

Your **Power** for Health



greiner bio-one



Guide préanalytique **VACUETTE**®



Recommandations
préanalytique
(Accompagnement
vers l'accréditation)

Sommaire

Avant-propos	5
1. Qu'est-ce que le préanalytique ?.....	6
2. Qui est impliqué dans le préanalytique ?.....	6
3. Facteurs d'influence liés au patient	8
3.1 Facteurs d'influence non modifiables	8
3.1.1 Sexe	8
3.1.2 Origine géographique et différences ethniques	8
3.2 Facteurs d'influence modifiables à long terme	9
3.2.1 Age	9
3.2.2 Poids	10
3.2.3 Mode de vie.....	10
3.2.4 Grossesse.....	10
3.3 Facteurs d'influence modifiables à court terme	11
3.3.1 Rythmes journaliers et biorythmes	11
3.3.2 Effort physique	12
3.3.3 Stress	13
3.3.4 Alimentation	13
3.3.5 Stimulants: café, nicotine, alcool.....	15
3.3.6 Drogues	16
3.3.7 Médicaments	17
3.3.8 Comportement du patient	17
4. Erreurs fréquentes d'identification	18
4.1 Identification du patient / fiches de prescription	18
4.2 Identification des échantillons	19
5. Importance particulière de l'hémolyse	21
6. Erreurs fréquentes lors du prélèvement de sang	24
6.1 Préparation du patient	24
6.2 Heure du prélèvement sanguin	24
6.3 Position du patient	24
6.4 Durée et intensité de la stase	25
6.5 Techniques de localisation de la veine	27

6.6	Désinfection du site de ponction	28
6.7	Ponction veineuse	28
6.8	Prélèvement à partir d'un cathéter	28
6.9	Ordre de prélèvement	29
6.10	Anticoagulant inapproprié	29
6.11	Date de péremption	32
6.12	Rapports mélange et volumes des échantillons	32
6.13	Homogénéisation du sang et des additifs contenus dans les tubes	33
7.	Erreurs fréquentes lors du stockage et du transport des échantillons	35
7.1	Températures et durées de stockage	35
7.2	Conditions de stockage	36
7.3	Transport des échantillons	37
7.4	Envoi des échantillons	37
8.	Erreurs fréquentes lors de la préparation des échantillons	40
8.1	Erreurs lors de la centrifugation	40
8.2	Echantillons insuffisamment homogénéisés	47
9.	Particularités des hémocultures destinées aux diagnostics microbiologiques	48
10.	Particularités préanalytique de l'urologie.....	51
10.1	Quand faut-il prélever les échantillons d'urine ?	51
10.1.1	Urine aléatoire.....	51
10.1.2	Urine matinale.....	52
10.1.3	Urine collectée sur 24 heures.....	52
10.2	Techniques de prélèvement et de préparation de l'urine.....	52
10.2.1	Urine mi-jet	52
10.2.2	Sédiment urinaire	54
10.3	Dépistage de drogues	54
10.4	Examens microbiologiques de l'urine	55
11.	Synthèse de recommandations pour éviter des erreurs	56
12.	Littérature.....	62

Avant-propos

Dans le domaine de la santé, les tests de laboratoire sont d'une extrême importance pour le diagnostic, la surveillance des patients, la surveillance médicamenteuse et les pronostics. Selon des études réalisées en Allemagne, les résultats de laboratoire contribuent à l'établissement du diagnostic dans les deux tiers des cas. Aux Etats-Unis, cette proportion s'élève à environ 80 %. Par ailleurs, certains diagnostics ne peuvent être effectués que sur la base d'un résultat de laboratoire.

Les résultats de laboratoire reflètent le moindre écart par rapport à l'état normal et les changements dans l'évolution d'une maladie - dans certains cas, plus spécifiquement et donc plus efficacement que la perception du médecin ou l'opinion subjective du patient. Par conséquent, des décisions importantes (lancement d'une thérapie, médication) sont souvent prises sur la base de résultats de laboratoire.

Il est essentiel que les résultats de laboratoire soient corrects et que les écarts les plus infimes des mesures soient enregistrés avec précision. Nous pouvons satisfaire ces 2 exigences grâce à la technologie et des Procédés sensibles combinés à l'assurance d'une qualité sophistiquée. La condition préalable est de faire arriver les échantillons à analyser au sein du laboratoire dans un état correspondant à leur état in vivo. Différents facteurs d'influence et d'interférence susceptibles d'intervenir entre le patient et le laboratoire - c'est-à-dire avant l'analyse, dans la phase préanalytique - peuvent falsifier considérablement les résultats de laboratoire et engendrer des évaluations incorrectes voire, dans le pire des cas, des diagnostics erronés et des thérapies inadaptées.

La phase préanalytique couvre l'ensemble des étapes de la préparation du patient au prélèvement d'un échantillon jusqu'à l'introduction de cet échantillon dans le processus analytique. Elle inclut l'enregistrement de l'ensemble des faits et données susceptibles d'influencer les valeurs biologiques et doit être prise en considération lors de l'interprétation des résultats de laboratoire. Différentes personnes sont impliquées dans le processus préanalytique, chacune d'entre elles étant responsable de sa contribution à la procédure.

Toute personne impliquée dans cette phase doit être consciente de l'importance du préanalytique et des conséquences des erreurs commises durant cette phase peuvent invalider les résultats de laboratoire. Le but de ce guide consiste à sensibiliser les personnes face aux risques d'erreurs dans le préanalytique, et à expliquer comment ces dernières peuvent être évitées. Elle s'adresse au personnel impliqué dans la prescription d'analyses de laboratoire et dans l'interprétation de leurs résultats mais aussi dans le prélèvement, la préparation, le stockage et le transport d'échantillons.

Prof. Dr. Dieter Meißner; Dresden

1. Qu'est-ce que le préanalytique ?

Tous les facteurs et processus déterminants qui influencent un échantillon avant son analyse au laboratoire font partie du préanalytique.

Cela englobe la préparation du patient, le prélèvement, le traitement préalable, le stockage et le transport de l'échantillon ainsi que la manipulation au laboratoire avant l'analyse.

Dans ce contexte, nous distinguons les facteurs d'influence liés au patient et aux erreurs.

Les facteurs d'influence liés au patient affectent la concentration d'un paramètre et sont pris en considération dans les valeurs de référence.

Ces influences résultent toujours des patients, de leur état physique ou de leur comportement, et peuvent être prises en considération lors de l'interprétation des résultats si les informations correspondantes ont été transmises au laboratoire.

Des erreurs sont souvent faites par défaut de connaissance des corrélations. Or, même des erreurs faites au cours de la phase préanalytique peuvent avoir un impact sur les résultats d'analyse finaux ou être à l'origine de valeurs biologiques incohérentes voire même, dans certaines circonstances, de diagnostics erronés.

Vous trouverez ci-après une description des principes fondamentaux de la gestion de la phase préanalytique, dont le but consiste à assurer la prise en considération des influences liées au patient. « Par ailleurs, parmi les erreurs les plus fréquentes nous distinguerons les facteurs du préanalytique explicités et accompagnés de leurs conséquences ».

2. Qui est impliqué dans le préanalytique ?

Plusieurs personnes sont impliquées dans le préanalytique :

Le patient, le médecin traitant, l'infirmière, la secrétaire médicale, le personnel du service de transport, le technicien et le biologiste - toutes ces personnes partagent la responsabilité de la qualité des échantillons. Elles doivent être conscientes de l'importance de la phase préanalytique et connaître les sources potentielles d'erreurs ainsi que leurs conséquences sur les résultats des examens.

Activités	Personnes impliquées
Prescription d'une analyse	Médecin traitant
Préparation du patient	Médecin traitant, personnel infirmier, assistant du médecin, patient
Identification des patients et des échantillons	Médecin traitant, personnel infirmier, assistant du médecin, patient
Prélèvement de sang	Médecin, personnel infirmier, assistant du médecin
Mélange avec des anticoagulants	Médecin, personnel infirmier, assistant du médecin
Stockage jusqu'au transport	Personnel infirmier, assistant du médecin
Transport	Service de retrait sur place ou coursier
Réception, stockage et préparation des échantillons	Personnel de laboratoire, assistants médico-techniques, médecins de laboratoire

Fig. 1: Activités pendant et après la phase préanalytique et personnel responsable

Le temps nécessaire à la phase préanalytique est souvent sous-estimé. En effet, cette phase exige plus de 58 % du temps total nécessaire, soit plus que l'analyse de laboratoire.

Grâce à la technologie moderne, l'analyse à proprement parler n'exige qu'environ 25 % du temps.

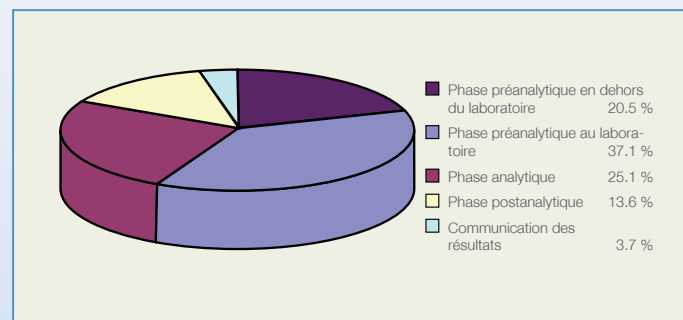


Fig. 2: Durée totale des différentes phases préanalytiques

3. Facteurs d'influence liés au patient

Les facteurs d'influence liés au patient peuvent varier d'un patient à l'autre et rester inchangés durant toute une vie. Par contre, pour un patient donné, ils peuvent aussi changer à court ou à long terme, du jour au lendemain voire même au cours d'une journée

3.1 Facteurs d'influence non modifiables

Ces facteurs englobent le sexe, l'origine géographique et les différences ethniques.

3.1.1 Sexe

L'écart des valeurs entre hommes et femmes peut atteindre 80 %. Outre les hormones spécifiques à chaque sexe, des paramètres de chimie clinique et des paramètres hématologiques comme les triglycérides, la créatinine, le cholestérol HDL, le fer, etc. peuvent varier significativement en fonction du sexe.

	Homme	Femme	
Alanine aminotransferase	< 50	< 35	U/l
Fer	6,3 - 30,1	4,1 - 24	µmol/l
Ferritine	18 - 360	9 - 140	µg/l
Acide urique	3,6 - 7	2,3 - 6,1	mg/dl
Créatinine, cinétique réaction de Jaffé	0,81 - 1,44	0,66 - 1,09	mg/dl
Hématocrite	40 - 53	36 - 48	%
Hémoglobine	13,5 - 17,5	12 - 16	g/dl
Vitesse de sédimentation des érythrocytes	< 15	< 20	mm/1Std.

Fig. 3: Différences liées au sexe
Source: Thomas L.: Labor und Diagnose 6. Edition

3.1.2 Origine géographique et différences ethniques

A titre d'exemple, les Africains noirs possèdent un nombre de leucocytes nettement moins élevé que les Européens tandis que les Européens ont des concentrations plus élevées de granulocytes et de monocytes.

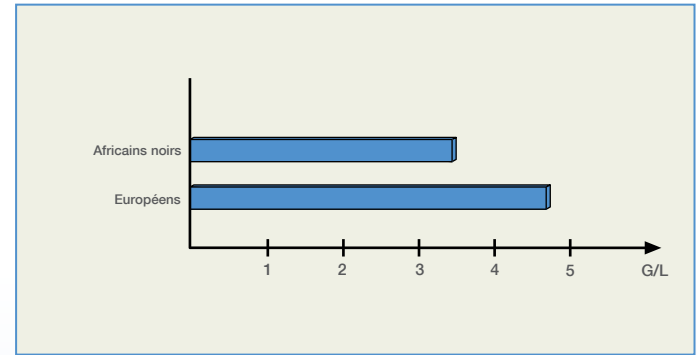


Fig. 4: L'influence de l'origine sur la concentration de granulocytes

La concentration d'alpha-amylase des Européens du Nord-Ouest diffère significativement de celle des Antillais et des Asiatiques. Ainsi, les valeurs d'environ 50 % des Antillais prélevés ont été considérées comme pathologiques sur la base des valeurs normales britanniques.

