



J-Laboratoire
Biologie clinique
rue Ferrer 159
B-7100 Haine Saint
Paul

**Manuel de prélèvement en
biologie moléculaire**

Ref : JLNW-BM-MQ001-06
Version : 05
Applicable le : 25-10-2021



MANUEL PREANALYTIQUE EN BIOLOGIE MOLECULAIRE

LABORATOIRE DE BIOLOGIE CLINIQUE

*Sites Jolimont, Lobbes, Nivelles, Tubize, Mons et Warquignies
(JLNTMW)*

Biologie Moléculaire

JOLIMONT

JLNW-BM-MQ001
Version 06

Rédacteur : S.Demartin

Vérificateur : G. Detry

Approbateur : D. Khuu

Table des matières

Introduction.....	5
Pourquoi un manuel préanalytique en biologie moléculaire ?	5
Présentation du manuel	5
Contacts.....	5
Consignes pour les prélèvements en biologie moléculaire	6
Au personnel médical et aux préleveurs... ..	7
Bon de demande d'analyse en biologie moléculaire	7
Quels sont les paramètres significatifs en préanalytique ?	8
Précautions lors de l'étape de prélèvement.....	8
Précautions après prélèvement.....	8
Matériel de prélèvement général.....	9
Matériel de prélèvement	9
❖ Prélèvements sanguins.....	9
❖ Pots à urine.....	9
❖ Tubes à PL (LCR).....	9
❖ Pots pour les prélèvements respiratoires : LBA, expectorations et autres	10
Prélèvements spécifiques a certaines analyses.....	11
Chlamydia Trachomatis et Neisseria Gonorrhoeae (CT/NG).....	11
❖ <i>Kit de prélèvement recommandé : Abbott multi-collect Specimen Collection Kit</i>	11
Human Papillomavirus (HPV)	15
❖ <i>Matériel de prélèvement recommandé : BD SurePath</i>	15
Frottis pour autres PCR (ex : Influenza, Herpès, Coqueluche...)	17
❖ <i>Kit de prélèvement «eswab» avec milieu de transport Amies</i>	17
❖ <i>Kits de prélèvements Copan Frottis avec milieu UTM</i>	18
➤ Kit de prélèvement pour vésicules et région ophtalmique.....	18
➤ Kit de prélèvement pour frottis nasopharyngés.....	18
Au personnel du laboratoire... ..	20
Aliquotage, conservation et transport des échantillons	20
Autres précautions spécifiques	21

Introduction

POURQUOI UN MANUEL PREANALYTIQUE EN BIOLOGIE MOLECULAIRE ?

Ce manuel est destiné à apporter des informations pratiques aux différents acteurs de la phase préanalytique en vue de garantir la qualité des prestations réalisées par le secteur de biologie moléculaire. Il vous renseigne sur les bonnes pratiques à adopter pour garantir une qualité optimale des résultats rendus, et de ce fait répondre au mieux aux attentes des cliniciens et aux besoins des patients.

Ce manuel est un complément du manuel de prélèvement général. Il convient donc de respecter les consignes du manuel de prélèvement général ainsi que celles du présent manuel de prélèvement en biologie moléculaire, reprenant les consignes spécifiques de ce type d'analyses.

PRESENTATION DU MANUEL

Le manuel de prélèvement décrit les critères importants pour l'obtention d'un résultat diagnostique de qualité. Il donne des instructions précises concernant le prélèvement et la manipulation des échantillons primaires, avant et après arrivée au laboratoire. De ce fait, le manuel est scindé en 2 parties :

- Première partie : s'adresse principalement au personnel médical et aux préleveurs
- Deuxième partie : s'adresse au personnel du laboratoire ainsi qu'aux navetteurs.

CONTACTS

L'équipe de biologie moléculaire reste à votre disposition pour toute question complémentaire. N'hésitez pas à nous contacter :

L'équipe de biologie moléculaire :

Biologiste responsable du secteur : 064 / 23 49 67

Responsable scientifique : 064 / 23 19 43

Secrétariat du laboratoire : 064/ 23 40 81

Chef de Service de Biologie Clinique : 064/ 23 40 88

CONSIGNES POUR LES PRELEVEMENTS EN BIOLOGIE MOLECULAIRE

Le document « Consignes pour les prélèvements en biologie moléculaire » reprend toutes les analyses réalisées en biologie moléculaire au sein du laboratoire de l'hôpital de Jolimont.

