



1. Objet

L'objectif de ce document est de décrire les différentes étapes à suivre pour réaliser les prélèvements sanguins.

2. Domaine d'application

Il s'applique à l'ensemble des prélèvements sanguins réalisés sous la responsabilité du laboratoire. Il concerne les préleveurs.

3. Responsabilités

Les prélèvements sont réalisés sous la responsabilité du biologiste médical et sont pratiqués par le personnel habilité (personnel autorisé : voir PR Prélèvements).

4. Documents de référence

- www.bd.com/fr
- Norme CLSI H3-A6 - « Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard-Sixth Edition ».
- OMS National Data Group; British Diabetes Association.

5. Documents associés

La liste des documents associés est consultable au niveau de « la page de garde Kalilab » du document, ligne « Documents associés (Référence et interface) ».

6. Déroulement de l'activité

6.1. Le matériel utilisé

- Matériel, consommable et mobilier communs à tous les prélèvements (voir INS Prélèvement au laboratoire et INS Prélèvement à l'extérieur)
- Fauteuil de prélèvement avec dossier inclinable en cas de malaise
- Alcool à 70°C dénaturé et solution désinfectante non alcoolique
- Coton hydrophile, sparadrap, pansements
- Garrot
- Aiguilles stériles sécurisées à double biseau avec vis pour adaptation sur support Vacutainer (différents calibres, dont au moins le calibre 8/10 = couleur verte).
- Unités de prélèvement à ailettes avec adaptateur.
- Corps de prélèvement adapté aux aiguilles.
- Aiguilles stériles pour IM ou SC.
- Seringues stériles à usage unique : 5, 10 et 20 ml.
- Tubulures en PVC adaptables sur toutes les aiguilles traditionnelles (rouleau à découper).
- Tubes à essai en plastique 5ml, 10ml, 20ml.



- Tubes à bouchon coiffants sous vide ($\geq 3\text{mL}$), contenant les adjuvants adaptés pour analyses.
- Flacon à hémoculture et corps de pompe spécifique.
- Support pour les tubes.

6.2. Etapes obligatoires communes à tous les prélèvements

Le préleveur doit respecter les étapes communes à tout prélèvement (voir INS Prélèvement au laboratoire et INS Prélèvement à l'extérieur selon le cas).

Le prélèvement est suivi par la remise d'un coupon au patient pour qu'il récupère ses résultats (PR Rendu des résultats).

6.3. Recommandations générales pour le prélèvement d'échantillons sanguins

- Correspondance anticoagulant et couleurs des bouchons :

Type d'anticoagulant	Couleur Tube	Utilisation
Sec avec gel + activateur de la coagulation (SST)		Immuno
		Chimie
		Sérothèque Envoi sous-traitance
Sec sans gel (CAT)		Dépakine, CERBA
Citraté (2.7 mL et 1.7 mL)	 	Coagulation Plaquettes sur citrate
Tube héparine Lithium sans gel		CERBA
Tube Fluoré		Dosage Glycémie à domicile



EDTA		NFS, Hb glyquée, Groupe, BNP...
K2 EDTA		CERBA
EDTA + Gel		CERBA
EDTA +Aprotinine		CERBA

- Ordre de remplissage des tubes :

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

AVEC UNE AIGUILLE (ponction franche)



Autres tubes : ACD, VS, Aprotinine et tube Thrombine (toujours en dernier)

AVEC UNE UNITÉ A AILETTES

• Avec hémoculture



Autres tubes : ACD, VS, Aprotinine et tube Thrombine (toujours en dernier)

• Sans hémoculture



Autres tubes : ACD, VS, Aprotinine et tube Thrombine (toujours en dernier)

- Veiller au bon remplissage des tubes.
- Il est recommandé d'**homogénéiser** le tube dès le retrait du corps de prélèvement, par **plusieurs retournements lents**.
- Identifier les tubes.
- Veiller à respecter les conditions recommandées de prélèvement et de transport.



Cet ordre de prélèvement est conforme à la norme CLSI H3-A6 - « Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard-Sixth Edition ».



- Volumes minimum de remplissage

Pour un passage efficace et rapide sur les automates, les tubes doivent être **remplis complètement**.

