

**Institut Pasteur de la Guyane  
Laboratoire de biologie médicale**

*23 avenue Pasteur,  
BP 6010,  
97036, Cayenne Cedex*

Tél : 05 94 29 26 00

[www.pasteur-cayenne.fr](http://www.pasteur-cayenne.fr)

**MANUEL DE  
PRELEVEMENT**

Référentiel NF EN ISO 15189

## SOMMAIRE

<b>1. Présentation du laboratoire</b>	<b>3</b>
<b>ORGANISATION</b>	<b>3</b>
▫ LE SITE :	3
▫ LES MISSIONS :	3
<b>2. Renseignements préalables à notifier</b>	<b>4</b>
▫ Généralités	4
▫ Au près du patient :	4
▫ Avant le prélèvement :	4
▫ Bon de prescription ou DATH	4
▫ Rappel Hygiène et Sécurité	5
<b>3. Catalogue des analyses</b>	<b>5</b>
<b>4. Documents spécifiques aux CNR et au LIVH</b>	<b>5</b>
<b>5. Analyse des mycobactéries</b>	<b>5</b>
▫ Généralités	5
▫ Les prélèvements d'origine pulmonaires	6
▫ Les prélèvements d'origine extra-pulmonaire	7
▫ Recherche de bacilles de Hansen (Mycobacterium leprae)	8
<b>6. Identification des prélèvements</b>	<b>9</b>
<b>7. Conditions de transport des échantillons</b>	<b>9</b>
Cas des CNR et du LIVH	10
Cas des mycobactéries	10
<b>8. Réception des prélèvements au laboratoire et conditions d'acceptabilité</b>	<b>10</b>
<b>9. Réalisation des analyses et rendu de résultat</b>	<b>10</b>
▫ Réalisation des analyses	10
▫ Rendu des résultats	11
<b>10. Stockage et conservation des échantillons</b>	<b>11</b>
<b>11. Analyses complémentaires</b>	<b>11</b>

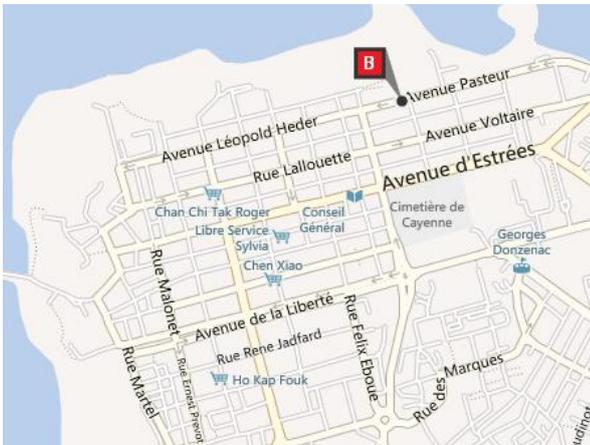
## 1. PRESENTATION DU LABORATOIRE

### ORGANISATION

#### ❖ LE SITE :

Le laboratoire de biologie médicale de l'Institut Pasteur de Guyane (IPG) est situé au 23 avenue Pasteur, 97300 Cayenne. Il regroupe les services suivants :

- Le laboratoire de la Tuberculose et des Mycobactéries (LTM)
- Le laboratoire Interactions Virus – Hôtes (LIVH) pour le génotypage des résistances du VIH-1 aux antirétroviraux.
- Les CNR des arbovirus, des virus des infections respiratoires, des hantavirus et du paludisme.



Le **secrétariat** est destiné à accueillir les coursiers (interne et externe). Les prélèvements extérieurs effectués par des professionnels de santé et les laboratoires avec lesquels nous travaillons dans le cadre des contrats de collaboration sont réceptionnés au secrétariat (ou aux CNR).