Vous y retrouverez, pour chacune des analyses :

- ❖ Les indications INAMI
- ❖ Le type de prélèvement sur lequel le test est réalisé
- ❖ Les précautions de conservation (avant l'analyse) des échantillons à respecter.

Ce document vous sera fourni avec le présent manuel s'il vous est transmis sous sa forme imprimée. Il vous est également possible de le retrouver sous format informatique dans le dossier informatique « Vademecum ».

Au personnel médical et aux préleveurs...

BON DE DEMANDE D'ANALYSE EN BIOLOGIE MOLECULAIRE

Il existe un bon de demande spécifique pour les analyses réalisées en biologie moléculaire.

Ce bon reprend toutes les analyses de biologie moléculaire réalisées au sein de notre laboratoire, ainsi que toutes les analyses de biologie moléculaire pour lesquelles le remboursement par l'INAMI est soumis à conditions, à savoir une prescription dans des indications bien définies par la nomenclature officielle de biologie clinique.

Ce bon reprend également, au verso, les analyses de biologie clinique les plus fréquemment demandées en association avec des tests de biologie moléculaire, pour vous faciliter la rédaction de la prescription d'analyse

Remplissez le bon de demande de manière optimale, c'est à dire en complétant **tous** les champs présents sur le bon ET en **cochant l'indication** pour laquelle l'analyse est souhaitée. Ce second point est fondamental pour l'obtention du remboursement du test par l'INAMI.

Lorsque vous souhaitez demander une analyse mentionnée sur ce bon mais dans une autre indication (hors INAMI), veuillez l'indiquer à côté de « autre indication ». Cette analyse sera facturée à charge du patient.

Lorsque vous souhaitez demander une analyse non mentionnée sur ce bon, ou dans une indication non reprise sur ce bon, veuillez mentionner l'analyse souhaitée dans le champ « autre(s) analyse(s) souhaitée(s) ».

L'ensemble du bon de biologie moléculaire est aussi disponible sous forme de prescription électronique dans Xperthis Care.

QUELS SONT LES PARAMETRES SIGNIFICATIFS EN PREANALYTIQUE ?

Vous trouverez les consignes générales pour les prélèvements dans le manuel de prélèvement du laboratoire. Les points ci-dessous sont des précautions spécifiques aux analyses de biologie moléculaire.

Précautions lors de l'étape de prélèvement

- ❖ Respectez le matériel de prélèvement recommandé. Référez-vous pour cela à notre document « Consignes pour les prélèvements en biologie moléculaire »

**Si l'échantillon est prélevé au moyen d'un matériel inapproprié
(tube erroné, kits pour prélèvements génitaux non recommandés...)
il ne pourra PAS être utilisé au laboratoire !**

- ❖ S'il s'agit d'un **prélèvement sanguin** destiné à une analyse en biologie moléculaire, il faut veiller à **ne pas contaminer l'échantillon avec de l'héparine**, inhibiteur de la polymérase (enzyme amplificatrice du matériel génétique).

Dans le cas où plusieurs tubes de sang doivent être prélevés, il convient donc de respecter un ordre de prélèvement évitant cette contamination des échantillons. **Le prélèvement pour la biologie moléculaire doit toujours être effectué avant le prélèvement d'un tube hépariné.**

- ❖ S'il s'agit de **prélèvements urinaires, vaginaux, cervicaux ou urétraux**, les kits de prélèvement à utiliser sont spécifiques des méthodes validées dans notre laboratoire. Les kits recommandés sont renseignés dans le document « Consignes pour les prélèvements en biologie moléculaire ». Vous trouverez ci-dessous, un descriptif détaillé de la méthode de prélèvement en fonction du kit utilisé.
- ❖ Rappelez-vous que tout échantillon doit être considéré comme infectieux. Pour votre propre sécurité, il vous est conseillé de porter des gants. Le port de **gants sans talc** est requis lorsque l'échantillon à prélever est destiné à des analyses de biologie moléculaire car des traces de talc peuvent inhiber les réactions analytiques.

Précautions après prélèvement

- ❖ Respectez strictement les **températures** de conservation et le **délai** maximum de transport des échantillons au laboratoire renseignés dans le document « Consignes pour les prélèvements en biologie moléculaire ».

De mauvaises conditions de températures ou un délai trop long peuvent altérer les composants de l'échantillon qualitativement et/ou quantitativement, engendrant un résultat potentiellement erroné.