Certains patients sont néanmoins difficiles à prélever, et dans ce cas il peut être justifié d'envoyer des tubes moins remplis sur le plateau (mode dégradé).



Exception : Pour les tubes citrate (bleus) : il faut respecter impérativement les indicateurs de remplissage minimum du tube (voir ci-dessous) :

Niveau de remplissage des tubes d'hémostase



L'anneau dépoli = 90% du volume de remplissage du tube

= volume minimum de remplissage recommandé

La hauteur de remplissage du tube va dépendre de la date de péremption du tube : plus le tube approche de la date de péremption, plus le vide diminue et donc le niveau de remplissage aussi.



En cas de prélèvement à l'ailette : commencer le prélèvement par un tube de purge afin d'éliminer l'air de la tubulure (tube bleu ou neutre à retirer et jeter dès que les premières gouttes de sang arrivent dans le tube)



En cas de prélèvement difficile pour des examens d'hémostase spécialisée : tube de purge recommandé (le 1^{er} tube risque de contenir des activateurs de coagulation provenant des vaisseaux du patient si la ponction veineuse n'a pas été franche ou si le garrot est resté trop longtemps serré).



Les autres tubes (sauf bleus) pourront être passés en mode manuel sur certains automates s'ils sont peu remplis: **il est donc nécessaire de signaler tous les tubes remplis avec moins de 2 ml de sang (= 2cm) par une marque circulaire au feutre noir sur le dessus du bouchon.**



A titre indicatif, le tableau définit le volume minimum en mode dégradé pour réaliser les examens (réservé aux prélèvements difficiles / précieux) :

Volume minimal requis en mode dégradé		
NFS seule	0.7 mL	
NFS + RETIC	1 mL	
NFS + VS	2 mL	
Groupe sanguin	1.5 mL	
RAI seule	1 mL	
Chimie	0.7 - 2 mL	A TITRE INDICATIF car dépend du nombre d'examens demandés !!!
Immuno	1 - 2 mL	
Sérologies	1 - 4 mL (gros bilan de séro = 4 mL)	

NB : avec les volumes minimum, si un résultat a besoin d'être contrôlé ou si l'automate fait une erreur de pipetage, nous ne pourrons pas rendre les résultats...

- Volumes maximum de remplissage

Les tubes de prélèvement sont sous vide, ce qui permet d'aspirer le sang lors du prélèvement au corps de pompe (aiguille classique ou ailette). Ce vide détermine la quantité de sang maximale qui entrera dans le tube et permet de maintenir fermement le bouchon en place sur le tube, même une fois prélevé.

Dans le cas des prélèvements à la seringue et en écoulement libre, le préleveur ouvre les tubes avant de les remplir, ce qui casse le vide des tubes.

Le préleveur risque par mégarde de remplir les tubes au-dessus du volume maximal prévu par le fabricant, ce qui a 2 conséquences :

- ✓ Les bouchons des tubes tiendront mal en place une fois les tubes rebouchés
- ✓ Certains automates refuseront de réaliser les examens sur les tubes trop remplis.



La solution est de respecter ces **2 règles simples pour les volumes maximum de remplissage manuel des tubes :**

- **Tubes citrate : ne pas dépasser l'anneau dépoli.**
- **Tous les autres tubes : ne pas dépasser le haut de l'étiquette du tube.**

Ainsi, les bouchons tiendront bien sur les tubes en enfonçant fermement le bouchon en le tournant de quelques millimètres, comme si vous le vissiez.

NB : la technique du sparadrap pour faire tenir le bouchon est à éviter car il gêne la lecture des codes barre et des niveaux par les automates !!! Toléré en dernier recours si le tube a déjà été trop rempli, en évitant de le coller sur le code barre.

- Homogénéisation des échantillons sanguins :

Qui ?

Tous les tubes doivent être homogénéisés, **y compris les tubes secs.**

Quand ?

Idéalement immédiatement après avoir retiré le tube du corps de prélèvement. Chaque tube retiré est donc homogénéisé pendant que le tube suivant est en train de se remplir.

Pour les prélèvements rapides avec plusieurs tubes : il est toléré de procéder à 1 retournement immédiat minimum après le retrait du tube, puis à la suite des retournements groupés à la fin du prélèvement (la fin des retournements doit alors avoir lieu le plus tôt possible après d'élimination de l'aiguille). Cette pratique ne doit pas être utilisée pour les prélèvements longs (nombre de tube élevé ou prélèvement difficile).