**Horaires d'ouverture de l'accueil (secrétariat) :** 7h – 14h du lundi au vendredi

- Tél : +594 (0)594 29 26 00

#### ❖ LES MISSIONS :

Le laboratoire de biologie médicale (LBM) de l'Institut Pasteur de la Guyane existe depuis la création de l'Institut et fait l'objet d'une autorisation d'exercice délivrée par l'Agence Régionale de Santé [Arrêté 01-04-2016 LBM IPG].

Il est en charge de :

- Fournir les informations nécessaires aux bonnes conditions de réalisation des prélèvements.
- L'enregistrement, la réalisation et la validation des analyses.
- La transmission des résultats aux prescripteurs.

L'activité du laboratoire de la Tuberculose et des Mycobactéries (LTM) porte sur :

- La recherche et le diagnostic des mycobactéries (tuberculose et mycobactéries atypiques).
- La participation active à la surveillance épidémiologique de la tuberculose en Guyane.
- La participation à des actions de recherche dans le cadre de programmes de collaborations locales (Guyane), nationales ou internationales.

L'activité de génotypage VIH (LIVH) porte sur :

- La recherche de mutations responsables de la résistance aux différents antirétroviraux dans le traitement du VIH.
- La surveillance épidémiologique active des résistances aux antirétroviraux en Guyane.

L'activité du CNR virologie porte sur :

- La surveillance virologique avec caractérisation des virus circulants.
- La participation à la surveillance épidémiologique des arbovirus, hantavirus et virus respiratoires en Guyane.
- Un rôle d'expertise et de conseils auprès des autorités de santé.

L'activité du CNR de parasitologie porte sur :

- La recherche de résistance des *Plasmodium* aux antipaludiques.
- La surveillance épidémiologique du niveau de résistance des parasites aux antipaludiques.
- L'élaboration de recommandations contenues dans les plans de lutte contre le paludisme en Guyane ou dans les recommandations nationales de prise en charge.

Le laboratoire de Biologie médicale est engagé dans une démarche qualité selon la norme NF EN ISO 15189 (n° 8-3373).

Les **coordonnées** des différents correspondants sont disponibles dans le catalogue des analyses (cf. <http://www.pasteur-cayenne.fr>)

## 2. RENSEIGNEMENTS PREALABLES A NOTIFIER

### ❖ GENERALITES

Ces consignes sont destinées aux préleveurs et aux laboratoires transmetteurs. En l'absence de respect de ces consignes, un échantillon peut être **refusé**.

### ❖ AUPRES DU PATIENT :

Avant la réalisation du prélèvement, veillez à bien vérifier **l'identité du patient** (nom usuel, prénom, nom de naissance, date de naissance, sexe)

Vérifier **l'orthographe**.

Informez le patient au sujet du soin et de sa finalité.

### ❖ AVANT LE PRELEVEMENT :

Vérifier la prescription médicale.

Vérifier que les informations demandées sur le bon de prélèvement sont correctement remplies.

Vérifier le matériel nécessaire (cf. ci-après), le préparer en avance et vérifier leur **date de péremption**.

### ❖ BON DE PRESCRIPTION OU DATH

L'échantillon doit être **obligatoirement** accompagné de la **prescription** médicale ou du DATH, du bon du laboratoire et de la **fiche de renseignements** pour les CNR et le LIVH (Documents spécifiques aux CNR et au LIVH).

Les informations indispensables sur la prescription (ordonnance, fiche de prescription, bon de laboratoire, fiches de renseignements) sont les suivantes :

- **Identification univoque du patient ou Etiquette informatique**

Nom, Nom de naissance, Prénom, Sexe, Date de naissance

Numéro de référence (si bon de laboratoire)

- **Identification univoque du prescripteur :**

Identification prescripteur

Date de prescription

- **Identification univoque du préleveur :**

Identification préleveur

Date et heure de prélèvement

- **Analyse prescrite**

Liste des analyses

Type d'échantillon prélevé et/ou site anatomique d'origine

Renseignements cliniques complémentaires (immunodépression, suspicion de mycobactéries atypiques)

Renseignements biologiques complémentaires (PCR *M. tuberculosis*, cellularité pour liquides de ponction et LCR, résultats bactériologiques éventuels).

