

RECUEIL ET RECOMMANDATIONS SPECIFIQUES POUR LES PRELEVEMENTS ADRESSES AU LABORATOIRE CENTRAL D'HEMATOLOGIE

1 OBJET :

Ce mode opératoire concerne les conditions de prélèvements et d'acheminement de tout spécimen biologique (liquide, cellulaire, tissulaire...) destiné au Laboratoire Central d'Hématologie (LCH).

2 DOMAINE D'APPLICATION ET PERSONNES CONCERNÉES :

2.1 Domaine d'application :

Manuel de prélèvements des échantillons biologiques du GHU St Louis-Lariboisière-F. Widal analysés au Laboratoire Central d'Hématologie de Saint Louis.

2.2 Personnes concernées :

Le personnel concerné est le personnel qualifié (du GH ou extérieur au GH) qui effectue des prélèvements en vue d'examens de biologie médicale (se référer aux fiches de poste) traités sur le site Saint-Louis. Il est recommandé aux personnels des services cliniques, blocs opératoires, médecine du travail, consultations, et des plateaux techniques (biologie, radiologie, médecine nucléaire, endoscopie, explorations...) réalisant ces prélèvements de lire intégralement ce mode opératoire pour savoir où y trouver les renseignements recherchés.

3 DOCUMENTS DE RÉFÉRENCES :

- NORME NF ISO 15189 version 2012 et son SH REF 02 associé.

4 DÉFINITIONS ET ABRÉVIATIONS :

4.1 Définitions :

- NA.

4.2 Abréviations :

- NA.

5 PRINCIPE DE LA MÉTHODE :

Taper votre texte ici.

RECUEIL ET RECOMMANDATIONS SPECIFIQUES POUR LES PRELEVEMENTS ADRESSES AU LABORATOIRE CENTRAL D'HEMATOLOGIE

6 PRÉCAUTIONS DE SECURITÉ :

Taper votre texte ici.

7 MATÉRIELS ET RÉACTIFS NÉCESSAIRES :

Taper votre texte ici.

8 LOCAUX :

NA

9 DESCRIPTION DU MODE OPÉRATOIRE :

Cas particulier des prélèvements devant être analysés en urgence : **attention, délai d'acheminement <1h**

Cytologie : cocher la case « urgent » sur la feuille de demande.

Autres secteurs : téléphoner à un des biologistes médicaux du secteur concerné.

Cas particulier des analyses nécessitant la prise d'un rendez-vous :

Bilan biologique MALADIES CASSANTES-FANCONI (test FANCD2) : prendre rendez-vous impérativement avant d'envoyer les prélèvements au Laboratoire d'hématologie-secteur Fanconi au 01 42 38 52 03 (mail : jean.soulier@sls.aphp.fr ou nadia.vasquez@sls.aphp.fr)

Cassures chromosomiques : prendre rendez-vous impérativement avant d'envoyer les prélèvements au 01 42 49 42 25, et les envoyer exclusivement le lundi au Laboratoire d'hématologie secteur Cytogénétique) (mail : wendy.cuccuini@sls.aphp.fr et cyto.genetique@sls.aphp.fr).

Analyses cytogénétiques du myélome : prendre rendez-vous au 01 42 38 52 01
(Laboratoire d'hématologie-secteur Myélome)

Numéros de téléphones des biologistes du LCH, horaires d'ouverture des secteurs, horaires d'admission des prélèvements