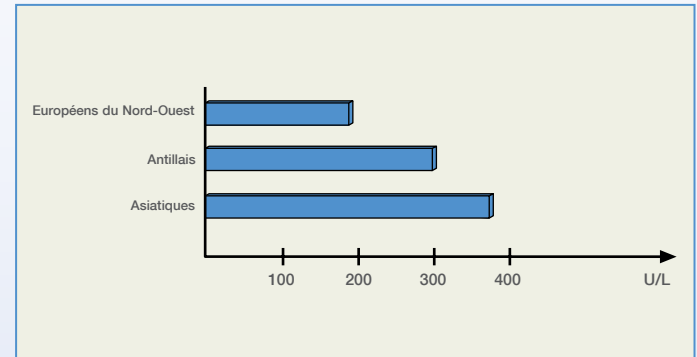


Fig. 5: L'influence de l'origine sur la concentration d'alpha-amylase

3.2 Facteurs d'influence modifiables à long terme

3.2.1 Age

Le nombre total d'érythrocytes et donc les concentrations d'hémoglobine et de bilirubine sont significativement plus élevés chez les nouveaux-nés que chez les adultes. La phosphatase alcaline est nettement plus élevée durant la période de croissance d'un individu jeune. Le taux de cholestérol, notamment de cholestérol LDL, augmente avec l'âge.

Diminue avec l'âge	Augmente avec l'âge
Albumine	Cholestérol
Calcium	Vitesse de sédimentation des érythrocytes
Clairance de la créatinine	Ferritine
Phosphate inorganique	Glucose
pO ₂	
Quick	

Fig. 6: L'influence de l'âge sur une sélection de paramètres

3.2.2 Poids

Une augmentation du poids corporel peut s'accompagner d'une augmentation des facteurs suivants : cholestérol, triglycérides, acide urique, cortisol, insuline, etc.

3.2.3 Mode de vie

Des particularités liées au mode de vie, comme par exemple le stress professionnel ou l'activité physique, exercent une influence sur différentes valeurs biologiques. A titre d'exemple, on peut observer une élévation de la kinase de créatine chez les sportifs, et ce indépendamment de leur condition physique.

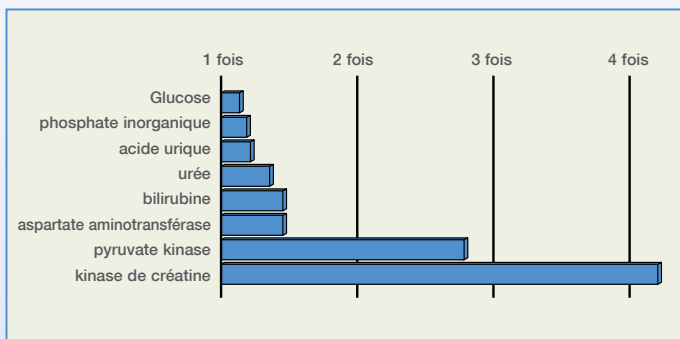


Fig. 7: La modification de différentes concentrations dans le sérum après une activité physique extrême (marathon)

3.2.4 Grossesse

Pendant la grossesse, le volume de plasma augmente d'environ 50 %. Une modification de la concentration peut être observée sur une série de paramètres : la concentration d'électrolytes diminue, celle des lipides sanguins augmente, celle du cuivre double.

Des plages de références sont établies selon les facteurs d'influence du sexe, d'âge, de grossesse, et selon le contexte en fonction d'une origine géographique étrangère ou de différences éthiques.

L'exactitude des données du patient figurant sur la fiche de prescription représente une condition essentielle pour l'application correcte des plages de référence.

3.3 Facteurs d'influence modifiables à court terme

3.3.1 Rythmes journaliers et biorhythmes

Différents paramètres changent au rythme de la journée.

Fluctuations maximales au cours de la journée en %			
Maximum le matin			
Hormone corticotrope (ACTH)	200 %	Adrénaline	20 %
Rénine	140 %	Hémoglobine	20 %
Noradrénaline	120 %	Hématocrite	20 %
Prolactine	100 %	Leucocytes	20 %
Aldostérone	80 %	Protéine	20 %
Cortisol	50 %	Thyroxine (T4)	20 %
Testostérone	50 %	Bilirubine	20 %
Maximum à midi			
Fer	100 %		
Granulocytes éosinophiles	30 %		
Potassium	15 %		
Maximum le soir			
Créatinine	100 %		
Acide urique	50 %		
Thyrotropine (TSH)	50 %		
Phosphatase acide	200 %		

Fig. 8: Fluctuations au cours de la journée (rythme journalier)

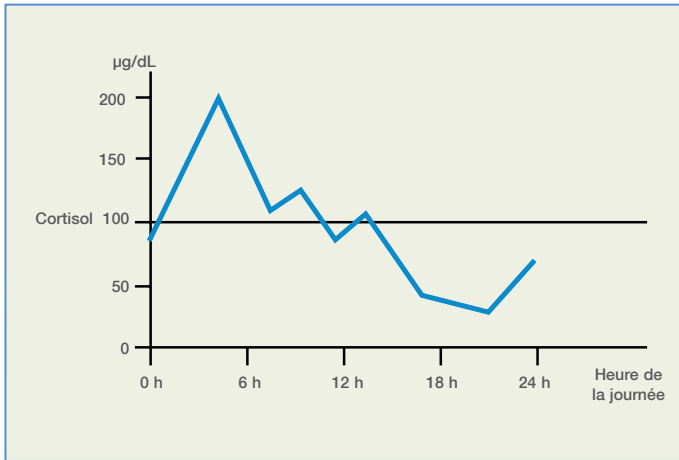


Fig. 9: La fluctuation du cortisol au cours de la journée

L'influence des fluctuations qui se produisent au cours de la journée est minimisée si les échantillons sont prélevés aux heures recommandées, soit entre 7 h et 9 h du matin.

Certains paramètres atteignent leur maximum le matin, d'autres à midi ou le soir.

Au vu du biorythme, il ne faudrait pas se limiter aux fluctuations survenant au fil des différentes périodes de l'année mais également prendre en considération, par exemple, du cycle menstruel et la fluctuation de la concentration de vitamine D, qui atteint son maximum en été.

Outre les fluctuations au rythme de la journée et le biorythme, on peut observer d'importantes fluctuations intra-individuelles d'un jour à l'autre pour différents paramètres.

3.3.2 Effort physique

Sous l'effort physique, de l'eau et de petites molécules sortent des vaisseaux sanguins et passent dans l'espace extravasculaire. Par conséquent, la concentration de structures de haut poids moléculaire comme des protéines ou des substances liées à la protéine augmente dans les vaisseaux. La même chose se produit lorsqu'une personne passe de la position allongée à la position assise ou durant la stase, cf. chapitre 6.3. et 6.4.

- ☞ Tout patient en consultation externe doit se reposer environ 5 minutes avant le prélèvement sanguin.
- ☞ Un échantillon de sang ne doit jamais être prélevé après un effort physique, par exemple après le jogging du matin.
- ☞ Dans les 3 jours qui précèdent le prélèvement sanguin, toute activité physique épuisante doit être évitée.

3.3.3 Stress

La peur de la prise de sang ou une opération imminente peuvent être à l'origine d'un stress mental extrême, qui déclenche la libération de différentes hormones, comme par exemple d'aldostérone, de catécholamine, de cortisol, de prolactine et de rénine.

Une augmentation des concentrations d'albumine, de fibrinogène, de glucose et d'insuline peut également être observée.

Une atmosphère calme et des encouragements avant le prélèvement sanguin ont le plus souvent un effet très positif sur le patient.

3.3.4 Alimentation

Différents paramètres peuvent changer après la prise d'un repas selon sa composition et le temps écoulé entre le repas et le prélèvement.

Après un repas riche en graisses, la lipémie se manifeste par l'aspect trouble du plasma. Des échantillons lipémiques n'ont qu'une utilité limitée au laboratoire.

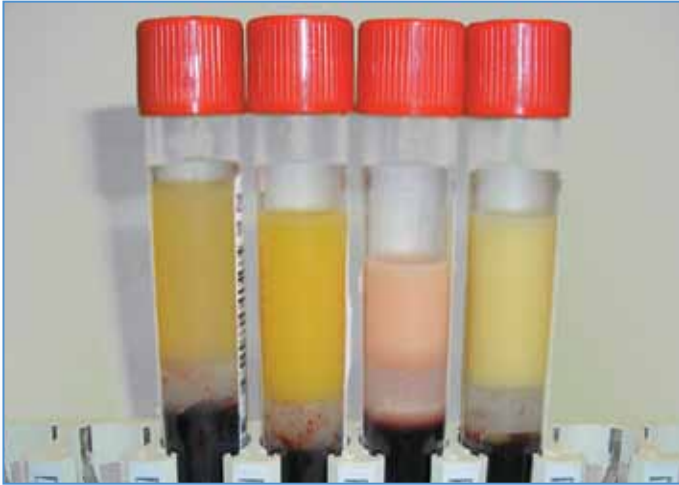


Fig. 10: Echantillons à l'aspect trouble de différentes intensités

☞	Phosphate alcalin
☞	Cholestérol (total, HDL, LDL)
☞	Dopamine
☞	Fer
☞	Glucose
☞	Acide urique
☞	Insuline
☞	Potassium
☞	Cortisol
☞	Test de stimulation à la corticotropine
☞	Phosphate inorganique
☞	Triglycéride

Fig. 11: Paramètres exigeant une abstinence alimentaire de 12 heures avant le prélèvement

Avant le prélèvement sanguin, une abstinence alimentaire de 12 heures est recommandée, notamment pour des analyses du métabolisme lipidique.

Pour les tests de tolérance au glucose, un régime riche en glucides doit être suivi durant les 3 jours précédant le test, soit > 150 g de glucides par jour.

Un jeûne prolongé peut également influencer les résultats de laboratoire.

3.3.5 Stimulants : café, nicotine, alcool

La consommation de café peut provoquer une forte augmentation du cortisol - l'élévation peut atteindre 40 % après 200 mg de caféine (quantité contenue dans deux tasses de café).

Une forte consommation de tabac entraîne également des changements concernant les leucocytes, les lipoprotéines, les activités enzymatiques, les hormones, les vitamines, les marqueurs de tumeurs et les métaux lourds.

En l'espace d'une heure, une seule cigarette peut provoquer des changements substantiels dans la concentration de différents paramètres dans le sérum.

Concernant la consommation d'alcool, on distingue les effets aigus des effets chroniques. L'activité accrue des enzymes du foie est l'effet le plus connu.

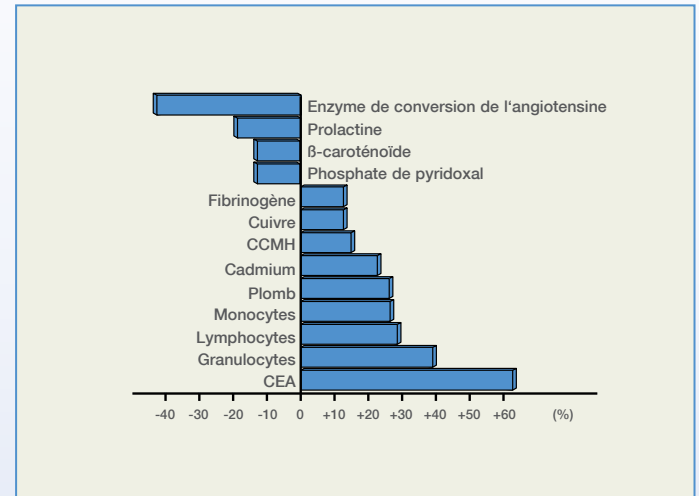


Fig. 12: Des différences de plus de 10 % entre fumeurs et non fumeurs

☞ Il est recommandé de s'abstenir de fumer et de boire avant tout prélèvement de sang. Toute consommation d'alcool est à proscrire pendant 24 heures.

☞ Tout excès d'alcool doit être évité les jours précédant le prélèvement de sang.