Tout renseignement absent peut être considéré comme une **non-conformité** et le laboratoire peut **refuser** de traiter l'échantillon.

#### ❖ **RAPPEL HYGIENE ET SECURITE**

Le personnel préleveur doit s'équiper de gant (et/ou de masque) à usage unique lors du prélèvement.

Réaliser un lavage simple des mains et/ou une désinfection par friction avec un produit hydro alcoolique avant et après prélèvement.

Eliminer l'ensemble du matériel de prélèvement dans les collecteurs adaptés.

Ranger le matériel, nettoyer le plan de travail en fin de prise en charge du patient.

### **3. CATALOGUE DES ANALYSES**

Pour les professionnels de santé, notre **catalogue des analyses** se trouve sur notre site internet (cf. <http://www.pasteur-cayenne.fr>), vous y trouverez tous les renseignements utiles.

### **4. DOCUMENTS SPECIFIQUES AUX CNR ET AU LIVH**

Pour les CNR (Arbovirus, virus des infections respiratoires, hantavirus et paludisme) et le LIVH (génotypage des résistances du VIH-1 aux antirétroviraux), vous devez consulter sur notre site internet (cf. <http://www.pasteur-cayenne.fr>), leurs **conditions générales de prestations analytiques**, vous y trouverez également les **fiches de renseignements** qui sont à compléter et à joindre à chaque échantillon.

### **5. ANALYSE DES MYCOBACTERIES**

#### ❖ **GENERALITES**

L'excrétion des mycobactéries est intermittente, il est donc important d'effectuer plusieurs prélèvements. Il est recommandé d'effectuer **3 prélèvements** avant la mise en route du traitement.

Dans le cadre du diagnostic, les prélèvements doivent être réalisés avant mise sous antibiotique quel qu'il soit. Dans le cadre du suivi, le traitement antituberculeux sera indiqué sur le bon de prescription.

Le risque de contamination par d'autres bactéries dans les échantillons non stériles est important. Il convient d'acheminer les échantillons le plus **rapidement** possible au laboratoire (<2h à T° ambiante). En cas de délai plus important (**jusqu'à 72h**), les échantillons doivent être conservés **entre + 2 - 8°C**.

## ❖ LES PRELEVEMENTS PULMONAIRES

### ▪ Les expectorations et sécrétions broncho pulmonaires

Les crachats doivent être recueillis :

**A jeun, au réveil** afin de récupérer les mucosités accumulées au cours de la nuit :

- Dans un pot ou un tube type Falcon de 50 mL stérile et vissable,
- Après un rinçage de la bouche à l'eau physiologique stérile. **NE PAS SE RINCER LA BOUCHE A L'EAU DU ROBINET**, qui peut contenir des mycobactéries non tuberculeuses,
- Dans un **effort de toux profonde** ou par kinésithérapie : en informant le patient de la finalité de l'examen pour l'inciter à produire des mucosités bronchiques et non pas seulement de la salive (qui peut diluer l'échantillon et le contaminer).
- d'une quantité de **5-10 mL**, minimum 2 mL
- répétés sur **3 jours**. Dans les cas évolués avec excavation pulmonaire, les expectorations peuvent être prélevées le même jour si la toux est très productive.

*Le risque de contamination étant élevé lorsque le malade tousse, le prélèvement doit être effectué à l'extérieur ou dans une pièce isolée devant une fenêtre ouverte et loin de toute personne.*

Chez les patients intubés, les sécrétions respiratoires peuvent être recueillies à partir de la sonde d'aspiration et seront traitées comme des crachats.

Le flacon ou le pot contenant l'échantillon doit être soigneusement fermé et doit être **acheminé le plus rapidement possible au laboratoire (< 2 h)**.

