crampes abdominales et de la diarrhée.

Principe : on administre per os une dose de 50 g de lactose sous forme d'une solution et on mesure l'élévation de la glycémie produite.

Conditions :

Le patient être à jeun depuis 8 heures au moins (l'ingestion d'eau est permise) et ne pas avoir suivi de régime particulier les jours précédents. Le patient doit rester au repos durant toute l'épreuve.

Protocole :

T0 : prélèvement sanguin (tube fluoré, bouchon gris) avant ingestion de 50 g de lactose dans un verre d'eau.

T30 et T60 : prélèvement sanguin veineux (tube fluoré, bouchon gris) pour dosage du glucose au temps 30 et 60 minutes.

IDENTIFIER LES TUBES PAR T0, T30 et T60 !

Immédiatement après chaque prélèvement, faire acheminer le tube au laboratoire sans attendre le prélèvement du prochain temps. En cas d'acheminement groupé des tubes au laboratoire, stocker les tubes au frigo à 4°C.

Interprétation :

Dans le cas d'une augmentation de la glycémie <20 mg/dl une intolérance au lactose est probable, surtout si des complications intestinales se sont manifestées au cours du test chez le patient

ii. Test d'HyperGlycémie Orale Provoquée (HGPO)

Objectif : cette épreuve consiste à évaluer la capacité de l'organisme à métaboliser le glucose. L'absorption d'une solution riche en glucides met à l'épreuve les réserves insuliniques de l'organisme. L'HGPO est utilisée dans le diagnostic du diabète et de l'intolérance aux hydrates de carbone.

Principe : on administre per os une dose de 75 g de glucides sous forme d'une solution et on mesure l'élévation de la glycémie produite.

Conditions : le patient doit être à jeun depuis 8 heures au moins (l'ingestion d'eau est permise) et n'avoir pas suivi de régime particulier les jours précédents. Le patient doit rester au repos durant toute l'épreuve.

Exclusions : ce test ne doit pas être réalisé chez les patients avec un diabète connu, les patients qui ont subi un gastric by-pass ou une sleeve gastrectomy ainsi que les patients ayant reçu une injection de corticoïdes lors des 7 derniers jours

Protocole :

T0 : prélèvement sanguin veineux (tube fluoré, bouchon gris) avant ingestion de la solution glucosée (75 g pour adulte, 1.75 g/ kg pour un enfant avec un maximum de 75 g).

T30 (si demandé), T60, T90 (si demandé), T120, T150 (si demandé) et T180 (si demandé) : prélèvement sanguin veineux (tube fluoré, bouchon gris) pour dosage du glucose aux temps demandés sur la prescription.

IDENTIFIER LES TUBES PAR T0, T30, T60, T90, T120, T150 et T180
Immédiatement après chaque prélèvement, faire acheminer le tube au laboratoire sans attendre le prélèvement du prochain temps. En cas d'acheminement groupé des tubes au laboratoire, stocker les tubes au frigo à 4°C.

En cas de prescription d'insuline et de C-peptide, prélèvement sanguin veineux d'un tube sec (bouchon rouge) supplémentaire pour les temps concernés.

Interprétation :

Selon ADA (American Diabetes Association 2018) :

< 140 mg/dl de glucose : épreuve normale

140 - 199 mg/dl de glucose : prédiabète

>=200 mg/dl de glucose : diabète

Valeurs normales pour femme enceinte : T0 glucose < 92 mg/dl
T60 glucose < 180 mg/dl
T120 glucose < 153 mg/dl

Si un de ces seuils est dépassé cela équivaut à un diagnostic de diabète gestationnel.

iii. Test O'Sullivan

Objectif : cette épreuve consiste à évaluer la capacité de l'organisme à métaboliser le glucose. L'absorption d'une solution riche en glucides met à l'épreuve les réserves insuliniques de l'organisme. Le test O'Sullivan est utilisé dans le diagnostic du diabète gestationnel.