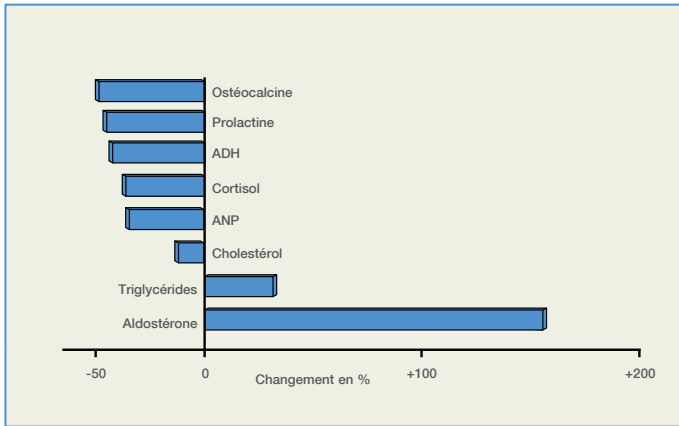


Fig. 13: Changements aigus en cas de consommation d'alcool

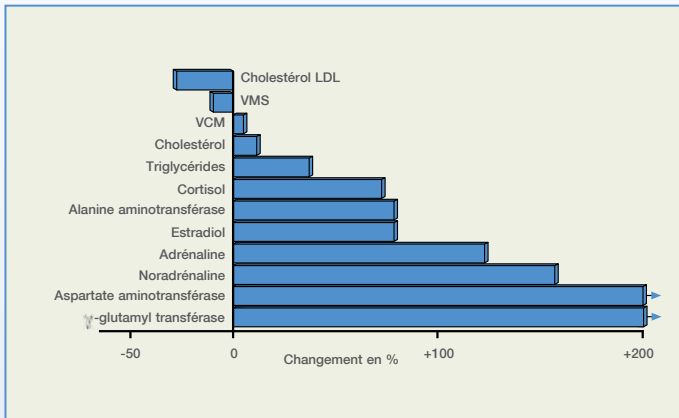


Fig. 14: Changements chroniques en cas de consommation d'alcool

3.3.6 Drogues

La consommation de drogues a des effets biologiques susceptibles d'influencer les examens de laboratoire. Ces effets varient d'une drogue à l'autre.

A titre d'exemple, le cannabis peut provoquer une augmentation du sodium, du potassium, de l'urée, de l'insuline et du chlorure ainsi qu'une diminution de la créatinine, du glucose et de l'acide urique.

3.3.7 Médicaments

Des effets similaires peuvent être observés si un patient prend des médicaments. Dans les hôpitaux, les médicaments sont une cause fréquente d'interférences avec les analyses de laboratoire.

Pour prévenir toute interprétation incorrecte des résultats de laboratoire, il est indispensable de demander au patient s'il prend des médicaments régulièrement et s'il a pris des médicaments avant le prélèvement sanguin.

La prise de vitamines et d'hormones doit être expressément mentionnée car ces substances ne sont pas automatiquement considérées comme des médicaments. Le nom du médicament et la dose prise doivent être communiqués au laboratoire.

Pour la surveillance médicamenteuse, le prélèvement sanguin doit être effectué aussi peu de temps que possible avant la prise des médicaments (mesure au point le plus bas). Le prélèvement ne doit pas être effectué lorsque la concentration dans le sérum est à son niveau le plus haut.

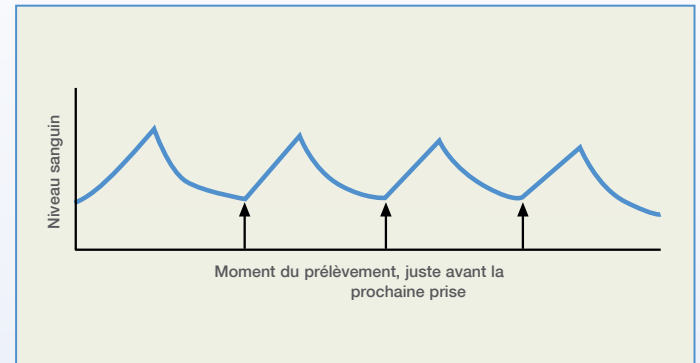


Fig. 15: Le moment idéal pour la détermination des niveaux médicamenteux

En revanche, le prélèvement sanguin doit être effectué dans les plus brefs délais en cas de soupçon de surdosage ou d'intoxication.

3.3.8 Comportement du patient

Le patient n'est pas toujours conscient de tous les facteurs d'influence et ne peut adapter son comportement que si on lui fournit des explications.

- Une préparation soignée du patient contribue à éviter des erreurs.
- Le questionnement du patient contribue à révéler d'éventuels comportements inadaptés.
- Dans certaines circonstances, il peut être nécessaire de reporter le prélèvement de sang à une date ultérieure en raison du comportement inadapté du patient.

4. Erreurs fréquentes concernant l'identification

Les erreurs d'identification ne portent pas atteinte à la qualité des échantillons mais compliquent considérablement le travail du laboratoire.

Elles peuvent entraîner des malentendus et des retards voire même rendre impossible l'attribution des résultats de laboratoire au patient. Les échantillons ou les fiches de prescription manquants et l'étiquetage illisible font partie de cette catégorie d'erreurs.

Les erreurs d'identification sont le plus souvent dues à un travail inattentif, un manque de temps ou une distraction.






L'attribution erronée d'un échantillon à une prescription d'analyse engendre des erreurs qui, lorsqu'elles sont découvertes, découvertes - ne seront constatées que lors du contrôle de plausibilité ou par le médecin traitant.

Avant le prélèvement sanguin, le patient doit s'identifier en indiquant son nom.




4.1 Identification du patient / fiches de prescription

Il arrive fréquemment que des informations servant à identifier le patient manquent sur les fiches de prescription.

Les informations ci-dessous sont obligatoires :

-  **Nom de famille, prénom, date de naissance.**
-  **Numéro de patient, service, numéro de chambre, nom ou numéro du cabinet du médecin traitant.**
-  **Date et heure du prélèvement.**
-  **Sexe.**
-  **Si applicable, semaine de grossesse.**

Pour certaines analyses, les informations ci-dessous sont également nécessaires :

-  Heure de prélèvement pour les profils journaliers et les tests de fonction.
-  Prise de médicaments (y compris de vitamines et d'hormones).
-  Taille et poids.

En cas d'échantillons de petit volume, n'indiquez que les paramètres les plus importants.

4.2 Identification des échantillons

Les erreurs fréquentes concernant l'identification des échantillons comprennent les étiquettes incorrectement apposées, sales, illisibles ou incorrectes.

Une étiquette incorrectement apposée empêche le contrôle optique de l'échantillon.

Une vérification du niveau de remplissage et de la consistance de l'échantillon est impossible. Dans le cas d'étiquettes à code barres, les données sont difficiles voire même impossibles à scanner. L'analyse d'un échantillon avec une étiquette illisible ou incomplète peut être refusée.

Afin d'éviter toute erreur, observez les points ci-après :

En cas de lecture automatique des étiquettes, veillez particulièrement à préparer des séries entières de tubes afin d'éviter tout mélange des tubes.







-  Remplissez l'étiquette soigneusement et lisiblement.
-  Utilisez exclusivement des stylos qui résistent à l'eau.
-  Etiquetez les échantillons STAT spécifiquement.
-  REMARQUE : Le moment de l'étiquetage varie d'un pays à l'autre.
-  Veillez à toujours positionner l'étiquette correctement.
-  Collez l'étiquette sur le tube de prélèvement, et non sur le tube de transport.



Fig. 16: Des étiquettes incorrectement apposées en comparaison avec une étiquette correctement apposée (à droite)

5. L'importance particulière de l'hémolyse

Certaines erreurs peuvent entraîner une hémolyse, ce qui est un sujet très important de préanalytique. En conséquence, un chapitre séparé y a été consacré. L'origine de l'hémolyse ainsi que les précautions à prendre pour l'éviter y seront discutées en détail.

Une hémolyse se produit si la membrane cellulaire des érythrocytes est détruite. Des composants intracellulaires passent alors dans le sérum ou dans le plasma. Une très légère hémolyse peut déjà engendrer, dans le sérum ou le plasma, une augmentation des paramètres dont la concentration dans les érythrocytes diffère fortement de la concentration dans le sérum.

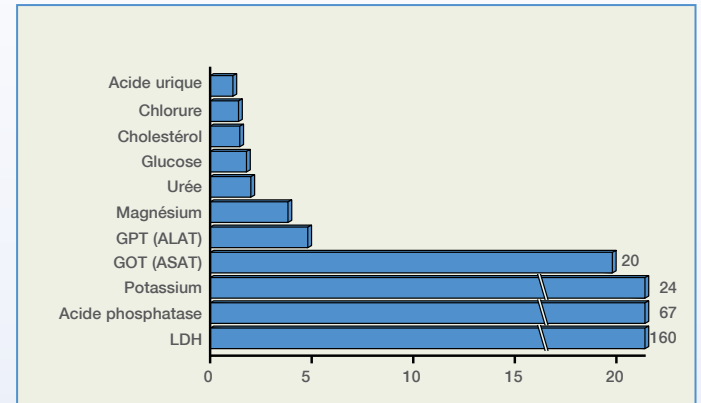


Fig. 17: Rapport de concentration de différents paramètres dans les érythrocytes et dans le sérum. A titre d'exemple, la concentration de LDH est 160 fois plus élevée dans les érythrocytes que dans le sérum.

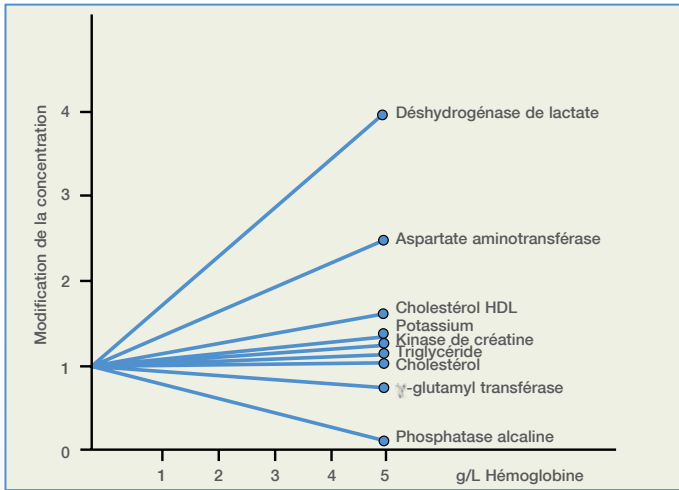


Fig. 18: Modification de différents paramètres avec une concentration d'hémoglobine de 5 g/l

L'hémoglobine des érythrocytes donne une couleur rouge au sérum ou au plasma. A partir d'une concentration d'hémoglobine d'environ 300 mg/l, la coloration est visible à l'œil nu. L'intensité de la couleur rouge indique l'intensité de l'hémolyse.

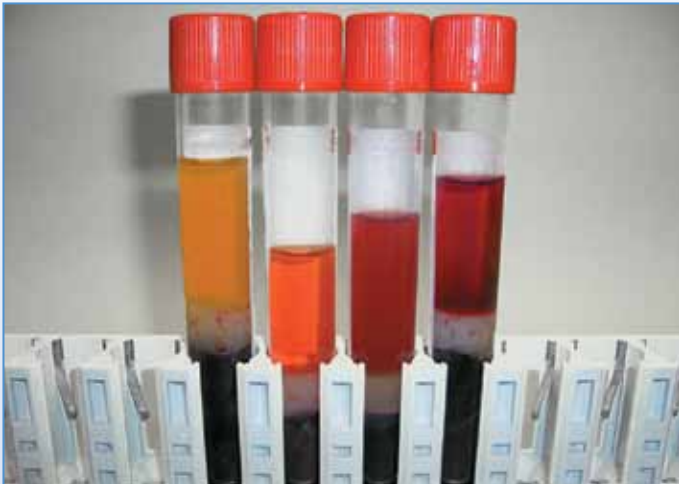


Fig. 19: Echantillons présentant des hémolyses de différentes intensités

Les erreurs suivantes entraînent une hémolyse et doivent donc être absolument évitées :

- Garrot trop serré.
- Aiguilles d'un diamètre trop petit.
- Aspiration de liquide tissulaire après la ponction veineuse.
- Transfert de sang à d'autres récipients à l'aide d'une seringue.
- Agitation de l'échantillon au lieu de mélanger doucement.
- Séparation des cellules du sérum ou plasma après plus de 2 heures.
- Centrifugation trop longue ou trop forte.
- Exposition à des températures trop élevées ou trop basses, (par exemple lors du contact des échantillons avec des éléments réfrigérants).
- Congélation de sang total.