MATERIEL DE PRELEVEMENT GENERAL

Le laboratoire met à votre disposition le matériel de prélèvement ci-dessous. Vérifiez toujours la date de péremption du matériel utilisé (tubes de prélèvement sanguin, kit de prélèvement Abbott, ...). N'utilisez pas le matériel après la date d'expiration.

Matériel de prélèvement

Le matériel donné en exemple ci-dessous est celui mis à votre disposition par le laboratoire et l'économat central. Cependant, en ce qui concerne les prélèvements sanguins, tout autre matériel équivalent est accepté (ex : autre marque de tubes EDTA).

❖ Prélèvements sanguins

Les échantillons sanguins doivent être prélevés dans des **tubes EDTA** (correspondant par exemple, aux tubes à bouchon mauve des marques BD et Terumo).

❖ Pots à urine



- ❖ Pot droit de 180 mL PP TP50 à couvercle bleu (JLNT) ou rouge (MW) à visser.



- ❖ Tubes BD Vacutainer pour les prélèvements urinaires.

❖ Tubes à PL (LCR)



- ❖ Tube de 15 mL, 120 mm/ Ø17 mm en polypropylène à bouchon rouge (JLNT) ou blanc (MW) conique à plat gradué, stérile et apyrogène

❖ **Pots pour les prélèvements respiratoires : LBA, expectorations et autres**



- ❖ Pot droit de 180 mL PP TP50 à couvercle bleu à visser.



- ❖ Pot droit de 200 ml PP à couvercle blanc à visser.

PRELEVEMENTS SPECIFIQUES A CERTAINES ANALYSES

Chlamydia Trachomatis et Neisseria Gonorrhoeae (CT/NG)

❖ **Kit de prélèvement recommandé : Abbott multi-collect Specimen Collection Kit**

Le kit se conserve entre 15-30°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur la boîte. Les prélèvements peuvent se faire chez les hommes et les femmes.

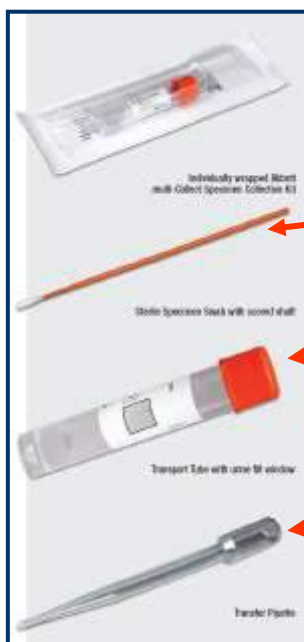
❖ **Types de prélèvements réalisables**

- ❖ Femmes : écouvillons endocervicaux, vaginaux et prélèvements urinaires.
- ❖ Hommes : écouvillons urétraux et prélèvements urinaires.

❖ **Composants du kit :**

Le kit contient :

- une pipette de transfert
- un tube de transport (avec bouchon orange) qui contient 1.2 mL de tampon de transport des échantillons permettant de stabiliser l'ADN jusqu'à la préparation.
- un écouvillon de prélèvement stérile emballé séparément.



Écouvillon (Swab-inutile en cas de prélèvement urinaire)

Tube de transport contenant 1.2 mL de tampon de transport

Pipette de transfert (Inutile lors des frottis vaginaux, endocervicaux et urétraux)

❖ Instructions pour le prélèvement

Veillez suivre les instructions de l'insert de kit, reprises ci-dessous. Le respect de toutes les consignes de prélèvement est **primordial** au bon déroulement du test et à l'obtention d'un résultat diagnostique correct.

Pour les prélèvements urinaires :



1. Le patient ne doit pas avoir uriné dans l'heure précédant le prélèvement de l'échantillon urinaire.

2. Jeter écouvillon de prélèvement, il n'est pas nécessaire pour ce prélèvement.

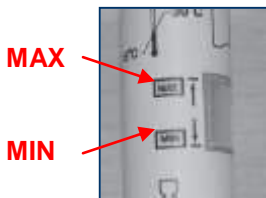


3. Le patient doit recueillir les **premiers** 20 à 30 mL de l'urine (la première partie du jet) dans un récipient de collecte d'échantillons d'urine (non fourni dans le kit).

4. Dévissez le bouchon du tube de transport, en prenant soin de ne pas y renverser du tampon de transport.



5. Manipulez le capuchon et le tube avec précaution pour éviter la contamination à l'intérieur et à l'extérieur du tube de transport et du capuchon. Si nécessaire changez de gants.