Comment ?

L'homogénéisation doit être réalisé par retournement lents, en laissant la bulle d'air remonter jusqu'en haut du tube.



Il est interdit de secouer les tubes! Ceci peut entraîner la formation de mousse, d'hémolyse et peut modifier le résultat des examens.

Le nombre de retournement est à adapter en fonction de la nature des tubes :

Type de tube	Nombre minimum
	3 à 4 retournements lents
	5 retournements lents
Tous les autres	8 à 10 retournements lents



REMARQUE: En cas de mélange insuffisant ou trop tardif, les résultats peuvent être impactés (p.ex. par micro-coagulation dans la NFS, fibrine dans le sérum...).

- Patient avec risque de lymphœdème et lymphangite :

PRISE DE SANG INTERDITE SUR L'ENSEMBLE DU MEMBRE CONCERNÉ.

Explication : suite à une ablation de chaîne ganglionnaire axillaire (cancer du sein en général), le système lymphatique est abimé et ne permet plus de drainer correctement la lymphe, qui engorge les tissus du membre, provoquant un lymphœdème.

→ *Il est donc formellement interdit de poser un garrot ou prendre la tension sur le bras ou la main concerné (car augmente l'œdème).*

Le lymphœdème est propice au développement de bactéries dans le tissu conjonctif engorgé, qui est une complication grave appelée lymphangite.

→ *Il est donc formellement interdit de pratiquer un geste invasif sur le membre concerné (y compris la main) en raison du risque infectieux.*

- Prélèvements difficiles

Qu'est-ce qu'un prélèvement difficile ?

→ C'est un acte de prélèvement qui n'a pas pu être réalisé de façon optimale, et qui donc ne garantit pas la qualité de l'échantillon.

→ Exemple : après une pose de garrot très serré ou longue, ou avec écoulement de sang de faible débit, un prélèvement avec une homogénéisation dans les tubes tardive (écoulement libre, seringue).

Quelle est la différence entre un « prélèvement difficile » et un « patient difficile à piquer qui a des veines difficiles » ?

→ Le « patient difficile à piquer » est un patient dont les veines sont plus difficiles à prélever que la moyenne pour diverses raisons. Mais cela ne veut pas forcément dire que le prélèvement du jour s'est mal passé !!



Tout prélèvement difficile doit être signalé sur la fiche de prélèvement +++

En effet, cela peut influencer les résultats de certains examens (Potassium, Plaquettes, tests de coagulation...). Le biologiste doit impérativement disposer de cette information afin d'interpréter au mieux des résultats et assurer la bonne prise en charge du patient. Les prélèvements à l'écoulement libre en tube cristal ou à la seringue doivent être indiqués sur la fiche.



Si un caillot est visible lors du prélèvement (écoulement libre ou seringue) : **IL EST STRICTEMENT INTERDIT D'UTILISER CE SANG POUR LA NFS ou LA COAG !!!** (ne pas se dire « j'essaye quand même d'envoyer le tube sur le plateau, on verra bien... »)

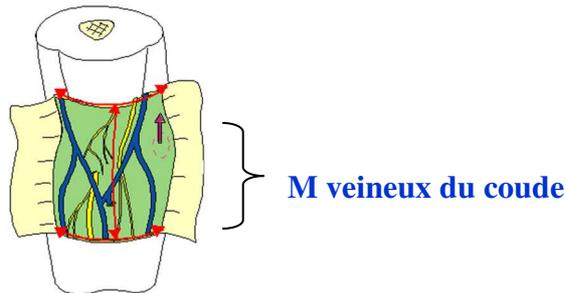
→ Le résultat rendu sera **FAUX et on risque de boucher l'automate !!**

6.4. Modalités de prélèvements sanguins veineux

- Lavage simple des mains ou friction avec un produit hydro alcoolique (INS Lavage hygiénique des mains; INS Antisepsie rapide des mains)



- Passer une paire de gants à usage unique (fortement recommandé dans tous les cas, obligatoire en cas de peau lésée sur les mains).
- Pose du garrot approximativement 10 cm au-dessus du pli du coude, bras tendu reposant sur l'accoudeoir, poing serré.
- Choix rapide du site optimal après palpation.
Si possible au niveau du « M veineux » du coude, partie centrale préférentiellement.