Identifier le(s) flacon(s) avec votre nom et prénom si cela n'a pas été fait par le laboratoire. Noter la date et l'heure du recueil.

### ▪ Tubage gastrique

Il permet de recueillir les sécrétions bronchiques pendant le sommeil.

- Doit être réservé aux **patients ne pouvant pas cracher**.
- **A jeun, au réveil**, chez un patient alité depuis la veille, ne s'étant pas levé pour éviter la vidange gastrique.
- D'une quantité de **2- 5 mL**.
- Répétés sur **2-3 jours**.

### ▪ Aspiration bronchique, LBA, biopsie

- Réalisé sous fibroscopie.
- Dans un pot stérile vissable
- D'une quantité de **2- 5 mL**.
- L'aspiration bronchique est à privilégier car elle dilue moins le prélèvement
- En cas de biopsie, si le délai de transport est > 24h, ajouter 2 à 3 gouttes d'eau physiologique stérile.

## ❖ LES PRELEVEMENTS EXTRA-PULMONAIRES

### ▪ Urines

Conseil de juste prescription :

Vérifier la présence d'une leucocyturie significative sauf chez les patients en aplasie et en l'absence de germes banals.

- Après une restriction hydrique la veille au soir.
  - Le volume des urines doit être de **20- 50 mL**.
  - Recueillir les urines de la première miction matinale afin d'avoir une concentration optimale de mycobactéries.
  - Sur 3 jours
- **Liquide de ponction (Liquide céphalo-rachidien (LCR), liquide articulaire, liquide d'ascite, pleural, amniotique...)**

Les ponctions doivent être réalisées dans les conditions de stérilité selon les recommandations de bonnes pratiques.

- Prélever dans des tubes à vis stériles.
- Plus la **quantité** prélevée est importante, plus l'échantillon est contributif (liquides paucibacillaires)
- Quantité minimale : 5 ml
- LCR : minimum 2 ml

### ▪ Hémocultures

Conseil de juste prescription :

Pour la recherche de tuberculose, uniquement en cas de formes généralisées chez les patients fortement immunodéprimés ou pour les patients immunocompétents uniquement en cas de forme pulmonaire avec un aspect de miliaire.

Pour la recherche de mycobactéries atypiques chez les patients fortement immunodéprimés ou sous immunosuppresseur au long cours ou en cas d'infection cardiovasculaire.

Les prélèvements sanguins sont transmis à un sous-traitant.

Pour la culture, il est recommandé de réaliser un prélèvement de 15 mL de sang sur tube hépariné (héparinate de Lithium sans gel séparateur) ou de répéter 3 jours de suite un prélèvement a minima de 5 mL.

Pour la PCR, sur tube EDTA pour (intérêt très limité du fait de la très faible quantité de bactérie circulante).

### ▪ Moelle osseuse

- Des frottis sont réalisés pour l'examen microscopique (2-4 lames)
- Culture : moelle osseuse recueillie sur tube hépariné (héparinate de Lithium sans gel séparateur) ou sur tube citraté, volume 2 ml.
- PCR : sur tube EDTA qui sera transmis à un sous-traitant.

### ▪ Selles

Conseil de juste prescription :

Intérêt limité du fait du fort risque de contamination par la flore fécale.

Peut avoir un intérêt chez certains patients immunodéprimés.

Dans les rares infections focalisées, il est recommandé d'effectuer une biopsie digestive.

Recueillies dans un pot stérile ; maximum taille équivalent à une noisette.

#### ▪ Biopsies, sécrétions pus

Les biopsies doivent être prélevées dans les conditions de stérilité selon les recommandations de bonnes pratiques.

Préciser la localisation anatomique.

Prélever dans un flacon stérile pour recueil d'urine ou de selles.

Si la biopsie est de petite taille, ajouter quelques gouttes de sérum physiologiques pour éviter la dessiccation.