L'hémolyse a un triple effet :

1. La libération de composants intracellulaires modifie la concentration dans le sérum ou le plasma comme décrit ci-dessus.
2. La coloration rouge causée par l'hémoglobine interfère avec les mesures photométriques.
3. Les réactions chimiques qui se déroulent au cours des analyses peuvent être influencées par des substances cellulaires.

6. Erreurs fréquentes lors du prélèvement de sang

6.1 Préparation du patient

Le médecin de famille du patient doit souligner l'importance du comportement du patient avant tout prélèvement sanguin.

Les patients ne sont pas toujours conscients des facteurs d'influence à court terme comme les régimes, les stimulants, le stress, l'activité physique, etc., (cf. chapitre 3.3). Or, le patient ne peut adapter son comportement que s'il est conscient des incidences potentielles.

Les recommandations de comportement sont souvent très vite oubliées. Il peut être utile de poser des questions avant le prélèvement sanguin afin de découvrir d'éventuels comportements inadaptés. En fonction des circonstances, il peut alors être nécessaire de reporter le prélèvement sanguin à une date ultérieure.

6.2 Heure du prélèvement sanguin

L'influence des fluctuations dues au rythme journalier (cf. chapitre 3.3.1) peut être minimisée si le prélèvement sanguin est effectué entre 7 h et 9 h du matin. Le prélèvement d'échantillons à toute autre heure de la journée peut engendrer des résultats inexploitable.

6.3 Position du patient

Si on passe d'une position allongée à une position assise, environ 12 % du volume du plasma et de différents composants sanguins de petit volume passent des vaisseaux sanguins à l'espace extravasculaire.

Ce changement modifie également la concentration de certains paramètres, notamment celle des cellules de sang et de substances de haut poids moléculaire.

Pour les patients en consultation externe, les prélèvements sanguins doivent - dans la limite du possible - être effectués dans une position allongée et non assise. En cas d'impossibilité, la position assise peut cependant être utilisée.

Il est important de toujours effectuer les prélèvements sanguins dans la même position afin d'obtenir des résultats comparables.

Augmentation lors du passage de la position allongée à la position assise	Paramètre
Jusqu'à 10 %	Hémoglobine Leucocytes Calcium total Aspartate aminotransférase Phosphatase alcaline Thyroxine Immunoglobuline G et A Albumine Protéine totale Cholestérol Triglycérides
Entre 10 et 20 %	Hématocrite Apolipoprotéine Erythrocytes
Plus de 50 %	Adrénaline Rénine Noradrénaline

Fig. 20: L'influence de la position du patient lors du prélèvement de l'échantillon

6.4 Durée et intensité de la stase

L'application d'un garrot aide à localiser la veine et facilite la ponction veineuse. Elle provoque une pression de filtration dans la veine, qui entraîne une hémococoncentration.

Les effets sont similaires à ceux décrits au chapitre 6.4, « Position du patient ». La modification de la concentration dépend de la durée et de l'intensité de la stase.

Une stase d'un maximum de 60 secondes est acceptable et n'a aucun effet significatif sur l'échantillon.

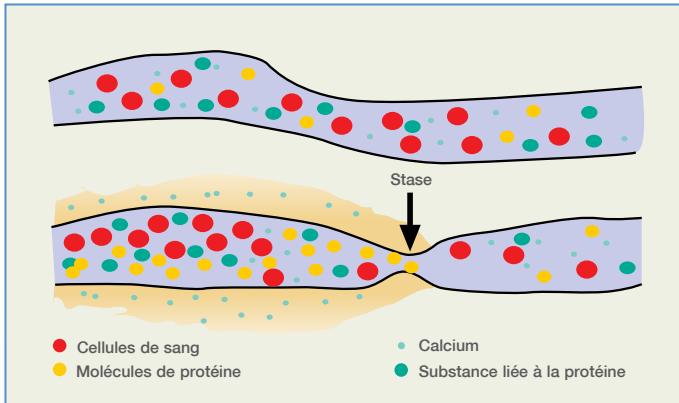


Fig. 21: L'hémoconcentration due au transfert de plasma et de molécules de petite taille de l'espace intravasculaire à l'espace interstitiel.

Augmentation comprise entre 6 % et 12 %	Diminution de jusqu'à 4 %
Alanine aminotransférase	Glucose
Kinase de créatine	Phosphatase inorganique
Bilirubine	Leucocytes
Déshydrogénase de lactate (LDH)	Urée
Albumine	Créatinine
Gamma-glutamyl transférase	Chlorure
Phosphatase alcaline	
Protéine totale	
Cholestérol	
Triglycéride	
Aspartate aminotransférase	
Des modifications peuvent se produire même en cas de stase plus courte.	

Fig. 22: Modification de différents paramètres en pour cent

La pression du garrot doit toujours être inférieure à la pression systolique afin de limiter la perte de liquide dans la veine obstruée. Si le garrot est trop serré, la stase augmente la pression de filtration décrite ci-dessus et, par conséquent, les effets négatifs sur l'échantillon de sang. Par ailleurs, une stase trop longue ou trop forte peut entraîner une hémolyse.

Le garrot ne doit pas être serré trop fortement - le pouls du patient doit rester palpable.

Par ailleurs, si le garrot reste en place pendant toute la procédure de prélèvement sanguin, une hémolyse peut se produire, notamment dans le cas de patients avec de bonnes veines et une tension artérielle élevée.

En cas de bonnes veines, le garrot doit être relâché immédiatement après la ponction veineuse réussie et avant de commencer le prélèvement de sang.

6.5 Techniques de localisation de la veine

Certaines techniques pour localiser la veine souvent appliquées, altèrent la qualité de l'échantillon et sont, par conséquent, à proscrire.

Techniques de localisation de la veine inadaptées :

Le patient ouvre et ferme le poing. Cette technique est aussi appelée « pompage ». Elle peut provoquer une augmentation substantielle du potassium.

Tapoter trop fortement le site de ponction peut altérer la qualité de l'échantillon (hémolyse, bleu)

Ouvrir et fermer le poing ainsi que tapoter fortement le site de ponction sont des techniques de prélèvement inadaptées..

Techniques de localisation de la veine adéquates :

Les techniques suivantes peuvent être utilisées pour faciliter la localisation de la veine.

Serrer le poing sans « pomper ».

Appliquer de la chaleur en mettant le bras dans un bain chaud ou en utilisant un coussin chauffant ou un patch anesthésiant local.

 Le livret « Techniques de prélèvement sanguin **VACUETTE®** » du Dr. Martin Dittmann décrit la procédure de ponction veineuse correcte.

 Veuillez également consulter les Recommandations de manipulation pour le prélèvement sanguin Greiner Bio-One.

6.6 Désinfection du site de ponction

Si la désinfection n'est pas effectuée correctement, le désinfectant peut passer dans l'échantillon de sang et altérer les résultats d'analyse.

La solution désinfectante doit sécher complètement avant la ponction veineuse. Veuillez également consulter le « Compendium d'hygiène **VACUETTE®** » du Dr. Martin Thieves.

6.7 Ponction veineuse

Des essais réitérés de localisation de la veine durant la ponction veineuse ou le déplacement réitéré de l'aiguille dans le tissu peuvent entraîner une contamination due à la thromboplastine tissulaire susceptible d'exercer, par exemple, une influence considérable sur les tests de coagulation.

Évitez de déplacer l'aiguille plusieurs fois dans le tissu en essayant de localiser la veine. Si nécessaire, effectuez la ponction sur l'autre bras.

6.8 Prélèvement à partir d'un cathéter

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

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

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

6.9 Ordre de prélèvement

Le remplissage de plusieurs tubes de prélèvement sanguin dans le mauvais ordre peut également entraîner une contamination des échantillons. L'extérieur d'un capuchon peut être contaminé et des bactéries peuvent alors se retrouver dans l'échantillon.


Pour cette raison, il est recommandé de toujours prélever en premier l'échantillon destiné à l'hémoculture. Des anticoagulants ou des activateurs de coagulation pourraient être transmis au tube suivant et des liquides tissulaires pourraient se retrouver dans le tube en cas de problèmes.

Voici l'ordre de prélèvement recommandé :

1. Hémoculture ou tube de « purge »
2. Sang citraté pour les tests de la coagulation
3. Sang total pour les analyses de sérum
4. Sang hépariné pour les analyses de plasma
5. Sang EDTA pour l'hématologie
6. Sang au fluorure de sodium pour la détermination du glucose
7. Autres tubes

Veillez à toujours respecter les prescriptions de votre établissement.

 Avec un examen d'hémostase et si aucun échantillon d'hémoculture n'est nécessaire alors il faut commencer par remplir un tube de purge.

 Si un tube citrate est utilisé comme premier ou seul tube pour les tests de coagulation, un deuxième tube citrate ou un tube sans additifs devrait être rempli en premier, puis jeté afin d'éviter les contaminations par thromboplastine tissulaire.

6.10 Anticoagulant inapproprié

Le système de codage international pour les tubes de prélèvement sanguin ISO 6710 permet dans une large mesure d'éviter les confusions.

Il peut cependant arriver, par manque de soin ou de connaissances, qu'un anticoagulant ou un tube inapproprié soit utilisé. Dans ce cas, l'échantillon ne peut pas être utilisé au laboratoire.

Utilisez toujours l'anticoagulant ou le tube approprié.
















Type de tube VACUETTE®	Code couleur du capuchon	Additif	Application prévue
Sérum		Activateur de coagulation	Déterminations sur sérum en chimie clinique, sérologie microbiologique, immunologie, surveillance médicamenteuse
Sérum Gel		Activateur de coagulation et gel	Déterminations sur sérum en chimie clinique, sérologie microbiologique, immunologie, surveillance médicamenteuse
Sérum billes		Activateur de coagulation et billes	Déterminations sur sérum en chimie clinique, sérologie microbiologique, immunologie
Sérum échantillons croisés		Activateur de coagulation	Déterminations sur sérum pour des tests croisés
Plasma		Héparine de sodium	Déterminations sur plasma hépariné en chimie clinique
Plasma		Héparine de lithium Héparine d'ammonium	Déterminations sur plasma hépariné en chimie clinique
Plasma Gel		Héparine de lithium et gel	Déterminations sur plasma hépariné en chimie clinique
EDTA		EDTA K2 EDTA K3	Déterminations sur sang total EDTA en hématologie
EDTA échantillons croisés		EDTA K3	Déterminations sur sang total EDTA pour des tests croisés
EDTA Gel		EDTA K2 / gel	Déterminations sur plasma EDTA pour l'identification de virus, parasites et bactéries en biologie moléculaire
Hémostases		Solution de citrate (3,2 %) Solution de citrate (3,8 %)	Déterminations sur plasma citraté pour les tests de la coagulation
CTAD		CTAD (3,2 %)	Déterminations sur plasma citraté pour les tests de la coagulation sans apport artificiel de facteurs plaquettaires au plasma
Glucose		Anticoagulant inhibiteur de glycolyse	Déterminations sur sang total anticoagulé stabilisé ou plasma pour les analyses du glucose et du lactate
Oligoéléments		Activateur de coagulation Héparine de sodium	Déterminations sur sérum / plasma hépariné pour les analyses des oligoéléments
Détermination des groupes sanguins		ACD-A ACD-B CPDA	Déterminations sur sang total ACD / CPDA pour la détermination des groupes sanguins

Fig. 23: Code couleur international selon ISO 6710

Paramètre	Anticoagulants interférant
Albumine	Héparine
Phosphatase alcaline	Citrate, EDTA, fluorure, oxalate
Alpha-amylase	Citrate, EDTA, fluorure
Alpha-1-antitrypsine	Citrate, EDTA, oxalate
Bilirubine	Citrate, fluorure, oxalate
Vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS)	Héparine
Calcium	Citrate, EDTA, oxalate
Cholestérol	Citrate, fluorure
Cholinestérase	EDTA, fluorure, héparine
Céruoplasmine	EDTA
Kinase de créatine (CK)	Citrate, fluorure, oxalate
CK-MB	Citrate, EDTA, fluorure, héparine, oxalate
Fer	Citrate, EDTA, héparine, oxalate
Capacité de fixation du fer	EDTA
Gamma-GT	Citrate, fluorure, héparine, oxalate
GLDH	Fluorure
Glucose	Citrate, oxalate
GOT (ASAT)	Oxalate
GPT (ALAT)	Oxalate
Acide urique	EDTA, citrate, fluorure
Urée	Fluorure
HBDH	Oxalate
Cholestérol HDL	Citrate, fluorure
Insuline	Oxalate
Potassium	Oxalate
Créatinine	Citrate, EDTA, fluorure
Cuivre	Citrate, EDTA, fluorure, oxalate
LAP	Citrate, EDTA, fluorure, héparine, oxalate
LDH	Fluorure, oxalate
Cholestérol LDL	Oxalate
Lipase	EDTA
Lipids	EDTA
Electrophorèse des lipides	Oxalate
Lithium	Oxalate
Sodium	Citrate, EDTA, oxalate
Phosphate	Citrate
Electrophorèse des protéines	Oxalate
Quick (temps de thromboplastine)	Oxalate
Phosphatase acide	Citrate, EDTA, fluorure, héparine, oxalate
T3 (triiodothyronine)	Oxalate
Triglycérides	Citrate, fluorure, oxalate
Vitamine B12	Oxalate

Fig. 24: L'influence des anticoagulants sur une sélection de paramètres

6.11 Date de péremption

En cas de stockage correct, le vide dans les tubes utilisés remplit sa fonction uniquement jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Après cette date, les produits ne doivent plus être utilisés.