6. Utilisez la pipette en plastique **pour transférer l'urine** du pot de collecte dans le tube de transport. Remplissez jusqu'à ce que le niveau de liquide soit visible dans la fenêtre de remplissage de l'étiquette du tube de transport : **le niveau d'urine DOIT se situer entre les limites MAX-MIN**. Ne remplissez pas de trop.

CETTE ETAPE EST A REALISER PAR LE PRELEVEUR.

7. Ecrivez sur une étiquette adhésive, collée au tube de transport, les informations d'identification de l'échantillon, y compris la date de collection. Prenez soin de ne pas occulter la fenêtre de remplissage sur le tube de transport.

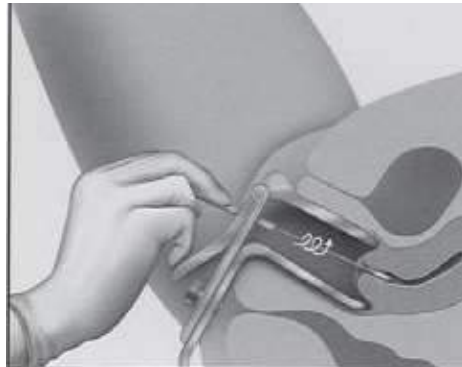
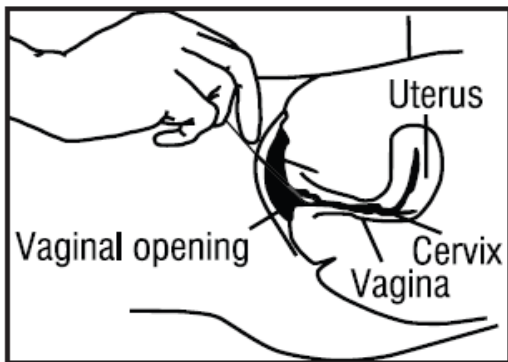
8. Décontaminez et éliminez tous les échantillons, réactifs et autres matériaux potentiellement contaminés conformément aux réglementations locales, étatiques et fédérales en vigueur.

Pour les prélèvements Vaginaux / Endocervicaux par écouvillon :

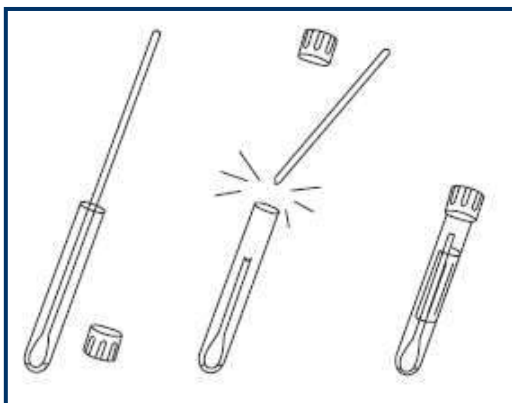
ATTENTION : N'exposez PAS l'écouvillon au tampon de transport AVANT le prélèvement.



1. Jetez la pipette de transfert, elle n'est pas nécessaire pour ce prélèvement.
2. Retirez l'écouvillon stérile de son emballage. Prenez garde à ce que la pointe de l'écouvillon ne touche rien.
3. Insérez l'extrémité blanche de l'écouvillon de prélèvement d'environ 5 cm (2 pouces) dans l'ouverture du vagin ou dans le canal endocervical.
4. Tournez doucement l'écouvillon pendant 15 à 30 secondes contre les parois du vagin ou contre les parois du canal endocervical.



5. Retirez délicatement l'écouvillon.



6. Manipulez le capuchon et le tube avec précaution pour éviter la contamination à l'intérieur et à l'extérieur du tube de transport et du capuchon. Si nécessaire changez de gants.

7. Dévissez le bouchon du tube de transport et placez immédiatement l'écouvillon de prélèvement dans le tube de transport de sorte à ce que la pointe blanche soit vers le bas.

8. Brisez soigneusement la tige au niveau de la ligne marquée sur le « manche ». Procédez avec précautions afin d'éviter les éclaboussures.

9. Rebouchez le tube de transport. Assurez-vous que le bouchon soit fermé hermétiquement.

10. Identifiez l'échantillon avec une étiquette adhésive, collée au tube, sur laquelle sont écrites les informations d'identification de l'échantillon, y compris la date de collection.

Pour le prélèvement urétral chez l'homme :

ATTENTION : N'exposez PAS l'écouvillon au tampon de transport AVANT le prélèvement.