Attention : **NE PAS** envoyer d'échantillon dans du FORMOL, **NI** dans une COMPRESSE.

#### ▪ Absès, lésions cutanées, plaies

Absès : ponctionnés après désinfection de la peau

Plaies et lésions cutanées :

- Prélever la périphérie des lésions.
- Privilégier la biopsie cutanée.

#### ❖ RECHERCHE DE BACILLES DE HANSEN (*MYCOBACTERIUM LEPRAE*)

*Mycobacterium leprae* (ou bacille de Hansen) est l'agent de la lèpre. Ce bacille est à ce jour non cultivable.

La recherche de BAAR (Bacilles Acido-Alcool Résistant) sur frottis peut être réalisée pour le dépistage de la lèpre à partir :

- D'un frottis nasal réalisé par curetage de la muqueuse pituitaire
- D'un frottis du lobe de l'oreille après incision au vaccinostyle et étalement sur une lame

La recherche de BAAR (Bacilles Acido-Alcool Résistant) sur frottis peut être réalisée pour le diagnostic de la lèpre à partir :

- Des biopsies cutanées peuvent être réalisées pour recherche de lèpre (examen transmis).
- La biopsie cutanée (biopsie punch de 3 ou 6 mm) d'une lésion est l'examen le plus fiable pour l'examen microbiologique par biologie moléculaire. Si besoin, plusieurs lésions peuvent être prélevées. Il est indispensable d'indiquer le site du prélèvements la carte dermatologique de la feuille de demande pour envoi au CNR de la lèpre).
  - En cas de rechute, une biopsie cutanée prélevée au scalpel (6mm) peut être plus informative.
  - Les échantillons sont à prélever en périphérie des lésions, et à mettre dans un tube sec stérile sans ajout et sans compresse.
- Des frottis dermiques des lobes d'oreille peuvent être faits si la technique est maîtrisée par l'opérateur. Les frottis sont étalés sur lames propres avec indication du nom du patient, date et site du prélèvement. Le suc dermique peut aussi être dilué dans 0,5 ml d'éthanol 70% (0,35 ml éthanol absolu+0,15 ml eau stérile distillée PPI).
- Prélèvement de mucus nasal sur écouvillon (type eSwab) : seulement en accord avec le CNR
- Remarque : les prélèvements de mouchage nasal ne peuvent être étudiés

Détection des anticorps anti-PGL-1 sur sang EDTA, seulement en accord avec le CNR.

## 6. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS

Bien identifier l'échantillon **immédiatement après** sa réalisation, **en présence** du patient au moyen **d'étiquettes informatiques** qui doivent mentionner au minimum : Nom usuel, Prénom, Nom de naissance, Date de naissance, Sexe. En cas de panne ou d'inaccessibilité du système informatique, écrire les informations **lisiblement** à la main sur le prélèvement.

Vérifier la concordance des informations sur l'ordonnance et le prélèvement.

**NE PAS OUBLIER** d'indiquer la date, l'heure, le nom du prescripteur et le nom du préleveur sur le bon.

Bien **séparer** le bon et les prélèvements dans la poche de transport.

## 7. CONDITIONS DE TRANSPORT DES ECHANTILLONS

Le délai d'acheminement doit être le plus court possible quel que soit le type d'échantillons.

La température recommandée pour le transport varie en fonction des analyses, se référer au **Catalogue des analyses** pour les modalités de transport particulières. Le non-respect des conditions de transport est une **non-conformité** et le laboratoire peut **refuser** de traiter le prélèvement.

## Cas des CNR et du LIVH

Pour les CNR (Arbovirus, grippe, hantavirus et paludisme) et le LIVH (génotypage des résistances du VIH-1 aux antirétroviraux), les conditions de transport sont détaillées sur notre site internet (cf. <http://www.pasteur-cayenne.fr>).