Sinon chercher un site sur le dos de la main en posant le garrot sur l'avant-bras.

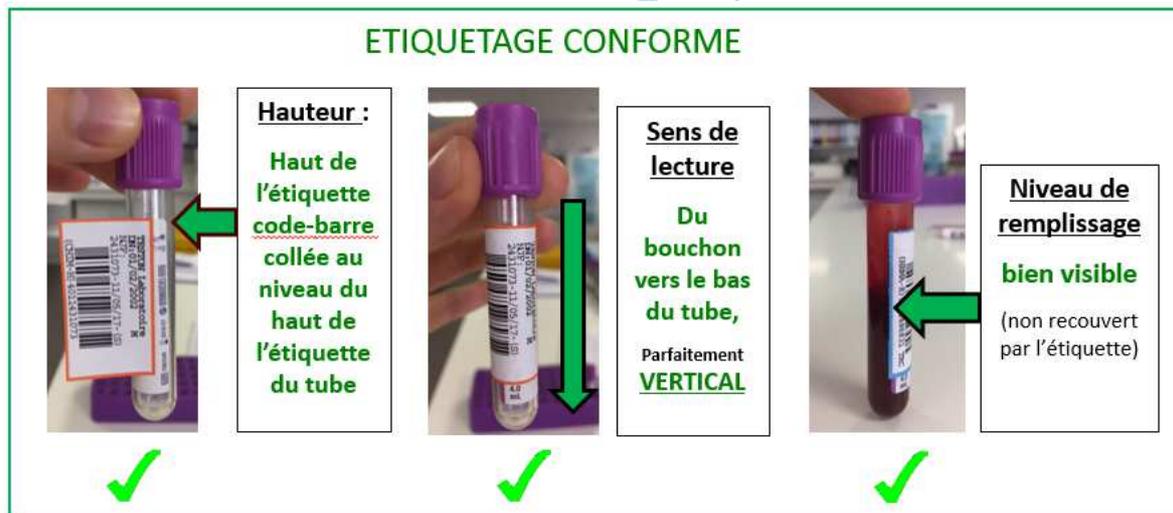
- Choix de l'aiguille en fonction du site choisi, montage sur le corps de prélèvement.
- Désinfection locale de la peau à l'aide d'un coton imprégné d'alcool à 70°C (sauf pour le dosage d'alcoolémie, utiliser obligatoirement un désinfectant non alcoolique). 2 méthodes existent :
 - Un Passage du coton sans retour, dans le sens inverse des poils.
- Ou
 - En escargot : 1 passage en spirale du centre vers l'extérieur.
- Laisse sécher quelques instants la peau (utile s'il y a une grande quantité de désinfectant sur la peau).
- Mise en place de l'aiguille en intraveineux :
 - Tendre la peau pour faciliter la pénétration de l'aiguille et immobiliser la peau, sans toucher le site de ponction, sans mettre ses doigts sur le chemin de l'aiguille.
 - Introduire l'aiguille dans un angle se situant entre 15° et 30°, prélever tout en laissant le bras vers le bas.



Et pour les veines très difficiles, comment respecter l'aseptie ??
Nous avons tous déjà rencontré des cas où nous avons besoin de retoucher le site de ponction juste avant de piquer car les veines sont très difficiles à localiser. Dans ce cas, préparez-vous à piquer avec l'aiguille dans une main et un nouveau coton d'alcool dans l'autre, tâter le site, désinfecter à nouveau et piquer.