RECUEIL ET RECOMMANDATIONS SPECIFIQUES POUR LES PRELEVEMENTS ADRESSES AU LABORATOIRE CENTRAL D'HEMATOLOGIE

	CYTOLOGIE	IMMUNOPHENOTY PAGE	HEMATOLOGIE MOLECULAIRE	CYTOGENETIQUE
Secrétariat	01 42 49 99 46 - 01 42 49 92 33 - 01 42 49 99 49			
Dr Pierre Lemaire	01 42 49 92 32	01 42 49 92 32		
Dr Stéphanie Mathis	01 42 49 43 57	01 42 49 43 57		
Dr Anna Raimbault	01 42 49 49 64	01 42 49 49 64		
Dr Odile Maarek				01 42 49 92 41
Pr Jean Soulier				01 42 49 98 91
Dr Wendy Cuccuini				01 42 49 40 25
Dr Giulia Tueur				01 42 49 40 25
Dr Emmanuelle Clappier			01 42 49 48 58	
Dr Jean-Michel Cayuela			01 42 49 40 28	
Dr Rathana Kim			01 42 49 66 14	
Laboratoires	01 42 49 49 67 (automates DBA) 01 42 49 47 92 (microscopes)	01 42 49 42 72	01 42 49 41 74	01 42 49 42 25 (Cytogénétique) 01 42 38 52 03 (labo Myélome) 01 42 38 52 01 (labo Fanconi)
Horaires d'ouverture des secteurs et d'admission des prélèvements	Cytologie DBA : 7jours/7, 24h/24 Cytologie spécialisée : Lundi au vendredi : 8h-18h (faire parvenir les urgences les vendredis et veille de jours fériés <u>avant 17h</u>) Weekend et jours fériés : 8h-15h30 (faire parvenir les frottis sanguins <u>avant 15h</u>)	Lundi au vendredi : 9h -17h (faire parvenir les prélèvements les vendredis et veille de jours fériés <u>avant 14h</u>)	Lundi au vendredi : 9h - 17h (faire parvenir les prélèvements les vendredis et veille de jours fériés <u>avant 15h</u>)	Lundi au vendredi : 9h -17h

RECUEIL ET RECOMMANDATIONS SPECIFIQUES POUR LES PRELEVEMENTS ADRESSES AU LABORATOIRE CENTRAL D'HEMATOLOGIE

- Préparation des patients au prélèvement des échantillons primaires :

En dehors des prélèvements médullaires par ponction sternale et des ponctions ganglionnaires pour lesquels un patch d'EMLA doit être posé une heure avant la ponction (se reporter aux procédures de prélèvement d'un myélogramme et d'un adénogramme), il n'y a pas de préparation du patient spécifique aux analyses réalisées au Laboratoire Central d'Hématologie.

- Prélèvements de l'échantillon primaire :

Sang et moelle :

Pour les analyses réalisées en cytologie :

Le sang se prélève sur EDTA, sauf pour l'étude isolée des plaquettes pour lequel il faut prélever sur citrate de sodium.

Les prélèvements de moelle sont réalisés avec une seringue « sèche », avant d'être dispatchés sur :

- * une lame pour les analyses cytologiques, dans un milieu spécial caryotype pour les analyses de cytogénétique
- * dans un tube EDTA pour les analyses en immunophénotypage et biologie moléculaire

Pour les analyses réalisées en Immunophénotypage :

Sang et moelle sur EDTA

Pour les analyses réalisées en biologie moléculaire :

Sang et moelle sur EDTA (citrate de sodium accepté)

Pour les analyses réalisées en cytogénétique :

- * Caryotype, FISH MYELOME, Test FANCD2 et investigations complémentaires sur moelle : sur milieu culture (RPMI-SVF) préparé et disponible au laboratoire congelé à -20°C. Après décongélation, le milieu se conserve 24 à 48 heures maximum à 4°C. Le milieu doit être utilisé à température ambiante lors du prélèvement (15-25°C).
- * Caryotype sang et cassures chromosomiques : sur tube hépariné (héparine de lithium)
- * Test FANCD2 sang : sur tube hépariné (héparine de lithium ou de sodium)

Autres prélèvements :

Les liquides biologiques se prélèvent sur tube sec.

Les cellules jugales se prélèvent sur écouvillon stérile.

A l'exception des biopsies cutanées réalisées dans le cadre du bilan biologique MALADIE CASSANTES-FANCONI (Test FANCD2 sur biopsie cutanée) qui doivent être transmises directement au labo FANCONI, selon les modalités décrites dans la feuille de prescription : « Bilan biologique des maladies cassantes-FANCONI ».