Le tube ne doit pas être utilisé après cette date.

- Utilisez toujours tous les tubes d'un carton avant d'en ouvrir le suivant.
- Utilisez les produits avec la date de péremption la plus proche en premier.

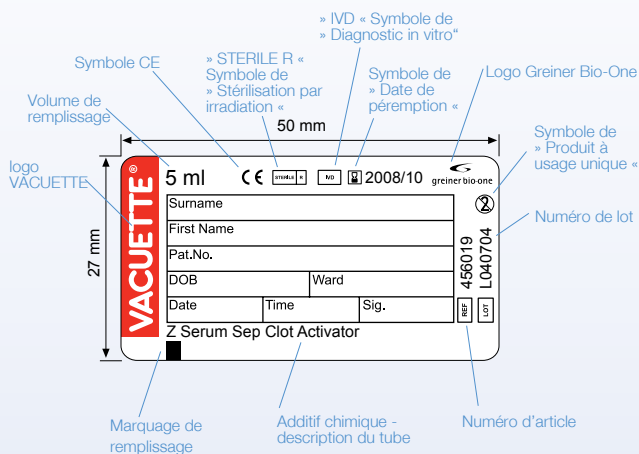


Fig. 25: Etiquette à code couleur avec la date de péremption selon ISO 6710

6.12 Rapports de mélange et volumes des échantillons

Il est absolument essentiel de remplir les tubes (et notamment ceux qui contiennent des anticoagulants) avec précision et en observant les tolérances de remplissage.

Des erreurs particulièrement graves peuvent s'ensuivre si des tubes citrate pour les tests de la coagulation sont trop ou insuffisamment remplis.

Remplissez les tubes avec précision afin d'assurer un rapport de mélange correct.

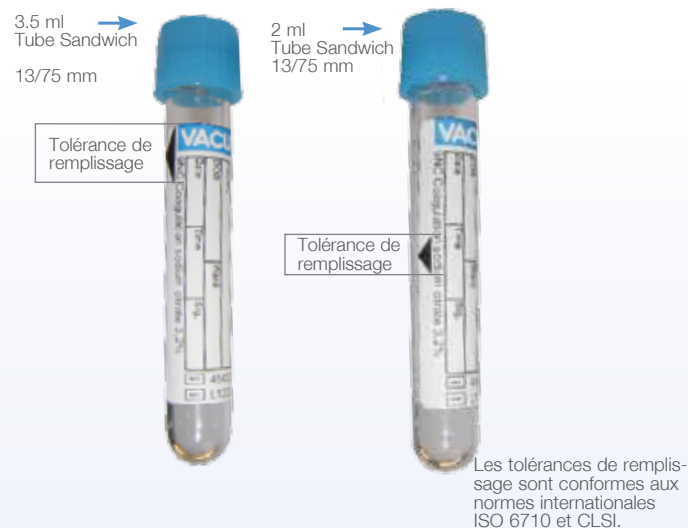


Fig. 26: Tolérances de remplissage des tubes hémostases

Il arrive également que des tubes qui ne contiennent pas d'anticoagulants arrivent au laboratoire avec un niveau de remplissage inapproprié. Ces échantillons ne sont pas inexploitable, en revanche, leur volume peut être insuffisant pour déterminer l'ensemble des paramètres nécessaires.

6.13 Homogénéisation du sang et des additifs contenus dans les tubes

Aujourd'hui, la quasi totalité des tubes à échantillons contient des additifs. Même les tubes sérum considérés comme « vides » contiennent des additifs pour accélérer la coagulation du sang. Le contenu du tube doit être soigneusement et lentement mélangé immédiatement après le prélèvement sanguin de manière à permettre à l'additif de se dissoudre.

Après avoir été rempli, chaque tube doit être complètement homogénéisé par 5 à 10 fois retournements lents. Ne pas agiter.

Une attention particulière s'impose de mélanger le contenu des tubes le contenu de tubes avec un niveau de remplissage élevé ne laissant que peu d'espace vide.

La bulle d'air qui traverse le tube de haut en bas lors du retournement indique que le contenu du tube se mélange effectivement.



Fig. 27: La bulle d'air indique que le contenu du tube se mélange effectivement

7. Erreurs fréquentes lors du stockage et du transport des échantillons

7.1 Températures et durées de stockage

La durée de stockage d'un échantillon est limitée. Certains échantillons peuvent être stockés à température ambiante pendant une période prolongée tandis que d'autres doivent être stockés au réfrigérateur ou être congelés.

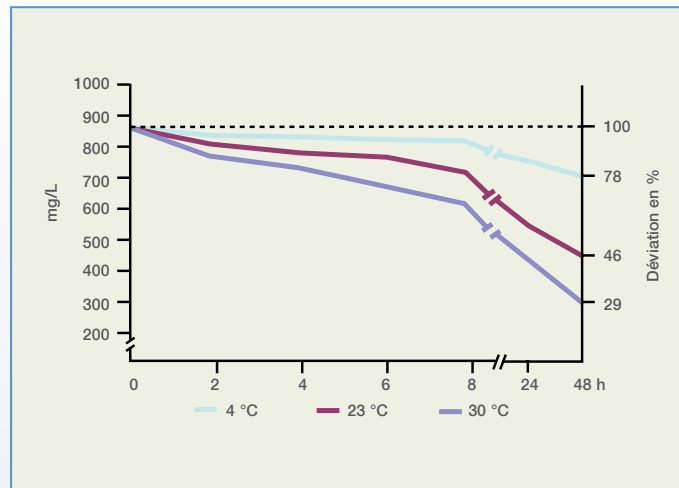


Fig. 28: Influence de la durée de stockage et de la température sur le glucose

En règle générale :

Le sang EDTA doit être stocké à température ambiante. Pour la numération des cellules sanguines, il peut être gardé à température ambiante pendant 24 heures et pour les numérations différentielles pendant 2 à 3 heures.

A quelques exceptions près, les échantillons de sérum et de plasma doivent être stockés au réfrigérateur à une température de 4 °C après la séparation des cellules.

Les cellules de sang étant détruites lors de la congélation, seuls le sérum et le plasma peuvent être congelés.

Le stockage prolongé de sérum ou de plasma exige des températures inférieures à -20 °C. Le processus de décongélation doit être lent. Entreposer les échantillons au réfrigérateur pendant la nuit ou les mettre dans un bain-marie en mélangeant continuellement.

Votre laboratoire pourra vous indiquer les échantillons qui exigent des températures de stockage particulières ou doivent être congelés.

7.2 Conditions de stockage

Si un échantillon n'est pas hermétiquement fermé pendant son stockage, une évaporation susceptible d'en modifier la concentration peut s'ensuivre.

Si le sérum ou le plasma n'est pas séparé des cellules à l'aide d'un gel séparateur ou par décantation après la centrifugation, des substances peuvent passer des cellules au plasma ou au sérum par diffusion.

Au cours de ce processus, la paroi cellulaire n'est pas détruite comme dans le cas de l'hémolyse. En revanche, les effets sur l'échantillon sont similaires et provoquent, par exemple, une augmentation des valeurs de LDH et de potassium.

Le sucre sanguin est décomposé par le processus de glycolyse. Au cours de ce processus, les cellules absorbent également du glucose in vitro du sérum ou du plasma, modifiant ainsi le taux de sucre sanguin en permanence.

Si le sérum ou le plasma n'est pas séparé des cellules, ce processus peut entraîner des modifications significatives après 2 à 3 heures seulement.

- Ne stockez les échantillons que dans des récipients fermés.
- Le sérum ou le plasma doit être séparé des cellules à l'aide d'un gel séparateur ou par décantation immédiatement après la centrifugation.

7.3 Transport des échantillons

En raison de leur stabilité parfois très limitée, les échantillons doivent être transmis au laboratoire aussi rapidement que possible.

Si des paramètres sensibles à la lumière doivent être déterminés, comme par exemple la bilirubine, les échantillons doivent être protégés de la lumière pendant le transport et le stockage.

Des fluctuations extrêmes de la température pendant le transport peuvent avoir un effet négatif. Si les températures sont particulièrement élevées, le maintien d'une température stable à l'aide de containers isolants appropriés est essentiel.

Il est recommandé de transporter les tubes centrifugés et les tubes qui doivent être centrifugés ultérieurement en position debout.

7.4 Envoi des échantillons

- Transportez les échantillons au laboratoire aussi rapidement que possible.
- Protégez-les, si nécessaire de la lumière.
- Évitez les fluctuations extrêmes de la température.
- Transportez les tubes de sérum et de plasma en position debout dans la limite du possible.
- Évitez de renverser les tubes.

Les règles ADR (Accord Européen Relatif au Transport International des Marchandises Dangereuses par Route) s'appliquent au transport des échantillons. Leur but consiste à assurer un transport sécurisé ainsi que la protection des échantillons et du personnel.

En fonction du risque infectieux, il existe deux catégories différentes, la catégorie A et la catégorie B. La catégorie A correspond aux classes de risque 3 et 4 de l'OMS. La catégorie B correspond à la classe de risque 2 de l'OMS. Les échantillons correspondant à la classe de risque 1 de l'OMS ne sont pas concernés par les dispositions de l'ADR.



Fig. 29: Containers de transport appropriés

Pour le transport d'échantillons de la catégorie A, il suffit de réaliser un emballage conformément à l'instruction P620. L'instruction P620 est en principe comparable à l'instruction P650 mais exige des emballages agréés.

Les échantillons de la catégorie B sont soumis à l'instruction P650. L'échantillon se trouve dans un récipient primaire, le récipient secondaire est un container étanche et incassable avec une garniture absorbante suffisante pour absorber la totalité du contenu. L'emballage extérieur est un carton ou une enveloppe rembourrée étiqueté « Matière biologique, catégorie B ». Le symbole ONU 3373 doit également figurer sur l'emballage extérieur. (Le numéro 3373 correspond à la forme d'un diamant).

En règle générale, lors de l'envoi d'échantillons de sang destinés à des fins diagnostics, l'instruction d'emballage P650 de l'ADR doit être observée. L'envoi par la poste d'échantillons de la catégorie B n'est autorisé qu'en petit colis et dans un emballage conforme à l'instruction P650.

Si un échantillon diagnostique est soupçonné de contenir des agents pathogènes de la catégorie A, le laboratoire doit être contacté afin de clarifier la méthode de transport.

L'expéditeur est responsable de l'observation des dispositions légales. Tout membre du personnel impliqué dans les activités d'emballage, d'expédition et de transport d'échantillons doit être formé de manière adéquate.

