

Techniques de prélèvement

1. **Techniques de prélèvement chez l'homme**

Les laboratoires sont engagés depuis plusieurs années dans une démarche qualité qui respecte les exigences de la norme ISO 15189.

L'objectif étant d'assurer une fiabilité des résultats d'analyses au profit des patients, des prescripteurs et des établissements de soins utilisateurs des prestations des laboratoires.

La réalisation des examens de biologie clinique et d'anatomie pathologique comporte 3 étapes principales :

/ 1. **La phase pré-analytique** : elle inclut la prescription, la préparation du patient, le prélèvement, le conditionnement et les conditions de transport des échantillons jusqu'à leur prise en charge au laboratoire avant l'analyse.

/ 2. **La phase analytique (laboratoire)** correspond à l'ensemble des processus mis en place afin d'obtenir le résultat d'analyse.

/ 3. **La phase post-analytique (laboratoire)** concerne la transmission des résultats aux prescripteurs dans le respect de la confidentialité, l'élimination des déchets, la conservation des «échantillons et l'archivage des données.

Prescriptions EPIC

A.1. Préparation du matériel de prélèvement

- Choisir les tubes de prélèvement
- Coller les étiquettes à code-barres sur les tubes correspondants, verticalement. Laisser le niveau de remplissage visible.
- Choisir l'aiguille ou le butterfly adéquat (19 à 23 gauge).
- Choisir le matériel auxiliaire : /antiseptique, compresses, gel hydro-alcoolique/gants stériles, garrot, seringues
- Respecter les normes d'hygiène et sécurité entre chaque patient.
- Utiliser le conteneur et les sacs à élimination des déchets.

Techniques de prélèvement

- Le matériel nécessaire à la réalisation du prélèvement sera préparé avant le début du prélèvement.

A.2. Préparation du patient (patient et préleveur)

Le patient Doit : /être installé confortablement, en position assise ; /dans une pièce adaptée, calme et propre, porte fermée ; /dans un fauteuil à accoudoirs, à dossier inclinable, permettant une position allongée en cas d'incident, accessible des deux côtés.

Le préleveur Doit :

- être habilité à effectuer des prélèvements sanguins
- être formé à la prévention des risques biologiques
- avoir une présentation correcte et une bonne hygiène
- montrer une attitude professionnelle (calme ,rassurante et réservée) et une bonne gestion du stress
- être organisé, rapide et efficace
- prendre connaissance de la demande d'analyses et pouvoir expliquer l'acte et le but du soin au patient
- En cabine de prélèvement, revérifier l'identité du patient en lui demandant de décliner son nom, prénom, date de naissance et comparer ces données à celles qui figurent sur les étiquettes.

B. Analyses à effectuer à jeun

- ◆ Glucose (3h)
- ◆ Insuline
- ◆ C peptide
- ◆ Bilan lipidique (cholestérol) (12h)
- ◆ Urée, phosphore, fer
- ◆ Acide folique, CT X
- ◆ Enzymologie
- ◆ Immunologie
- ◆ Hormonologie

Techniques de prélèvement

A.3. Réalisation du prélèvement sanguin

VOIES DE PRELEVEMENT SANGUIN

- *Ponction veineuse
- * Ponction capillaire
- * Ponction artérielle
- *Cathéter veineux
- *Chambre implantable (PAC, PICLINE).

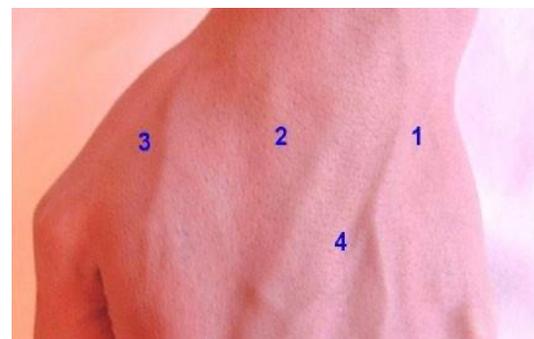
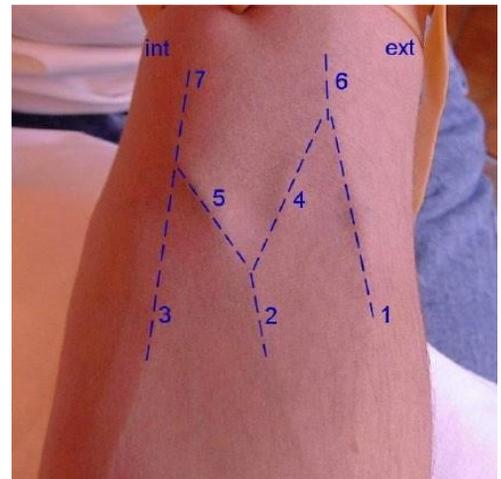
A.3.1. La ponction veineuse (les sites de ponction)