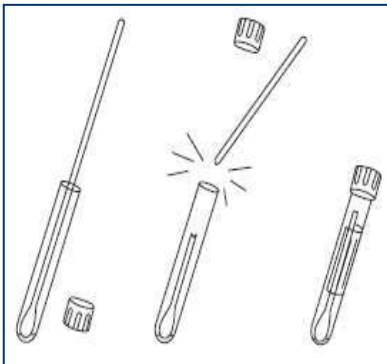
1. Le patient ne doit pas avoir uriné dans l'heure précédant le prélèvement.
2. Jeter la pipette de transfert, elle n'est pas nécessaire pour ce prélèvement.
3. Retirez l'écouvillon stérile de son emballage. Prenez garde à ce que la pointe de l'écouvillon ne touche rien.



4. Insérez l'extrémité blanche de l'écouvillon de 2 à 4 cm dans l'urètre.
5. Faire tourner doucement l'écouvillon pendant 2 à 3 secondes pour assurer un échantillonnage adéquat.



6. Retirer délicatement l'écouvillon.



7. Manipulez le capuchon et le tube avec précaution pour éviter la contamination à l'intérieur et à l'extérieur du tube de transport et du capuchon. Si nécessaire changez de gants.

8. Dévissez le bouchon du tube de transport et placez immédiatement l'écouvillon de prélèvement dans le tube de transport de sorte que la pointe blanche soit vers le bas.

9. Briser soigneusement la tige au niveau de la ligne marquée sur le « manche ». Procédez avec précautions afin d'éviter les éclaboussures.

10. Rebouchez le tube de transport. Assurez-vous que le bouchon soit bien fermé.

11. Identifiez l'échantillon avec une étiquette adhésive, collée au tube, sur laquelle sont écrites les informations d'identification de l'échantillon, y compris la date de collection.

Human Papillomavirus (HPV)

❖ Matériel de prélèvement recommandé : BD SurePath

Sur ce type de prélèvement, la cytologie ET la recherche d'HR-HPV sont réalisables.

➔ BD SurePath Collection Vial et Rovers Cervex-Brush (BD).

Conservation à température ambiante (15-30°C).

➔ Composants :

- Le BD SurePath Collection Vial contient une solution de conservation à base d'alcool servant de milieu de transport, de conservation et antibactérien pour les échantillons gynécologiques.
- Ecouvillon pour cellules cervicales, non-stérile, A usage unique.



➔ Instructions pour le prélèvement :

Une méthode de prélèvement simple et standardisée

<p>1. Prélevez</p>  <p>Prélevez à l'aide d'une cytobrosse ou d'un dispositif associant brosse et spatule en plastique avec des têtes détachables</p>	<p>2. Détachez</p>  <p>Placez la tête détachable dans le flacon BD SurePath™</p>	<p>3. Envoyez</p>  <p>Etiquetez et envoyez le flacon BD SurePath™ au laboratoire</p>
--	--	--

➔ Précautions particulières :

- Etant donné que les écouvillons ne disposent pas d'un emballage individuel, prendre un écouvillon dans le sachet avec les précautions nécessaires pour ne pas contaminer les autres écouvillons restant dans le sachet (gants propres)
- Ne pas utiliser quand l'emballage est détérioré.

→ Contre-indications :

Ne pas utiliser la Cervex-Brush après les 10 premières semaines de grossesse.

→ Utilisation :

1. Insérer les fibres centrales de la brosse dans le canal endocervical.
2. Tourner 5 fois la Cervex-Brush dans le sens des aiguilles d'une montre en maintenant une pression légère.
3. Introduire la Cervex-Brush et placer la tête détachable dans le pot contenant le liquide conservateur.
4. Refermer le pot.

Frottis pour autres PCR (ex : Influenza, Herpès, Coqueluche...)

❖ **Kit de prélèvement « eswab » avec milieu de transport liquide Amies**

(disponibles à l'économat central sous la référence : « frottis gorge nr. A145267 »)

NB : convient également pour la recherche d'antigène (ex : Influenza) mais PAS pour culture virale.



Remarque :

Ce kit est utilisé en première intention dans le secteur de microbiologie pour la détection de l'ADN d'Influenza (grippe) sur le Cobas Liat.