Principe : on administre per os une dose de 50 g de glucides sous forme d'une solution et on mesure l'élévation de la glycémie produite.

Conditions : l'épreuve doit se faire entre la 24e et la 28e semaine de grossesse. Le jeûne n'est pas obligatoire.

Protocole :

T0 : prélèvement sanguin veineux (tube fluoré, bouchon gris) avant ingestion de la solution glucosée (50 g).

T60 : prélèvement sanguin veineux (tube fluoré, bouchon gris) pour dosage du glucose après 60 minutes

IDENTIFIER LES TUBES PAR T0 et T60 !

Immédiatement après chaque prélèvement, faire acheminer le tube au laboratoire sans attendre le prélèvement du prochain temps. En cas

d'acheminement groupé des tubes au laboratoire, stocker les tubes au frigo à 4°C.

Interprétation :

Résultat normal : < 130 mg/dl de glucose (seuil recommandé par le Collège des Gynécologues Obstétriciens pour une sensibilité de 90% d'identification des diabètes gestationnels). Un seuil de 140 mg/dl est aussi utilisé pour une sensibilité de 80% avec moins de faux positifs.

> 200 mg/dl : diabète gestationnel

Entre 130 et 200 mg/dl une exploration par HGPO 75 g est conseillée.

iv. Test au TRH (Thyrotropin Releasing Hormon)

Principe : Le test au TRH stimule de façon physiologique la production hypophysaire de TSH et de prolactine et sert à explorer l'axe thyroïdote et l'axe lactotrope.

Exclusions : le test ne doit pas être réalisé chez les femmes enceintes, les patients souffrant d'infarctus du myocarde à la phase aiguë ou d'un angor instable ainsi que chez des patients épileptiques.

Protocole :

- T-30 : prélèvement sanguin veineux (tube sec, bouchon rouge) 30 minutes avant l'administration de TRH pour dosage de TSH et, le cas échéant, prolactine.

- injection au temps 0 de 200 µg IV de TRH

- T0, T30 et T60 : prélèvement sanguin veineux (tube sec, bouchon rouge) immédiatement après l'injection de TRH ainsi qu'aux temps 30 minutes et 60 minutes après l'injection pour dosage de TSH et, le cas échéant, prolactine.

IDENTIFIER LES TUBES PAR T-30, T0, T30 et T60 !

Les tubes de prélèvements peuvent être stockés au frigo jusqu'à la fin de l'épreuve avant de les acheminer au laboratoire.

Effets secondaires :

sensation de chaleur, flush, nausées, sensation vertigineuse, céphalées, sécheresse buccale

rarement : variations de la pression artérielle, nécrose d'adénomes hypophysaires, réaction d'hypersensibilité à la TRH (angio-oedème, bronchospasme), convulsions

Interprétation :

Axe thyroïdote : lors d'une réponse normale, le taux de TSH est multiplié au moins par 2.5. Dans les adénomes thyroïdotes, la TSH est non stimulable. A l'inverse, on observe une élévation de la TSH en cas de résistance hypophysaire aux hormones thyroïdiennes.

v. Test LHRH (LH Releasing Hormone, gonadolibérine)

Objectif : le test au LHRH explore la fonction sécrétoire de l'hypophyse gonadotrope

- chez la femme : exploration d'une stérilité, d'une aménorrhée, spaniomérorrhée, dysménorrhée avec ou sans hirsutisme, à la recherche d'une aménorrhée d'origine haute, d'une dystrophie ovarienne polykystique

- chez l'homme : exploration des hypogonadismes hypogonadotropes
- chez l'enfant : exploration d'un hypogonadisme hypogonadotrope, d'une puberté précoce ou retardée

Principe : injection de 100 µg de l'hormone hypothalamique LHRH qui stimule la sécrétion hypophysaire des gonadotrophines LH et FSH. L'évolution des taux sériques de ces hormones est suivi dans le temps.