Quantités à prélever :

- Sang : 2 mL pour les numérations formules sanguines
15 à 20 mL pour les examens spécialisés (biologie moléculaire, immunophénotypage, cytogénétique)
4x5mL pour les tests FANCD2 et le test de cassures chromosomiques

RECUEIL ET RECOMMANDATIONS SPECIFIQUES POUR LES PRELEVEMENTS ADRESSES AU LABORATOIRE CENTRAL D'HEMATOLOGIE

- **Moelle** : quelques gouttes de moelle pour les myélogrammes (prévoir 5 à 6 frottis)
0.5 à 1mL de moelle pour les examens spécialisés (biologie moléculaire, immunophénotypage, cytogénétique)
- **Autres liquides biologiques** : pas de standard
- **Cellules jugales** : un écouvillon
- **Biopsies cutanées** : 1 « Biopsy punch » stérile, de 3 ou 4 mm de diamètre.

Transport à l'ACB :

Pour les analyses du secteur de cytologie :

- Sang et moelle : le prélèvement doit être transmis au laboratoire dans un délai de 4h, et dans un délai <1h en cas d'urgence
- Autres liquides biologiques : délai de transmission d'1H.
- L'acheminement et le stockage avant analyse sont réalisés entre 15 et 30°C.

Pour les analyses du secteur d'immunophénotypage :

- Sang et moelle : le prélèvement doit être transmis au laboratoire dans un délai de 24h, et dans un délai <1h en cas d'urgence
- Autres liquides biologiques : délai de transmission d'1H.
- L'acheminement et le stockage avant analyse sont réalisés entre 15 et 30°C.

Pour les analyses en biologie moléculaire :

- Sang et moelle : le prélèvement doit être transmis au laboratoire dans un délai de 48H. L'acheminement et le stockage sont réalisés entre 15 et 30°C.
- Autres liquides biologiques, écouvillons : délai de transmission d'1H. L'acheminement et le stockage avant analyse sont réalisés entre 15 et 30°C.
- Prélèvements congelés : pas de rupture de la chaîne du froid.

Pour les analyses du secteur de cytogénétique :

- Sang et moelle : le prélèvement doit être transmis au laboratoire dans un délai inférieur ou égal à 24H.
- Pour les caryotypes considérés comme prélèvements précieux par le biologiste, une déclaration de non-conformité sera systématiquement effectuée avant la réalisation de l'analyse dans un délai impérativement inférieur à 48 heures. Ce délai peut être porté à 24-36H pour les analyses cytogénétiques des myélomes.
- L'acheminement et le stockage avant analyse sont réalisés à 20 +/-5°C.

Renseignements nécessaires :

Les renseignements nécessaires à la réalisation des analyses du Laboratoire Central d'Hématologie sont les renseignements cliniques concernant la maladie et le traitement. Ils sont demandés de façon explicite dans les feuilles de prescriptions spécifiques du laboratoire central d'hématologie ou la feuille de demande de renseignements cliniques pour les analyses FANCD2.

RECUEIL ET RECOMMANDATIONS SPECIFIQUES POUR LES PRELEVEMENTS ADRESSES AU LABORATOIRE CENTRAL D'HEMATOLOGIE

Interférences :

Les seules interférences connues sont :

- pour les analyses en biologie moléculaire : l'héparine qui est susceptible d'inhiber les réactions enzymatiques telles la transcription inverse ou la PCR.
- pour les analyses de cytogénétique l'EDTA qui est susceptible d'inhiber la division des cellules.

PRELEVEMENT POUR MYELOGRAMME

La ponction peut être réalisée dans différents territoires : sternum, crêtes iliaques postérieures. Dans la majorité des cas, elle est effectuée au niveau du sternum. En cas de sternotomie ou d'irradiation au niveau du thorax, la ponction sera faite au niveau de la crête iliaque postérieure.

Un patch d'EMLA doit être posé une heure avant la ponction.

Attention, la prise d'AVK non équilibrée contre-indique la ponction de moelle en iliaque.

Le malade est couché en décubitus dorsal pour la ponction sternale, en décubitus ventral pour la ponction de la tubérosité iliaque postérieure. Les téguments sont désinfectés avec une compresse imbibée d'antiseptique.