En cas d'indisponibilité de ces Eswab, la détection peut se réaliser à partir d'un prélèvement réalisé avec les kits Copan UTM avec Floq swab flexible (références : 360C et 305C, deuxième intention) ou les kits Copan UTM avec Floq swab rigide (références : 359C et 350C associé aux écouvillons 533CS01)

Voir ci dessous

❖ **Kits de prélèvements Copan Frottis avec milieu UTM**

➤ **Kit de prélèvement pour vésicules et région ophtalmique**

❖ « Copan UTM Regular Floqswab » (réf M10231/359C/1ml)

Ecouvillon rigide approprié pour un frottis voire un « grattage » de vésicules.
Fourni PAR LE LABORATOIRE sur demande

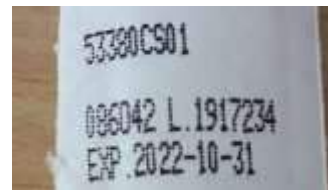


❖ Tube et écouvillon disponibles séparément:

Tube Copan UTM (réf. 350C/1ml)

Ecouvillon rigide (réf.533CS01)

Fourni PAR LE LABORATOIRE sur demande



➤ **Kit de prélèvement pour frottis nasopharyngés**

Cas particulier : prélèvement PCR SARS CoV2 → voir instruction JLNW-G-IT001

❖ « Copan UTM Flexible MinitipFloqswab » (réf M10233/360C/1ml ou M10230/305C/3ml)

Ecouvillon souple approprié pour un accès à la zone nasopharyngée.

Fourni PAR LE LABORATOIRE sur demande



360C
EXP. 2018/16
CONTENTS:
ID: COLLECTION SWAB LOT C08000
VD: TUBE WITH MEDIUM LOT 501132



305C
EXP. 2018/15
CONTENTS:
ID: COLLECTION SWAB LOT J60700
VD: TUBE WITH MEDIUM LOT 467108

Au personnel du laboratoire....

ALIQUOTAGE, CONSERVATION ET TRANSPORT DES ECHANTILLONS

Le respect strict des bonnes conditions de manipulation, de température et de délai en ce qui concerne l'aliquotage, la conservation et le transport des échantillons est essentiel. En effet, si ces conditions ne sont pas respectées, l'échantillon peut se dégrader, ce qui empêcherait l'obtention d'un bon résultat analytique (résultat faussement négatif).

Dans tous les cas, le transport de l'échantillon du lieu de prélèvement au laboratoire d'un des 4 sites doit se faire le plus vite possible.

Veillez vous reporter au document « Consignes de prélèvement en biologie moléculaire » qui apporte des précisions importantes, complémentaires à ce Manuel préanalytique en biologie moléculaire. Il est disponible :

- Pour les prescripteurs et préleveurs internes : dans le « Vademecum »
- Pour les prescripteurs et préleveurs externes : sur le site internet : <http://www.jolimont.be>
- Pour le personnel de laboratoire : dans Kalilab (JLNT-BM-IT002), où vous retrouverez également le présent Manuel préanalytique en biologie moléculaire (JLNW-BM-MQ001) mais aussi la Procédure générale de transport des échantillons (JLNT-G-P015)

AUTRES PRECAUTIONS SPECIFIQUES

Les analyses réalisées en biologie moléculaire visent, pour la plupart, à déceler la présence de pathogènes dans l'échantillon biologique via la détection de son matériel génétique (ADN ou ARN). Au plus le test sera sensible, au plus il sera efficace. Ces analyses sont donc **extrêmement sensibles**.

Par conséquent, les risques de **contamination** des échantillons sont importants et une contamination même négligeable **conduirait inmanquablement** à un résultat diagnostique erroné (résultat faussement positif). Une attention doit donc être apportée aux manipulations des prélèvements destinés aux analyses de biologie moléculaire afin d'éviter les contaminations des échantillons, mais aussi de la surface de travail et du matériel.

De plus, l'ADN ou l'ARN recherché dans le test sont des molécules très sensibles au milieu environnant. Des **précautions particulières** doivent donc être prises :

- ❖ Utilisez du matériel à **usage unique** pour ne pas contaminer les échantillons.
- ❖ Le port de **gants sans talc** est vivement conseillé, spécialement à partir de l'étape de centrifugation et pour l'aliquotage.
- ❖ Changez de gants régulièrement et systématiquement s'ils sont souillés.
- ❖ Lors de l'utilisation de micropipettes, utilisez des embouts (tips) à **filtres**, ne les utilisez qu'une seule fois.
- ❖ Les embouts doivent être assez longs pour empêcher la contamination du corps de la pipette.



- ❖ Ne jamais utiliser un tube ayant déjà été utilisé pour une autre analyse qu'une analyse de biologie moléculaire.