Conditions : le patient doit être à jeun depuis au moins 8 heures et au repos depuis 30 minutes. Le test se fait entre J2 et J5 du cycle chez la femme réglée et sans traitement oestroprogestatif, à n'importe quel moment chez la femme en aménorrhée

Exclusions : le test ne doit pas être réalisé chez les femmes enceintes

Protocole :

- T-15 : prélèvement sanguin veineux (tube sec, bouchon rouge) 15 minutes avant l'administration de LHRH pour dosage de LH et FSH et, le cas échéant, surtout pour les tests pédiatriques, d'autres paramètres comme oestradiol (fille), testostérone (garçon), DHEAS et 17-OH progestérone
- T0 : prélèvement sanguin veineux (tube sec, bouchon rouge) au temps 0 pour dosage de LH et FSH et injection de 100 µg IV (adulte) ou 100 µg/m² de surface corporelle, sans dépasser 100 µg (enfant) de LHRH immédiatement après le prélèvement
- T30 et T60 : prélèvement sanguin veineux (tube sec, bouchon rouge) aux temps 30 minutes et 60 minutes après l'injection pour dosage de LH et FSH

IDENTIFIER LES TUBES PAR T-15, T0, T30 et T60 !

Les tubes de prélèvements peuvent être stockés au frigo jusqu'à la fin de l'épreuve avant de les acheminer au laboratoire.

Interprétation :

Une réponse au test est normale si le taux de base de FSH est multiplié par 1.5 à 2.0 et le taux de LH par 3 à 4.

La réponse est variable selon l'âge: avant la puberté chez le garçon, l'élévation des deux gonadotrophines est très limitée. Chez la fille, une réponse de la FSH est observée, celle de la LH n'apparaît qu'à la puberté. Chez la femme réglée, la réponse de la FSH est faible en phase folliculaire, celle de la LH est très marquée pendant la période ovulatoire immédiate (pic de 80 - 100 U/l), elle se réduit en période post-ovulatoire.

vi. Test au SynACTHen

Objectif : confirmation de la suspicion d'insuffisance surrénalienne ou détection d'un "late onset" - AGS (syndrome adrénogénital)

Principe : détermination de la réponse des surrénales à une stimulation intraveineuse de 0.25 mg de Synacthen (peptide de synthèse 1-24 de l'ACTH humaine) par la détermination du dosage sérique du cortisol et, le cas échéant, de la 17OH-progestérone. Un dosage de l'ACTH basale est recommandé.

Conditions : aucune disposition particulière, le patient n'a pas besoin d'être à jeun. Une éventuelle corticothérapie est à suspendre selon

avis de l'endocrinologue traitant. Une période de 15 minutes de repos est à respecter avant l'épreuve qui se déroule en position assise ou couchée.

Protocole :

- T0 : prélèvement sanguin veineux (tube sec, bouchon rouge) au temps 0 pour dosage de cortisol et, le cas échéant, 17-OH progesterone et injection de 0.25 mg de Synacthen immédiatement après le prélèvement. Si un dosage d'ACTH est demandé au temps 0 un tube EDTA (bouchon mauve) supplémentaire est prélevé et acheminé immédiatement à froid au laboratoire.

- T30, T60 et T90 : prélèvement sanguin veineux (tube sec, bouchon rouge) aux temps 30, 60 et 90 minutes après l'injection pour dosage de cortisol et, le cas échéant de 17OH-progesterone. Pour des épreuves pédiatriques les temps de prélèvement peuvent varier et notamment aller jusqu'à 120 minutes.

IDENTIFIER LES TUBES PAR T0, T30, T60 et T90 !

Les tubes de prélèvements pour cortisol et 17-OH progesterone peuvent être stockés au frigo jusqu'à la fin de l'épreuve avant de les acheminer au laboratoire.