- Remplissage des tubes dans l'ordre préconisé et homogénéisation (voir 6.3.)
 - Desserrer le garrot dès que possible : de préférence dès que le sang coule dans le 1^{er} tube (pose maximale recommandée : 1 minute). Faire desserrer le poing.
 - Retirer complètement le garrot puis retirer l'aiguille en comprimant avec un coton sec.
 - Clipser la protection de l'aiguille et éliminer l'aiguille dans un container DASRI pour aiguille, au plus près du geste, sans croiser les bras.
- NE JAMAIS RECAPUCHONNER L'AIGUILLE** usagée, en raison du risque de piqûre.
- Demander au patient d'effectuer une pression d'au moins 1 minute. En cas de traitement anticoagulant : faire comprimer jusqu'à l'arrêt complet du saignement.
 - Procéder à l'identification des tubes :
 - En respectant la procédure d'identitovigilance
NE JAMAIS PRE-ETIQUETER LES TUBES (même en présence du patient juste avant de prélever)
 - En respectant les 3 règles de positionnement des étiquettes code-barres :



NB : Le bon positionnement des étiquettes est indispensable pour le passage sur les automates.



ETIQUETTAGE NON CONFORME



X
Code barre
partiellement effacé



X
Code barre
abimé, déchiré



X
Code barre
trop pâle



X
Code barre
non vertical

NB : En cas de code barre pâle, partiellement effacés, d'impression non « nette » : ressortir une planche d'étiquette et coller un nouveau code barre conforme (car le tube ne sera pas lu par l'automate = perte de temps en technique et délai de rendu allongé).

6.5. Modalités de prélèvements sanguins veineux *en mode dégradé*

En cas de prélèvement délicat (veines difficiles, fragiles, de faible pression), il est conseillé de recourir à l'utilisation d'une unité de prélèvement à ailettes en remplacement de l'aiguille classique. On peut également recourir à l'utilisation de seringue de prélèvement ou à l'écoulement libre (réservés aux cas *très délicats* car ces deux techniques sont moins sécuritaires).

○ Spécificité du prélèvement à l'ailette :

- Monter l'aiguille de perçage sur le corps de prélèvement
- Tenir l'aiguille de prélèvement en pinçant les ailettes entre le pouce et l'index, retirer la protection de l'aiguille et piquer en IV en introduisant au moins 1 cm de l'aiguille dans le veine afin qu'elle tienne bien en place, vérifier que le sang est bien visible dans le début de la tubulure.
- Remplir les tubes. *NB : En cas de tube citrate, purger l'air de l'ailette avec 1 tube de purge bleu et jeter-le.*
- Retirer l'aiguille en l'attrapant par la base puis et tirer la tubulure afin de rabattre la sécurité sur l'aiguille.



NB : si vous tenez l'aiguille avec les ailettes lors du retrait, vous ne pouvez pas rabattre la protection.

- Eliminer l'ailette.

○ Spécificité du prélèvement à l'aide d'une seringue :

- Monter l'aiguille sur la seringue
- Eliminer l'air contenu dans la seringue,
- Décapuchonner l'aiguille,
- Placer l'aiguille en IV
- Réaliser l'aspiration du sang veineux à l'aide de la seringue jusqu'au volume souhaité,
- Retirer l'aiguille et verser le sang dans les tubes préalablement décapuchonnés.

NE JAMAIS PIQUER LES BOUCHONS DES TUBES SOUS-VIDE AVEC LA SERINGUE en raison du risque de piqûre et d'hémolyse.

Signaler le prélèvement à la seringue sur la fiche (c'est un prélèvement difficile)

○ Spécificité du prélèvement en écoulement libre :

- Solidariser la tubulure en PVC et l'aiguille.
- Décapuchonner l'aiguille
- Introduire l'aiguille en IV en maintenant le tube à essai à remplir sous la tubulure.
- Transvaser le sang prélevé dans les différents tubes de prélèvement ouverts.

Signaler le prélèvement en écoulement libre sur la fiche (c'est un prélèvement difficile).

6.6. Mode de signalement des tubes avec traitement spécial

Quels tubes ?	Pourquoi les signaler ?	Mode de signalement
Tubes urgents	Passage en priorité sur les automates	Pastille de couleur Ou Croix sur le bouchon 
Tubes Plaquettes sur citrate	Eviter la centrifugation par erreur	Marque circulaire au feutre sur le bouchon 
Tubes remplis < 2 mL	Passage en manuel sur les automates	Marque circulaire au feutre sur le bouchon 



Tubes non prélevé
à reprendre sur
tube dérogatoire

Eviter à la
technique perdre
du temps à
chercher les
tubes

Coller le Code barre sur un tube vide
Ajouter une 2eme étiquette pour noter quel tube
reprendre