## Cas des mycobactéries

La réglementation internationale impose un emballage en 3 éléments :

- Le premier est le pot (ou autre) contenant le prélèvement en lui-même.
- Le second est le sachet qui contiendra le pot d'un côté.
- Le troisième est un bio conteneur



**La pochette contenant les prescriptions doit être à l'extérieur du conteneur.**

Dans le cas où les conditions citées ci-dessus ne sont pas respectées, la demande peut être **rejetée** (si la sécurité du personnel réceptionnant les échantillons est mise en jeu).

Le bio conteneur et la pochette sont ensuite placés dans une **mallette de transport UN3373**. Celle-ci contient un traceur de température (LOGTAG) et des pains de glace afin de garantir une température conforme durant toute la durée du transport jusqu'à l'Institut Pasteur de la Guyane.



### **8. RECEPTION DES ECHANTILLONS AU LABORATOIRE ET CONDITIONS D'ACCEPTABILITE**

Les échantillons sont déposés par coursier, interne ou externe à la réception de l'IPG.

**Seul le laboratoire prend la responsabilité d'accepter ou de refuser un échantillon.** Les échantillons répondant aux exigences de ce manuel sont directement intégrés au processus analytique. Les échantillons non conformes sont intégrés au processus de gestion des non-conformités et le laboratoire peut refuser de traiter un échantillon. En général, un nouveau prélèvement est recommandé.

### **9. REALISATION DES ANALYSES ET RENDU DE RESULTAT**

#### **❖ REALISATION DES ANALYSES**

Les analyses sont réalisées dans les différents services spécialisés de l'IPG. Certaines analyses ou étapes d'analyses sont externalisées (cf **Catalogue des analyses**).

## ❖ RENDU DES RESULTATS

### ▪ Délai de rendu

Le laboratoire met en œuvre les procédures nécessaires pour permettre un délai de rendu des résultats en adéquation avec les besoins cliniques. Les délais d'obtention de chaque analyse sont disponibles dans le **Catalogue des analyses**.

### ▪ Transmission des comptes-rendus

Les dossiers sont édités électroniquement et transmis informatiquement après signature électronique du biologiste. Les résultats sont disponibles pour les médecins sur le site de l'Institut Pasteur (<https://reslbm.pasteur-cayenne.fr/reslabo/>).

Pour créer un compte, merci de nous contacter au +594 (0)5.94.29.26.00

Les résultats ne seront adressés sous enveloppe et expédiés uniquement en cas de non-transmission informatique.

### ▪ Transmission des résultats par téléphone ou par mail

Certains résultats pouvant modifier la prise en charge du patient peuvent être transmis par téléphone ou par mail sécurisé. Ils sont transmis directement au prescripteur ou au laboratoire ayant transmis la demande d'analyse.

## 10. STOCKAGE ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Le laboratoire assure le stockage des échantillons pendant au moins la durée de l'analyse (de la réception du prélèvement jusqu'au rendu de résultat). Certains prélèvements peuvent être conservés plus longtemps selon les dispositions prises par le laboratoire.

La conservation des échantillons biologiques dans des conditions optimales :

- Peut permettre de rajouter des analyses supplémentaires dans certains cas précis (après avis du laboratoire, cf **Analyses complémentaires**)
- Est encadré réglementairement pour certaines analyses.
- Peut permettre une vérification d'identité a posteriori.

Pour plus de renseignements sur la conservation des échantillons biologiques au laboratoire, et sur la possibilité ou non de rajouter ou contrôler une analyse, veuillez contacter le laboratoire.

## 11. ANALYSES COMPLEMENTAIRES

En fonction des résultats des examens initialement prescrits, des analyses complémentaires peuvent être ajoutées à l'initiative du biologiste ou du médecin. Ces analyses seront réalisées sur le prélèvement initial sur demande auprès du laboratoire si le respect des conditions pré-analytiques le permet. Le cas échéant un nouveau prélèvement sera demandé. Pour toute demande d'analyse complémentaire, veuillez contacter le laboratoire.