Observez les règles concernant l'expédition des échantillons.

8. Erreurs fréquentes lors de la préparation des échantillons

8.1 Erreurs lors de la centrifugation

Une durée d'attente trop longue avant la centrifugation peut provoquer des modifications du sérum / plasma au-dessus des cellules. (Cf. chapitre 7.2.)

La coagulation des échantillons dans des tubes en position debout permet une meilleure séparation lors de la centrifugation, notamment dans le cas de tubes avec gel séparateur.



Fig. 30: Échantillons ayant été coagulés en position horizontale et verticale (position correcte)

Si la durée d'attente avant la centrifugation est trop courte et si le sang n'a pas pu coaguler entièrement, une post-coagulation peut se produire dans le sérum.

Celle-ci produira des fibres de fibrine dans le sérum, qui risquent d'obstruer les conduites de l'analyseur.

En outre, le gel contenu dans les tubes avec gel séparateur ne pourra pas former une barrière de séparation suffisante. En conséquence, les tubes de sérum ne doivent pas être centrifugés dans les 30 minutes suivant le prélèvement sanguin.

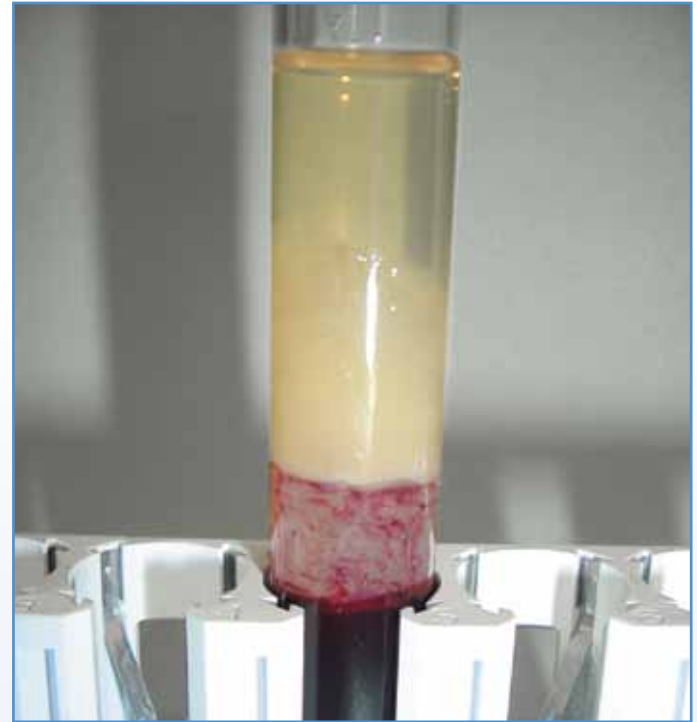


Fig. 31: Échantillon de sérum centrifugé immédiatement après le prélèvement sanguin. Le thrombus de fibrine dans le sérum est visible.

Chez les patients sous traitement anticoagulant ou atteints de troubles de la coagulation, la coagulation est retardée.

Ces échantillons ne doivent être centrifugés que lorsque la rétraction est complètement finie (c'est-à-dire lorsque le caillot sanguin s'est contracté).

Aucune durée d'attente n'est nécessaire pour les échantillons de plasma.

Un refroidissement ou un réchauffement extrême dans la centrifugeuse peut provoquer une hémolyse. La température dans la centrifugeuse doit être comprise entre 20 °C et 22 °C (recommandation CLSI).

La centrifugation dans des récipients ouverts entraîne une évaporation de l'échantillon, notamment dans le cas d'échantillons de volume réduit.

Par conséquent, s'assurer toujours de la fermeture hermétique des récipients à échantillons - pour la centrifugation mais aussi pour des raisons d'hygiène.

	Vitesse de centrifugation	Durée
Tubes hémostases		
Plasma citraté riche en plaquettes (PRP)	150 g	5 minutes
Plasma citraté pauvre en plaquettes (PPP)	1500 à 2000 g	10 minutes
Plasma citraté sans plaquettes	2500 à 3000 g	20 minutes
Tubes sérum	min. 1800 à 2200 g	10-15 minutes
Tubes sérum avec gel	min. 1800 à 2200 g	10-15 minutes
Tubes sérum billes	min. 1800 à 2200 g	10-15 minutes
Tubes héparine	min. 1800 à 2200 g	10-15 minutes
Tubes héparine avec gel	min. 1800 à 2200 g	10-15 minutes
Tubes EDTA avec gel	min. 1800 à 2200 g	10-15 minutes
Tubes fluorure de sodium	min. 1800 à 2200 g	10-15 minutes

Fig. 32: Recommandations pour la centrifugation de tubes **VACUETTE®**

Attention « g » signifie la GRAVITE, à ne pas confondre avec les tours par minute.

$$g = 1.12 \times 10^{-5} \times r \times (\text{rpm})^2$$

r = rayon

rpm = tours par minute

Pour éviter les calculs avec cette formule, le nombre de tours par minute peut être dérivé du diagramme de la fig. 33. A cette fin, tracer une ligne droite du rayon de la centrifugeuse sur la force g. Consulter alors la vitesse en tours par minute.

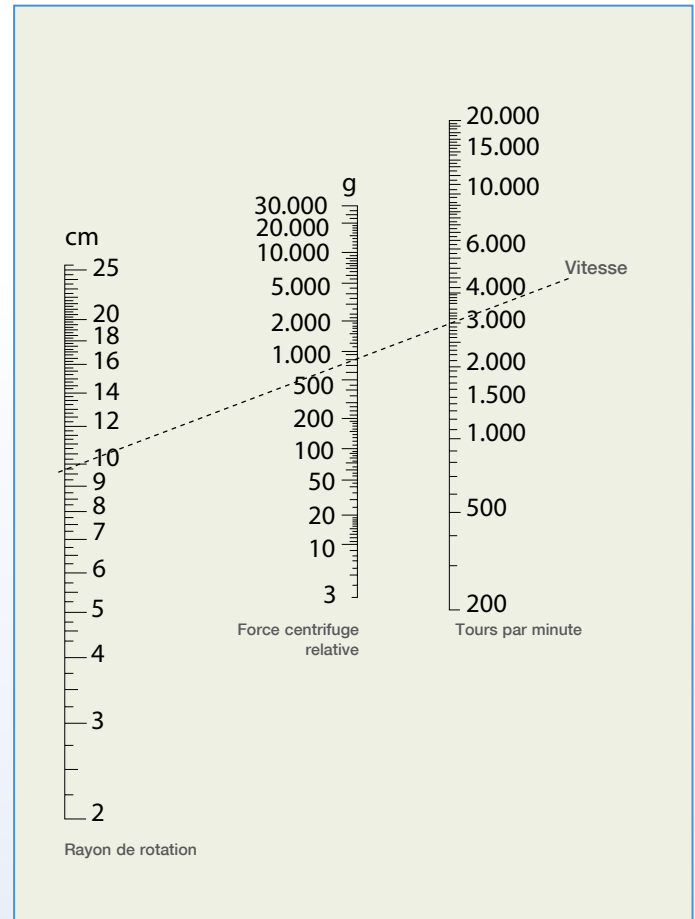


Fig. 33: Diagramme pour la détermination de la vitesse de centrifugation en tours par minute et de la force g



Fig. 34: Des tubes sérum sep incorrectement centrifugés : Une vitesse de centrifugation inadaptée a été appliquée. De gauche à droite, les effets d'une force g de plus en plus élevée. A droite, un tube sérum sep correctement centrifugé.

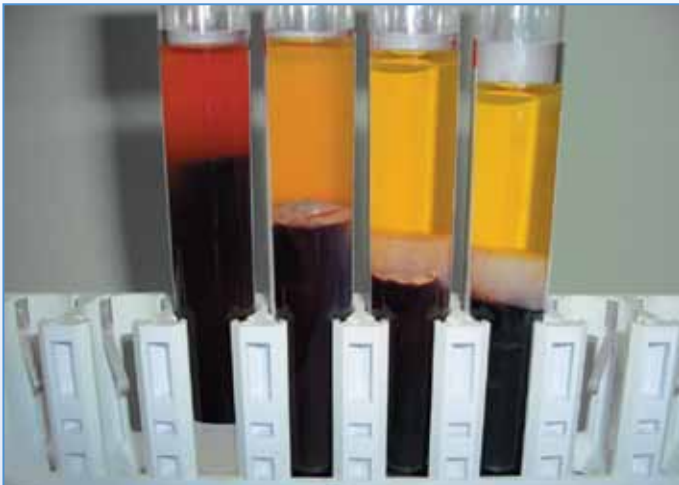


Fig. 35: Des tubes sérum sep incorrectement centrifugés : Les tubes ont été centrifugés pendant une durée trop longue / insuffisante. De gauche à droite, les effets d'une durée de centrifugation de plus en plus longue. A droite, un tube sérum sep correctement centrifugé.

Lors de la centrifugation, observez les points suivants :

- Laissez l'échantillon de sérum coaguler dans un tube en position debout.
- Centrifugez aussi rapidement que possible en respectant les durées d'attente nécessaires.
- Sélectionnez une température adéquate pour la centrifugeuse.
- Centrifugez uniquement des échantillons hermétiquement fermés.
- Appliquez la durée et la vitesse de centrifugation recommandées.

Pour obtenir une barrière de gel optimale dans les tubes sérum sep, utilisez une centrifugeuse « swing-out ».

Si les tubes sont centrifugés avec une centrifugeuse « swing-out » et transportés en position debout, la barrière de gel restera stable même si les tubes sont agités pendant le transport. Dans une centrifugeuse à angle fixe, une barrière de gel inclinée se formera. Dans cette position, la barrière de gel est moins stable, et la moindre secousse pendant le transport routier pourrait provoquer une rupture de la barrière de séparation, surtout dans une position couchée.

- Si possible, utilisez une centrifugeuse « swing-out » au lieu d'une centrifugeuse à angle fixe.
- Transportez les tubes avec gel séparateur centrifugés en position debout et NON en position couchée.

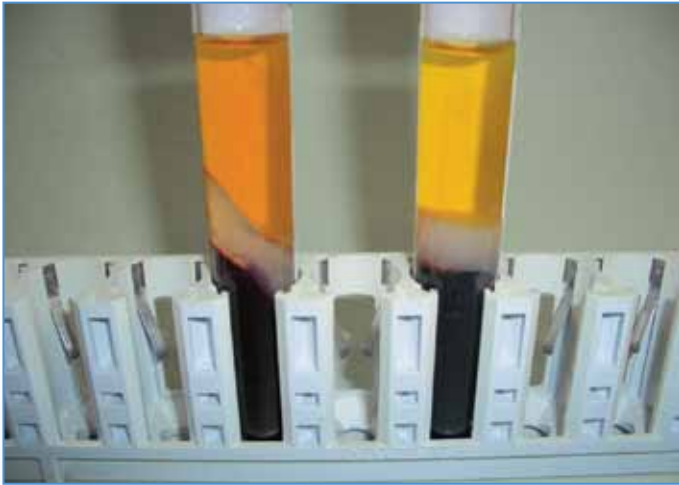


Fig. 36: A gauche : Tubes avec gel séparateur centrifugés dans une centrifugeuse à angle fixe.
A droite : Tubes avec gel séparateur centrifugés dans une centrifugeuse « swing-out ».

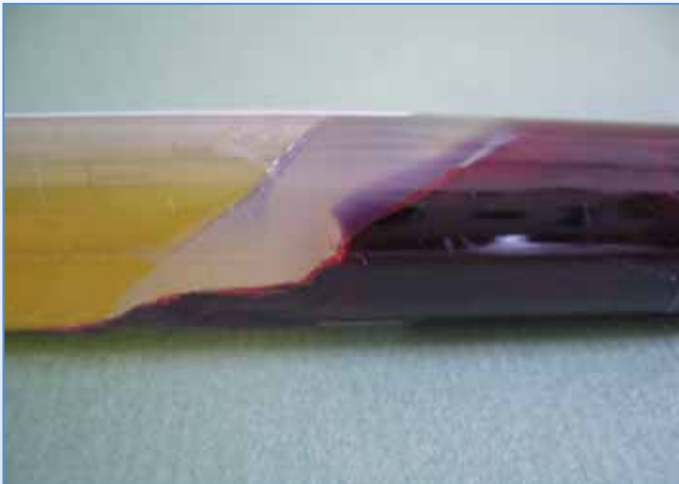


Fig. 37: Tubes avec gel séparateur centrifugés dans une centrifugeuse à angle fixe et transportés en position couchée. Des secousses risquent de provoquer la rupture de la barrière de gel.