6.7. Cas particulier : prélèvements pour hémoculture

Se référer à l'instruction « Modalités de prélèvement des Hémocultures » TC-PREL-INS-013

6.8. Tests dynamiques

Test de O'Sullivan :

- Indication : dépistage du diabète gestationnel.
- Produit administré : Glucose (50g), disponible au laboratoire
- Examens effectués : glycémie à T+60mn après ingestion de 50g de glucose (la glycémie à T0 n'est pas obligatoire)
- Déroulement de l'épreuve :
 - Ce test peut se faire chez une patiente à jeun (Dosage de la glycémie à T0 +T60mn) ou chez une patiente non à jeun avec dosage de la glycémie à T60mn après ingestion de 50g de glucose
 - Administrer à la patiente par voie orale 50 g de glucose = T0
 - Laisser la patiente au repos pendant une heure sous surveillance, sans manger (l'eau est autorisée).
 - Prélever une glycémie une heure après ingestion du glucose (T60).

Remarque : en cas de vomissements ou malaise vagal, l'épreuve est annulée.

Hyperglycémie provoquée 75g femme enceinte :

- Indication : dépistage du diabète gestationnel.
- Produit administré : Glucose (75g), disponible au laboratoire
- Examens effectués : glycémie à T0, T+60mn, T+120mn.
- Déroulement de l'épreuve :
 - La patiente doit être à jeun,



- Prélever 1 tube de glycémie initial,
 - Administrer à la patiente par voie orale 75 g de glucose (T0),
 - Laisser la patiente au repos pendant 2 heures sous surveillance, sans manger (l'eau est autorisée).
 - Prélever une glycémie 1 et 2 heures après ingestion du glucose (T60 et T120).
- Remarque : en cas de vomissements ou malaise vagal, l'épreuve est annulée.

Test d'HGPO = Hyper Glycémie Provoquée par voie Orale :

(En l'absence d'indication sur la prescription)

- Indications : Dépistage du diabète de type 2 ou de l'intolérance au glucose (HAS)
- Produit administré : Glucose (75g), disponible au laboratoire.
- Examens effectués : glycémies à 2 temps différents, T0 et T120 mn (Examens pouvant être effectuées en même temps : glycosurie, insuline, peptide C).
- Condition initiale du patient à jeun, repos strict pendant l'épreuve.
- Déroulement de l'épreuve :
 - prélever une glycémie à jeun (T0)
 - Tester la glycosurie et l'acétonurie par BU (si positive $\geq 3+$ ou Acétonurie ++ : stopper le test et prévenir le biologiste).
 - Prise standardisée de glucose par voie orale (OMS National Data Group ; British Diabetes Association) :
 - adulte : 75 g de glucose (à absorber en moins de 5 min)
 - enfant : 1,75g de glucose par kg de poids corporel, avec un max de 75 g

Remarque : en cas de vomissements ou malaise vagal, l'épreuve est annulée.

Prélèvement pour prolactine poolée

- Conditions initiales : Absence de conditions particulières sauf demande particulière du prescripteur
- Déroulement de l'épreuve :
 - Prélèvement T0 activité normale (pas d'activité intensive).
 - Réalisation de 3 prélèvements à 10 ou 15 minutes d'intervalle (patient au repos, non stressé), identifiés par des étiquettes avec l'heure de prélèvement (Prolactine T0, T15, T30 par exemple).

Test au Synacthène

- Préleveur : uniquement médecin biologiste ou infirmier (pour l'injection IM).
- Indication : Recherche d'une insuffisance surrénalienne.
- Produit administré : Synacthène® immédiat (ampoule de 0,25 mg), à se procurer en pharmacie sur prescription médicale, avec la seringue et l'aiguille IM.
- Conditions initiale du patient : sujet à jeun, au repos.
- Déroulement de l'épreuve :



- Prélèvement du cortisol à 8h00 ± 0h30 (T0)
- Injection d'1 ampoule de synacthène (0.25 mg/ml) en IM
- Prélèvement cortisol à T30 et/ou T60 selon l'ordonnance.

7. Classement et archivage

Le document « Classement et archivage des documents qualités réglementaires » décrit la durée et le lieu d'archivage de ces documents.

LA VERSION KALILAB FAIT FOI