- les veines du **pli du coude**

- Veine radiale superficielle (1)
- Veine médiane (2)
- Veine ulnaire superficielle (3)
- Veine médiane basilique (5)
- veine céphalique (6)
- Veine basilique (7)

- les veines du **dos de la main**

- V. ulnaire ou v. radiale superficielle (1)
- V. ulnaire accessoire (2)
- V. radiale superficielle (3)
- Arcade palmaire (4)



A.3.2. Désinfecter

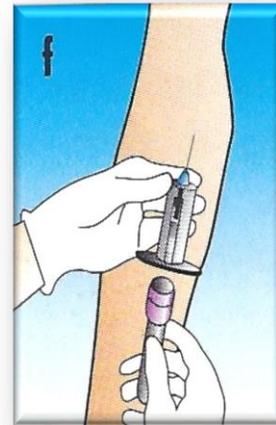
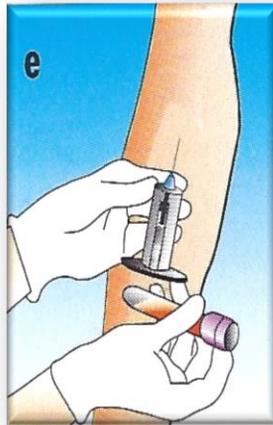
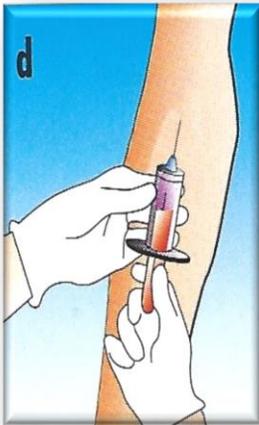
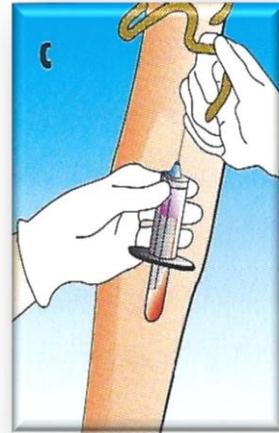
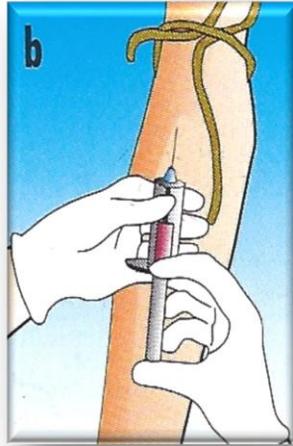
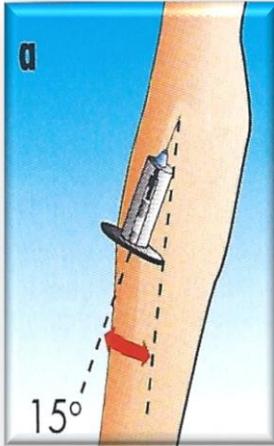
- ✓ le site de ponction
- ✓ le garrot
- ✓ les mains, entre chaque patient

Techniques de prélèvement

-Respecter l'**ordre des tubes** à prélever

- ✓ Pour les hémocultures :
 - * Port de gant obligatoire ;
 - * Prélever d'abord le flacon aérobie ;
- ✓ Appliquer le **garrot 10 cm au-dessus du point de ponction.**
- ✓ **Choisir et palper la veine** à ponctionner.
- ✓ **Vérifier le site** de ponction en fixant la veine et en appliquant des petites pressions avec l'index.
- ✓ Introduire l'aiguille dans la veine, sous un angle inférieur à 30°, biseau vers le haut, puis abaisser légèrement l'aiguille, parallèlement à la peau et pénétrer doucement la veine. (**voir figures suivantes**) :