8.2 Echantillons insuffisamment homogénéisés

Le sang total doit être homogène avant d'être introduit dans l'analyseur. A titre d'exemple, le sang total EDTA doit être soigneusement mélangé avant son utilisation. L'utilisation de mixeurs mécaniques est préférable.

Un problème particulier peut se présenter en cas d'utilisation de tubes de prélèvement sanguin avec un petit diamètre, comme par exemple de tubes pour la vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS). L'homogénéisation insuffisante de ces échantillons entraîne une augmentation de la vitesse de sédimentation.

Par conséquent, il faut mélanger le contenu des tubes VS très soigneusement avant de les placer dans le support de sédimentation si le prélèvement sanguin a été effectué déjà un certain temps auparavant et si la sédimentation des érythrocytes a déjà commencé. (Cf. chapitre 6.12.)

La décongélation provoque la présence de différents gradients de concentration dans les échantillons de sérum ou de plasma. Les substances dissoutes dans l'échantillon ne sont plus régulièrement distribuées. Ces échantillons doivent évidemment être mélangés suffisamment avant tout traitement

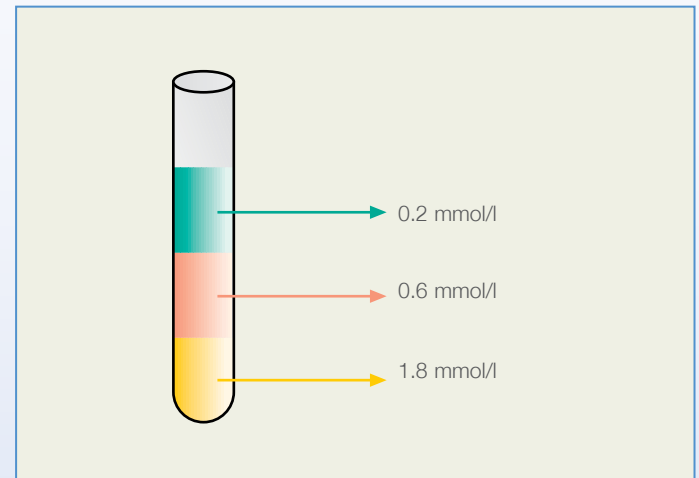


Fig. 38: La concentration de calcium après la décongélation et avant une homogénéisation suffisante

Mélangez toujours soigneusement avant les analyses - non seulement les échantillons décongelés mais tous les échantillons qui viennent d'arriver.

9. Particularités des hémocultures destinées aux diagnostics microbiologiques

Les contaminations sont une cause particulièrement fréquente d'interférences dans les examens microbiologiques d'échantillons de sang. Des germes de la peau contaminent souvent l'intérieur des flacons d'hémoculture.

Si l'échantillon n'est pas manipulé correctement, ces germes peuvent se reproduire plus rapidement que l'agent pathogène, et cette croissance excessive des germes empêchera le laboratoire d'identifier l'agent pathogène.

D'habitude, le nombre d'agents pathogènes présents dans le sang est limité. Le nombre total d'agents pathogènes atteint son maximum pendant que la fièvre est en train d'augmenter. Ce fait doit être pris en considération lors de la prise d'une décision au sujet du moment du prélèvement.

Un refroidissement de l'échantillon et une modification du pH altèrent les chances de survie de certains agents pathogènes. Il est donc essentiel d'assurer des conditions de transport optimales.







Des durées de transport limitées sont essentielles car des germes sensibles - qui peuvent être encore affaiblis par un traitement aux antibiotiques - peuvent périr rapidement tandis que le nombre des contaminants peut augmenter pendant une durée de transport prolongée. Par conséquent, une durée de transport prolongée entraîne souvent des résultats faux positifs.

Les principes fondamentaux ci-dessous doivent être observés lors du prélèvement d'échantillons destinés à des hémocultures :

- Utilisez des flacons d'hémoculture avec le milieu de culture approprié.
- Stockez les flacons d'hémoculture conformément aux instructions du fabricant.
- Laissez les flacons d'hémoculture s'adapter à la température ambiante avant de les utiliser.
- Effectuez le prélèvement sanguin toujours avant de commencer un traitement aux antibiotiques.
- Prélevez l'échantillon pendant la phase de frissons, quand le patient a de la fièvre. La densité des germes est à son maximum pendant cette phase. Si un traitement aux antibiotiques a déjà été entamé, l'échantillon doit être prélevé à la fin de l'intervalle entre deux prises.
- Il est essentiel de désinfecter la peau soigneusement avant le prélèvement de l'échantillon. Appliquez le désinfectant, puis laissez-le agir pendant (ou conformez-vous aux instructions du fabricant). Ne pas essuyer. Une fois la désinfection terminée, ne touchez plus la peau.
- Les bouchons en caoutchouc des flacons d'hémoculture doivent également être désinfectés après le retrait du capuchon de protection.
- Si plusieurs échantillons doivent être prélevés, commencez par les échantillons destinés aux hémocultures.
- Ne prélevez pas des échantillons à partir d'un cathéter horizontal.
- Utilisez un système fermé sans décantation pour le prélèvement et tenez le flacon d'hémoculture au-dessous du site de ponction veineuse.
- Pour prévenir toute pénétration d'air dans le flacon anaérobie, commencez par remplir le flacon aérobie.
- Les détails du diagnostic clinique soupçonné doivent être mentionnés sur le rapport accompagnant.
- Assurez un transport immédiat au laboratoire.
- Stockez à température ambiante mais jamais au réfrigérateur.

Si la multiplication in vitro d'un agent pathogène est difficile ou prendrait trop de temps, il est préférable d'utiliser une méthode de détection de la biologie moléculaire, comme par exemple la PCR.

Pour les prélèvements des échantillons des analyses par PCR, travailler très soigneusement pendant la phase préanalytique :

-  Portez toujours des gants jetables lors du prélèvement d'échantillons.
-  Utilisez un tube séparé pour chaque échantillon.
-  L'utilisation de tubes **VACUETTE®** K2E EDTA K2 avec gel séparateur est recommandée.
-  Ne décantez jamais les échantillons.
-  N'utilisez pas de tube héparine.
-  Se référer à la notice pour toutes informations complémentaires.

10. Particularités préanalytiques par rapport à l'urologie

Des substances normalement éliminées dans l'urine y sont analysées. Dans des cas pathologiques, on y détecte même des substances qui ne sont normalement pas présentes dans l'urine, comme par exemple des métabolites et des substances exogènes ainsi que des cellules dans le sédiment urinaire.

Seul un échantillon d'urine propre et correctement prélevé peut fournir des résultats précis.

10.1 Quand faut-il prélever les échantillons d'urine ?

On distingue urine aléatoire, urine matinale et urine prélevée sur une période donnée.

10.1.1 Urine aléatoire

L'urine aléatoire est prélevée à n'importe quel moment de la journée.

C'est la forme la plus simple du prélèvement urinaire. D'habitude, elle n'est utilisée que si les symptômes cliniques indiquent la nécessité d'une analyse immédiate, par exemple en cas de soupçon d'infection de l'appareil urinaire ou d'intoxication.



10.1.2 Urine matinale

Ici, on distingue entre première et deuxième urine matinale.

La première urine matinale est souvent acide et concentrée et donc adaptée à la détection de bactéries. La deuxième urine matinale est prélevée quelque temps après le vidage matinal de la vessie.

Ce type d'échantillon est recommandé pour la détermination de l'hyperglycosurie et pour l'examen du sédiment urinaire.

Lors du prélèvement de la deuxième urine matinale, observez les points suivants :

-  Si nécessaire, le patient doit être à jeun.
-  Pas d'activité physique avant le prélèvement.

10.1.3 Urine collectée sur 24 heures

L'urine est collectée pendant une période de 24 heures afin d'équilibrer les fluctuations qui se produisent tout au long de la journée.

Les erreurs de prélèvement sont fréquentes mais peuvent être évitées en fournissant des instructions précises et claires au patient.

Observer les points suivants lors d'un prélèvement urinaire 24 heures :

10.2 Techniques de prélèvement et de préparation de l'urine

- Consommation de 1,5 à 2 litres de liquide au cours des 24 heures.
- Si l'urine doit être stabilisée, ajoutez les agents conservateurs appropriés.
- Commencez à 7 h du matin.
- Éliminez la première urine matinale.
- Collectez toute l'urine pendant une période de 24 heures jusqu'à la première urine matinale du lendemain.
- Assurez des conditions hygiéniques.
- Stockage au frais, à l'abri de la lumière.
- Mesurez le volume prélevé avec précision.
- Mélangez l'urine soigneusement.
- Transférez la quantité nécessaire dans le tube à échantillon.
- Fournissez des instructions précises sur le prélèvement urinaire au patient car l'intégrité du prélèvement et la qualité de l'échantillon dépendent de la coopération du patient.

10.2.1 Urine mi-jet

Si possible, utilisez de l'urine mi-jet pour tous les examens de l'urine. Le prélèvement d'urine mi-jet permet une prévention efficace de la contamination par des bactéries étrangères.

Observez les points suivants lors du prélèvement d'urine mi-jet :

- Nettoyage soigneux de la zone génitale.
- N'utilisez ni substances nettoyantes ni désinfectants.
- Un nettoyage trop intense peut entraîner un léger saignement et, par conséquent, la présence d'érythrocytes.
- La première quantité d'urine contient des contaminants et doit être jetée.
- La deuxième quantité d'urine est collectée dans un pot stérile sans interrompre le jet.
- Le jet final est éliminé.
- L'urine doit être soigneusement mélangée dans le pot et transférée à un tube urine.
- L'échantillon d'urine doit être analysé dans un délai de 2 heures.



Fig. 39: Transfert d'un échantillon du pot à urine au tube urine

Les cathéters pour la vessie et les ponctions de la vessie sont réservés à des cas particuliers.

10.2.2 Sédiment urinaire

Pour préparer un sédiment urinaire, commencez par centrifuger une fraction définie de l'échantillon d'urine.

Décantez le surnageant. Le sédiment est homogénéisé et finalement examiné au microscope.

Le prélèvement de l'échantillon ne doit pas remonter à plus de 2 heures. Dans le cas contraire, la sédimentation des cristaux d'acide urique, la lyse et le changement morphologique de cylindres et de cellules pourraient influencer l'analyse.

Pour obtenir un sédiment standard, observez les points suivants :

- Utilisez au minimum 10 ml d'urine mi-jet mélangée.
- Centrifugez pendant 5 minutes à 400 g.
- Éliminez 9,5 ml du surnageant.
- Utilisez les 0,5 ml restants pour l'analyse.
- Le prélèvement de l'échantillon ne doit pas remonter à plus de 2 heures.

10.3 Dépistage de drogues

Il n'est pas rare, lors du dépistage de drogues, qu'un toxicomane essaie de manipuler les échantillons d'urine pour obtenir des résultats faussement négatifs.

Ces tentatives de manipulation peuvent inclure une dilution de l'urine, une consommation excessive de boissons voire même la fourniture de l'urine d'une autre personne.

Elles peuvent dans une large mesure être empêchées, par exemple par un contrôle de l'identité, par une surveillance du prélèvement urinaire ainsi que par la détermination de la concentration de créatinine en tant que valeur de contrôle.

Des tests de salive sous surveillance permettent d'éviter complètement ce problème.

10.4 Examens microbiologiques de l'urine

Il est préférable d'utiliser de l'urine mi-jet de la première urine matinale pour les examens microbiologiques de l'urine.