Interprétation:

Dans le cas d'une augmentation de la cortisolémie > 100 ng/ml 60 minutes après l'injection de Synacthen, une insuffisance surrénalienne peut être exclue. On observe une augmentation excessive de la cortisolémie dans le cas d'un syndrome de Cushing ACTH-dépendant.

b. Conditions pré-analytiques particulières (délai d'acheminement, température, abri de la lumière)

Les précautions pour le transport des échantillons sont détaillées dans le catalogue des analyses publié sur l'Intranet du CHL (<http://labotools.ad.chl.lu/laboratoire/?catalogue>).

Les examens non-cités dans le tableau ci-dessous sont à acheminer au laboratoire concerné dans un délai raisonnable (dans les 4 heures) à **température ambiante entre 15°C et 30°C**.

➤ **Liste des examens à acheminer rapidement endéans les 30 minutes et conditions pré-analytiques particulières**

Analyse	Matériel de prélèvement	Conditions
Acides aminés sanguins	Tube héparine (bouchon vert)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Acides aminés urinaires	Echantillon urinaire	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
ACTH	Tube EDTA (bouchon mauve)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
ADH / Vasopressine	Tube spécial à demander au laboratoire	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Agglutinines froides	1 tube sec (bouchon rouge) + 2 tubes EDTA (bouchon mauve)	Acheminement rapide entre 35°C et 38°C
Aldostérone	Tube EDTA (bouchon mauve)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Ammoniaque	Tube EDTA (bouchon mauve)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Calcitonine	Tube sec (bouchon rouge)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Calcium ionisé	Tube héparine (bouchon vert)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)

Complément total	Tube sec (bouchon rouge)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Erythropoïétine (EPO)	Tube sec (bouchon rouge)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Gastrine	Tube sec (bouchon rouge)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Glucose	Tube fluoré (bouchon gris)	Pour tout tube non centrifugé qui n'est pas acheminé au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement
Homocystéine	Tube sec (bouchon rouge)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Hydroxybutyrate	Tube sec (bouchon rouge)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Lactate	Tube fluoré (bouchon gris)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Tout examen sur liquide de ponction (LCR,...)	Tube stérile conique	Acheminement rapide à température ambiante
NSE	Tube sec (bouchon rouge)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Ostéocalcine	Tube sec (bouchon rouge)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Pyruvate	Tube EDTA (bouchon mauve)	Prendre rendez-vous avec le laboratoire pour déprotéiniser l'échantillon au lit du patient
Rénine	Tube EDTA (bouchon mauve)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Sérotonine sérique	Tube sec (bouchon rouge)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Vitamine 1,25-OH	Tube sec (bouchon rouge)	Acheminement rapide entre 2°C et 8°C (pochette réfrigérée)
Vitamine A	Tube sec (bouchon rouge)	A l'abri de la lumière (aluminium)
Vitamine B1	Tube EDTA (bouchon mauve)	A l'abri de la lumière (aluminium)
Vitamine B2	Tube héparine (bouchon vert)	A l'abri de la lumière (aluminium)
Vitamine B3	Tube héparine (bouchon vert)	A l'abri de la lumière (aluminium)
Vitamine B6	Tube EDTA (bouchon mauve)	A l'abri de la lumière (aluminium)
Vitamine B8 (H)	Tube sec (bouchon rouge)	A l'abri de la lumière (aluminium)
Vitamine B12	Tube sec (bouchon rouge)	A l'abri de la lumière (aluminium)
Vitamine C	Tube héparine (bouchon vert)	A l'abri de la lumière (aluminium)
Vitamine E	Tube sec (bouchon rouge)	A l'abri de la lumière (aluminium)
Vitamine K	Tube sec (bouchon rouge)	A l'abri de la lumière (aluminium)