Techniques de prélèvement



- ✓ Maintenir et immobiliser le corps de prélèvement avec le pouce et l'index de la main dominante.
- ✓ Introduire les tubes de prélèvements avec la main non dominante selon un ordre précis.
- ✓ Enlever le tube du corps de prélèvement

Techniques de prélèvement

- ✓ **Tout en maintenant l'aiguille (sans présence de tube), desserrer le garrot d'une main.**
- ✓ Demander au patient de desserrer le poing.
- ✓ **Retirer l'aiguille et comprimer le point de ponction pour éviter un hématome.**
- ✓ Jeter immédiatement l'aiguille dans le container à déchets.
- ✓ **Enlever et jeter les gants.**
- ✓ Eviter le pompage (l'exercice musculaire modifiant les résultats d'analyse)
- ✓ Changer de bras s'il faut recommencer la ponction veineuse.
- ✓ Eviter de ponctionner dans:
 - une veine sclérosée
 - un hématome
 - un bras avec fistule (shunt).
 - un bras du côté de la mastectomie (lymphoedème)
- ✓ Appliquer un pansement.
- ✓ Homogénéiser les tubes prélevés par des retournements lents à 180°.
- ✓ Jeter le matériel utilisé dans le sac jaune prévu à cet effet.
- ✓ Le préleveur doit s'assurer que le patient va bien et qu'il est apte à quitter la cabine.

2. Techniques de prélèvement chez l'animal

2.1.A. Prélèvement d'échantillons sur animaux vivants

Le prélèvement se diffère selon l'organe de l'animal :

- a) **Sang** Des prélèvements de sang peuvent être réalisés pour hématologie, pour mise en culture et/ou un examen direct pour identifier des bactéries, virus ou protozoaires auxquels cas, on ajoutera un anticoagulant comme l'acide tétra-acétique éthylène diamine (EDTA) ou de l'héparine. Si une sérologie est effectuée, l'échantillon de sang sera réalisé sur tube sec pour coagulation. Du plasma peut également être utilisé dans certaines analyses. L'échantillon de sang doit être prélevé le plus stérilement possible par ponction veineuse. On utilisera chez les grands mammifères la veine jugulaire ou une veine de la queue. Les veines de la glande mammaire ou des membres peuvent également être utilisées. La veine cave peut aussi être utilisée chez les porcs.

Chez les oiseaux, la veine alaire (veine brachiale) est généralement utilisée. Chez les petits animaux de laboratoires, la veine auriculaire ou la veine rétro-orbitale peut être choisie pour obtenir un échantillon de sang ou bien une ponction cardiaque peut être effectuée. L'échantillon de sang est prélevé au moyen d'une seringue et d'une aiguille ou à l'aide d'une aiguille reliée à une pompe à vide au moyen d'une tubulure (cette méthode n'est pas aisée pour les veines fines, mais donne de bons résultats pour les veines de gros calibre).

De petites quantités de sang peuvent être obtenues facilement par picotements avec une aiguille triangulaire à pointe solide. La peau à l'endroit de la ponction veineuse sera rasée (ou plumée) puis désinfectée avec de l'alcool à 70 % avant d'être séchée.

Pour les échantillons prélevés sur anticoagulant, il est nécessaire d'homogénéiser par agitation douce le plus vite possible le prélèvement réalisé.

Il peut être nécessaire de réaliser un frottis sur une lame de microscope à l'aide de sang frais ; un frottis épais ou un frottis fin peuvent être préparés. Pour un échantillon de sérum, le prélèvement est laissé à température ambiante (tout en étant protégé d'une température excessive chaude ou froide) pendant 1 à 2 h jusqu'au début de la rétraction du caillot. Le caillot est retiré par la suite avec une tige ou pipette stérile et le tube est conservé avec le sérum au réfrigérateur à 4°C. Après plusieurs heures, ou une nuit, l'échantillon peut être centrifugé à 1 000 g pendant 10 à 15 min et le sérum peut être décanté ou prélevé avec une pipette. Afin d'établir les variations du titre en anticorps, des échantillons de sérum doivent être prélevés en double, souvent entre 7 et 14 jours d'intervalle. Une méthode alternative à l'échantillonnage et le transport de sang destiné à un examen sérologique consiste à déposer une goutte de sang sur un papier filtre. Le sang est séché à température ambiante et l'échantillon peut être envoyé non réfrigéré. Le laboratoire doit être contacté pour s'assurer que cette méthode de collecte est valide pour les épreuves à effectuer.