Observez les points suivants lors du prélèvement :

- Prélevez les échantillons d'urine avant d'entamer un traitement aux antibiotiques.
- Utilisez la première urine matinale - le patient ne devrait plus uriner après 2 h du matin.
- Utilisez de l'urine mi-jet, cf. chapitre 10.2.1.
- Après avoir mélangé l'urine, transférez-la du pot stérile à un tube à échantillon stérile et fermez le tube hermétiquement.
- En cas d'utilisation d'un milieu de culture à immersion, veuillez observer les instructions d'utilisation correspondantes.
- Assurez un transport rapide au laboratoire.
- Dans le cas d'utilisateurs de cathéters long terme, ne pas utiliser l'urine du sac collecteur mais ponctionner le site prévu à cette fin après l'avoir soigneusement désinfecté.

11. Synthèse de recommandations pour éviter des erreurs

Préparation du patient

- Informez le patient de la nécessité d'une abstinence alimentaire et fournissez-lui des instructions alimentaires.
- Rappelez au patient que toute activité physique, comme par exemple le jogging, est à proscrire.
- Signalez au patient qu'il doit renoncer au tabac, au café et à l'alcool.
- Relevez les noms ainsi que les doses des médicaments pris par le patient.

Identification

- Identifiez le patient sans ambiguïté.
- Indiquez les données du patient intégralement et avec précision.
- Ecrire lisiblement.
- Etiquetez les échantillons STAT.
- Sur l'étiquette, écrivez lisiblement avec un stylo qui résiste à l'eau.
- Positionnez l'étiquette correctement.
- Ecrire sur l'étiquette avant de procéder au prélèvement sanguin, puis l'apposer (si applicable).
- N'apposez jamais l'étiquette au tube de transport ! Etiquetez toujours le tube à échantillon.
- Le moment de l'étiquetage varie d'un pays à l'autre.

Prélèvement sanguin

- Sélectionnez l'anticoagulant et les tubes appropriés.
- Prélevez l'échantillon de sang entre 7 h et 9 h du matin.
- Calmez les angoisses et le stress, notamment des enfants.
- Créez une atmosphère calme.
- Les patients en consultation externe doivent rester calmement assis pendant 5 minutes avant le prélèvement sanguin.

- Prélevez l'échantillon pendant que le patient est allongé à chaque fois que cela est possible (position assise pour les patients en consultation externe).
- Ne demandez pas au patient d'ouvrir et de fermer le poing.
- Ne tapotez pas fortement pour trouver la veine.
- Ne posez jamais un garrot pendant plus de 60 secondes.
- Ne serrez pas trop fortement le garrot - le pouls du patient doit rester palpable.
- Laissez le désinfectant sécher conformément aux instructions.
- Pour effectuer la ponction veineuse correctement, consultez le livret « Techniques de prélèvement sanguin **VACUETTE®** ».
- Évitez de déplacer l'aiguille plusieurs fois dans le tissu en essayant de localiser la veine.
- Dans la limite du possible, ne réalisez aucun prélèvement à partir d'un cathéter.
- Relâchez le garrot dès que la ponction veineuse a réussi.
- Observez l'ordre recommandé des tubes de prélèvement sanguin.
- Faire attention aux rapports de mélange.
- Remplissez le tube complètement.
- Après le prélèvement sanguin, mélangez soigneusement le contenu du tube.
- Mélangez le contenu du tube doucement, ne pas agiter.
- Évitez de transférer du sang d'une seringue à un autre récipient.

Stockage et transport

- Évitez les fluctuations de température, comme par exemple l'exposition au soleil.
- S'assurer que les tubes sont hermétiquement fermés pour le stockage et le transport.
- Maintenez le sérum et le plasma à une température de 4 °C.
- Décongelez les échantillons congelés lentement au réfrigérateur ou au bain-marie en remuant constamment.
- Ne jamais recongeler les échantillons un échantillon décongelé.
- Les échantillons doivent être transportés au laboratoire aussi rapidement que possible et avec un minimum de secousses. Transport réfrigéré, si nécessaire.

- Dans la limite du possible, transportez les échantillons de sérum et de plasma en position debout.
- Protéger les échantillons de la lumière si des paramètres sensibles à la lumière doivent être déterminés.
- Observez les règles pour le transport des échantillons.

Préparation des échantillons

- Laissez les échantillons de sérum coaguler pendant environ 30 minutes dans des tubes en position debout avant de les centrifuger.
- Pour les échantillons de sérum de patients qui reçoivent un traitement anticoagulant, attendez au minimum 60 minutes ou jusqu'à la fin de la rétraction.
- Les échantillons de plasma peuvent être centrifugés immédiatement.
- En cas d'une centrifugeuse réfrigérante, réglez la température appropriée.
- Respectez la durée et la vitesse de centrifugation spécifiées.
- Ne pas confondre force g et tours par minute.
- Toujours s'assurer que les tubes sont fermés avant de les centrifuger.
- Utilisez le sérum ou le plasma rapidement après la centrifugation des cellules ou utilisez des tubes avec gel séparateur.
- Mélangez soigneusement avant de procéder à l'analyse - même en cas d'échantillons décongelés.
- Mélangez le contenu des tubes VS soigneusement avant de les placer dans un support de sédimentation ou un analyseur de VS.

Hémoculture

- Utilisez des flacons d'hémoculture avec un milieu de culture approprié.
- Stockez les flacons d'hémoculture conformément aux instructions du fabricant.
- Amenez les flacons d'hémoculture à la température ambiante avant de les utiliser.
- Réalisez toujours une première hémoculture avant de commencer un traitement aux antibiotiques.

- Prélevez l'échantillon de sang pendant la phase de frissons, quand le patient a de la fièvre. Si un traitement aux antibiotiques a déjà été entamé, l'échantillon doit être prélevé à la fin de l'intervalle entre deux prises.
- Faire pénétrer le désinfectant en frottant, puis le laisser agir pendant au minimum 30 secondes conformément aux instructions du fabricant. Ne pas essuyer.
- Une fois la désinfection terminée, ne touchez plus le site de ponction.
- Le bouchon du flacon d'hémoculture doit également être désinfecté après le retrait du capuchon de protection.
- Prélevez en premier l'échantillon destiné à l'hémoculture.
- Ne pas prélever des échantillons à partir d'un cathéter horizontal.
- Utilisez un système fermé pour le prélèvement d'échantillons. Pas de décantage.
- Commencez par remplir le flacon aérobie.
- Les informations concernant le diagnostic clinique soupçonné doivent être mentionnées dans le rapport accompagnant.
- Durant le prélèvement sanguin, tenir le flacon d'hémoculture au-dessous du site de ponction.
- Si nécessaire, le patient doit être à jeun.
- Ne jamais stockez les échantillons au réfrigérateur.

Diagnostics par PCR

- Portez toujours des gants jetables propres lors du prélèvement d'échantillons.
- Utilisez toujours des tubes séparés.
- Ne jamais décanter des échantillons.
- Ne pas utiliser de tube héparine.

Urine matinale

- Alimentaire abstinence du patient.
- Pas de sport matinal avant le prélèvement.

Urine collectée sur 24 heures

- Consommation de 1,5 à 2 litres de liquide au cours des 24 heures.
- Si l'urine doit être stabilisée, ajoutez les agents conservateurs appropriés.
- Commencez à 7 h du matin.
- Éliminez la première urine matinale.
- Collectez toute l'urine jusqu'au lendemain matin, y compris la première urine matinale du lendemain.
- Assurez des conditions hygiéniques.
- Stockez l'urine au frais et à l'abri de la lumière.
- Mesurez le volume prélevé précisément.
- Mélangez l'urine soigneusement.
- Transférez la quantité nécessaire dans le tube à échantillon.
- Fournissez des instructions précises sur le prélèvement urinaire au patient.

Urine mi-jet

- Nettoyage soigneux de la zone génitale.
- N'utilisez ni substances nettoyantes ni désinfectants.
- Un nettoyage intense peut entraîner un léger saignement et, par conséquent, la présence d'érythrocytes.
- La première quantité d'urine contient des germes contaminants et doit être jetée.
- La deuxième quantité d'urine est collectée dans un pot stérile sans interrompre le jet. Le jet final est éliminé.
- Mélangez l'urine soigneusement dans le pot et transférez-la à un tube urine.
- Assurez un transport immédiat de l'échantillon au laboratoire.

Sédiment urinaire

- Utilisez 10 ml d'urine mi-jet mélangée.
- Centrifugez pendant 5 minutes à 400 g.
- Éliminez 9,5 ml du surnageant.
- Utilisez les 0,5 ml restants pour l'analyse.
- Le prélèvement de l'échantillon ne doit pas remonter à plus de 2 heures.

Culture d'urine

- Prélevez l'échantillon d'urine avant d'entamer un traitement aux antibiotiques.
- Utilisez la première urine matinale - Le patient ne devra plus uriner après 2 h du matin.
- Utilisez de l'urine mi-jet.
- Après avoir mélangé l'urine dans le pot stérile, la transférer dans un tube à échantillon stérile et fermer le tube hermétiquement.
- En cas d'utilisation d'un milieu de culture à immersion, observer les instructions d'utilisation correspondantes
- Assurez un transport rapide au laboratoire.
- Dans le cas d'utilisateurs de cathéters long terme, ne jamais utiliser l'urine du sac collecteur.

12. Literature:

Arbeitsgruppe Präanalytik der Deutschen Vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin: Die Qualität diagnostischer Proben, 5th Edition 2005 (German)

Bauersfeld W.: Versand und Transport diagnostischer Proben, **VACUETTE®** News 2005 / 6 Ausg. 2 (German)

Dittmann M.: **VACUETTE®** Blood Collection Techniques, 4th Edition 2005

Dörner K.: Klinische Chemie und Hämatologie, 5. Auflage, Stuttgart 2003 (German)

Guder W.G., Nayaranan S., Wisser H., Zawta B.: Samples: From the Patient to the Laboratory, GIT Verlag Darmstadt

Thieves M: **VACUETTE®** Hygiene Compendium 2007

Thomas L: Labor und Diagnose, TH Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt, 6th Edition 2005 (German)



Pour plus d'informations, nous vous invitons à visiter notre site www.gbo.com/preanalytics ou nous contacter:

Autriche (siège)

Greiner Bio-One GmbH
Tel +43 75 83 67 91-0
Fax +43 75 83 63 18
E-Mail office@at.gbo.com

Allemagne

Greiner Bio-One GmbH /
Preanalytics
Tel +49 70 22 948-0
Fax +49 70 22 948-514
E-Mail office@de.gbo.com

Brésil

Greiner Bio-One Brasil
Tel +55 19 34 68 96 00
Fax +55 19 34 68 96 21
E-Mail office@br.gbo.com

Chine

Greiner Bio-One Suns Co., Ltd.
Tel +86 10 83 55 19 91
Fax +86 10 63 56 69 00
E-Mail office@cn.gbo.com

Espagne

VACUETTE Espana S.A.
Tel +34 91 652 77 07
Fax +34 91 652 33 35
E-Mail info@vacuette.es

France

Greiner Bio-One SAS
Tel +33 1 69 86 25 25
Fax +33 1 69 86 25 35
E-Mail office@fr.gbo.com

Hongrie

Greiner Bio-One Hungary Kft.
Tel (+36) 96 21 30 88
Fax (+36) 96 21 31 98
E-Mail office@hu.gbo.com

Inde

Greiner Bio-One INDIA Pvt. Ltd.
Tel +91 120 456 8787
Fax +91 120 456 8788
E-Mail info@gboindia.com

Pays-Bas

Greiner Bio-One B.V.
Tel +31 1 72 42 09 00
Fax +31 1 72 44 38 01
E-Mail info@nl.gbo.com

Suisse

Greiner Bio-One VACUETTE
Schweiz GmbH
Tel +41 7 12 28 55 22
Fax +41 7 12 28 55 21
E-Mail office@ch.gbo.com

Royaume-Uni

Greiner Bio-One Ltd.
Tel +44 14 53 82 52 55
Fax +44 14 53 82 62 66
E-Mail info@uk.gbo.com

Thaïlande

Greiner Bio-One Thailand Ltd
Tel +66 38 4656 33
Fax +66 38 4656 36
E-Mail office@th.gbo.com

Etats-Unis

Greiner Bio-One North America Inc.
Tel (+1) 70 42 61 78 00
Fax (+1) 70 42 61 78 99
E-Mail info@us.gbo.com