Vérifiez que trocart et mandrin sont bien adaptés l'un à l'autre. Le trocart, tenu fermement par l'opérateur, grâce aux deux ailettes, est enfoncé perpendiculairement à la peau et à la surface osseuse, la pénétration doit cesser dès que l'on a traversé la table externe de l'os. Retirer le mandrin et adapter la seringue sur le trocart. Ensuite, aspirer et arrêter dès qu'apparaît un peu de moelle dans le fond de la seringue. Dans certains cas (hémopathies en particulier), on peut être amené à faire des prélèvements complémentaires pour des études soit immunologique, cytogénétique et/ou biologie moléculaire.

Retirer l'ensemble trocart et seringue et comprimer avec une compresse stérile pour éviter tout hématome. Désinfecter avec une solution antiseptique avant de mettre un pansement stérile.

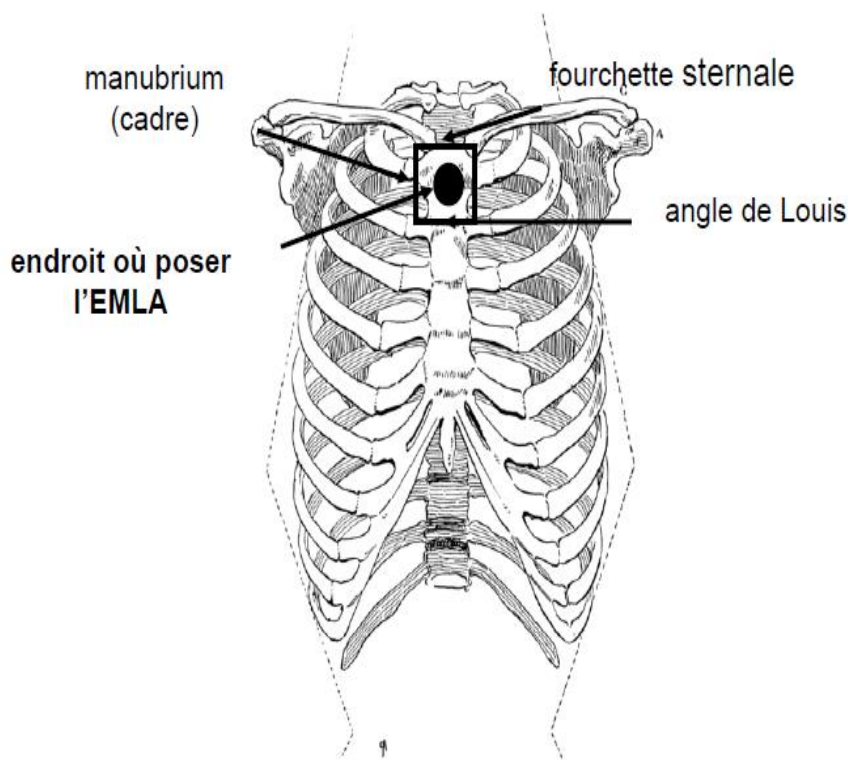
Confection des frottis. Déposer une goutte de moelle sur une lame propre et l'étaler avec une deuxième lame (comme pour un frottis sanguin), inclinaison de 30° à respecter.

Faire le plus de frottis possible, les laisser sécher sur la paillasse, les identifier au nom du patient directement sur la partie dépolie à l'aide d'un crayon à papier en précisant la zone et date de ponction.

S'assurer qu'il y a eu un prélèvement du sang le même jour.

NB : Les prélèvements destinés aux laboratoires de bactériologie, virologie ou parasitologie sont prélevés sur les tubes recommandés par les différents laboratoires. Ces prélèvements sont acheminés au Centre de Tri.

RECUEIL ET RECOMMANDATIONS SPECIFIQUES POUR LES PRELEVEMENTS ADRESSES AU LABORATOIRE CENTRAL D'HEMATOLOGIE



Les ponctions de moelle s'effectuant au niveau du manubrium, il faut prendre garde à poser l'EMLA suffisamment haut sur le sternum (bord supérieur du patch au niveau de la fourchette sternale)