➤ **Liste des examens à acheminer endéans les 2 heures**

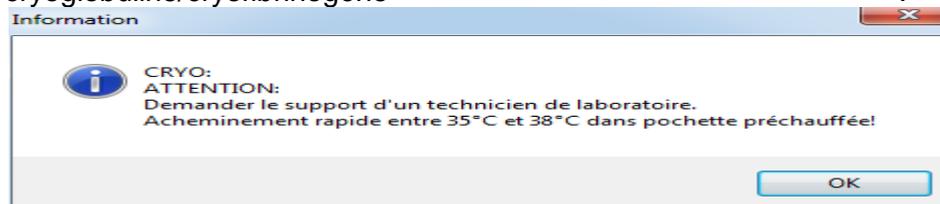
Analyses	Matériel de prélèvement	Délai d'acheminement
APTT	Tube citrate (bouchon bleu)	2 heures
D-dimères	Tube citrate (bouchon bleu)	1 heure
Facteurs de coagulation	Tube citrate (bouchon bleu)	1 heure
Fibrinogène	Tube citrate (bouchon bleu)	2 heures
PT	Tube citrate (bouchon bleu)	2 heures
Anti-Xa	Tube citrate (bouchon bleu)	1 heure
PFA	Tube citrate (bouchon bleu)	1 heure
Agrégation plaquettaire	Tube héparine (bouchon vert)	1 heure
Analyses	Matériel de prélèvement	Délai d'acheminement
Hémoculture	Tube aérobie, anaérobie, Isolator	1 heure

Les prélèvements de bactériologie (frottis, selles, expectoration,...) doivent arriver endéans l'heure pendant les heures d'ouverture du laboratoire de Microbiologie (07h-21h jours ouvrables, 7h-15h week-end et jours fériés). En dehors de ces heures, ils sont conservés dans l'unité de soin à température ambiante ou au frigo (chapitres 10 à 23).

➤ **Prélèvement d'un échantillon pour recherche de cryoglobuline/cryofibrinogène**

Le prélèvement ambulatoire pour la recherche des cryoglobulines/cryofibrinogène se fait exclusivement aux prises de sang du bâtiment Centre pendant les heures d'ouverture entre 7:00 - 15:00 h.

Message affiché lors de l'encodage dans Glims d'une cryoglobuline/cryofibrinogène :



Le laboratoire tient à disposition des pochettes isolantes maintenues à 37°C dans l'étuve 20028339 de la salle HM-E0-LAMI.

Le préleveur prévient le laboratoire en cas de demande de prélèvement de cryoglobuline/cryofibrinogène. Un technicien du laboratoire apporte 2 tubes secs sans gel pour cryoglobuline respectivement 2 tubes citratés pour cryofibrinogène (2 tubes dans l'éventualité d'un problème lors du prélèvement) dans la pochette à 37°C et équilibrés depuis minimum 10 minutes auprès du préleveur.

Le prélèvement se fait avec le tube à 37°C, le tube est identifié et mis immédiatement dans la pochette isolante pour être transporté rapidement vers le bloc chauffant à 37°C.

27. Annexes

Consignes pour la collecte des urines de 24h	: AN-PREL-023
Consignes pour la collecte des urines acidifiées de 24h	: AN-PREL-024
Consignes pour le prélèvement des urines (ECBU)	: AN-PREL-025
Consignes pour le prélèvement des expectorations	: AN-PREL-026
Consignes pour le prélèvement des selles	: AN-PREL-027
Consignes pour la recherche de sang dans les selles	: AN-PREL-028
Consignes pour la recherche de parasites dans les selles (Scotch test)	: AN-PREL-029
Consignes pour le prélèvement des urines chez les nourrissons	: AN-PREL-030
Consignes pour le prélèvement des urines : Cas particuliers	: AN-PREL-033
Fiche de préconisation pour le prélèvement de sperme au laboratoire de PMA	: SP-PMA-021
Fiche de préconisation pour le prélèvement de sperme au laboratoire de PMA	: SP-PMA-022
Questionnaire avant premier spermogramme	: FO-PMA-012