- b) **Fèces** Au moins 10 g de fèces fraîchement émises doivent être sélectionnées. Les fèces destinées à un examen parasitologique doivent remplir le tube et arriver au laboratoire en 24 h.
- c) **Peau** Lors de maladie produisant des lésions vésiculeuses, un prélèvement de 2 g de tissu épithélial affecté est effectué aussi aseptiquement que possible et placé dans 5 ml d'un tampon phosphate à la glycérine ou dans un milieu de transport pour virus (bouillon de tryptose tamponné avec du Tris) à pH 7,6. De même un prélèvement de liquide de vésicules peut être effectué si celles-ci ne sont pas rompues ; si cela est possible, le liquide des vésicules doit être aspiré avec une seringue et conservé séparément dans un tube stérile. Des échantillons de poils ou de laine sont utiles pour la recherche d'acariens, de poux et les mycoses.

Des raclages cutanés profonds, en utilisant le fil d'une lame de scalpel sont utiles pour les acariens fouisseurs, et, pour les oiseaux, les (racines) pointes des plumes peuvent être prélevées pour une détection d'antigènes viraux lorsque la maladie de Marek est suspectée

d) Tractus génital et sperme Des échantillons sont réalisés par lavage vaginal ou préputial, ou par écouvillonnage. Des écouvillonnages du col utérin ou de l'urètre peuvent être réalisés. Des échantillons de sperme sont obtenus plus facilement en utilisant un vagin artificiel ou une extrusion du pénis et une stimulation artificielle. La fraction riche en sperme doit être présente dans l'échantillon et une contamination sera évitée par des lavages en solutions antiseptiques. Un milieu de transport spécifique est souvent exigé.

e) Œil Un prélèvement de la conjonctive peut être réalisé en maintenant la paupière et en raclant délicatement la surface. L'écouvillon est ensuite placé dans un milieu de transport. Un raclage peut être effectué sur une lame de microscope. Les manches des écouvillons ayant un manche métallique sont pratiques pour prélever suffisamment de cellules pour l'examen microscopique. Les sécrétions nasales et lacrymales mucopurulentes sont rarement utiles.

f) Jetage nasal (salive et liquide lacrymal)

Des échantillons peuvent être prélevés avec des écouvillons en dacron, en coton ou avec une gaze, préférentiellement fixés sur une tige métallique car le bois n'étant pas flexible pourrait se rompre. Il peut être utile d'humidifier préalablement l'écouvillon avec le milieu de transport. Les écouvillons doivent être en contact avec les sécrétions pendant 1 min, puis ils sont placés dans un milieu de transport et envoyés immédiatement au laboratoire à la température de 4°C. Des écouvillons à longs manches protégés pour prélèvements nasopharyngés peuvent être utilisés lors de suspicion de quelques maladies virales.

g) Lait Des échantillons de lait doivent être prélevés après lavage et séchage de l'extrémité du trayon, mais les antiseptiques doivent être évités à cette étape. Le premier jet de lait doit être éliminé et un tube est rempli avec le lait qui est tiré par la suite. Un échantillon du réservoir de lait peut être utile dans certaines épreuves. Le lait destiné à des épreuves sérologiques ne doit pas avoir été congelé, chauffé ou soumis à des agitations violentes. S'il y a un certain délai dans l'expédition au laboratoire, des conservateurs peuvent être ajoutés dans les échantillons de lait

destinés à une analyse sérologique. Si cela est nécessaire, le lait prélevé en vue d'une analyse bactériologique pourra être congelé.

2.1.B. Prélèvement post mortem d'échantillons

Des échantillons de tissus provenant d'une grande variété d'organes peuvent être prélevés en post-mortem. Les procédures détaillées pour effectuer un examen post mortem et la collecte d'échantillons sont décrites dans la plupart des livres de pathologie ; un guide sur les procédures d'autopsie est nécessaire

Les techniques post mortem sont également incluses dans quelques guides nationaux.

Les prélèvements peuvent être envoyés secs au laboratoire ou en milieu de transport pour bactérie ou virus en fonction de l'examen exigé. Après la collecte, les échantillons pour examens microbiologiques doivent être réfrigérés jusqu'à leur expédition. Si l'expédition ne peut être faite sous 48 h, les échantillons doivent être congelés ; cependant, une conservation prolongée à -20°C peut nuire à l'isolement du virus.

