Procédures opérationnelles standardisées pour l’essai LAKANA

**POS Lab-03 : Traitement de l’échantillon d’écouvillon rectal**Version 2.0 (2021-04-20)

**1. Objectif et aperçu :**

Cette procédure opérationnelle standardisée (POS[[1]](#footnote-1)) explique comment traiter et conserver les échantillons d’écouvillons rectaux après leur réception au laboratoire pour la sous-étude sur la résistance aux antimicrobiens (RAM) de l’essai LAKANA.

# 2. Applicabilité et responsabilités des différents membres du personnel

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Membre du personnel**  |  | **Responsabilité**  |
| Conducteur/messager | -  | Transporter les échantillons collectés vers le laboratoire désigné dans une glacière. |
| Technicien de laboratoire  | -  | Maintenir suffisamment de matériel de stockage dans le laboratoire  |
|  | -  | Réceptionner les échantillons et imprimer de nouvelles étiquettes à code-barres des tubes cryo  |
|  | -  | Traiter et stocker les échantillons rectaux en utilisant de bonnes techniques aseptiques  |
|  | -  | Enregistrer précisément les spécimens qui sont traités  |

# 3. Matériel nécessaire

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Article**  | **Numéro**  | **Caractéristiques**  |
| Désinfectant  | 1  | Eau de Javel à 10 % et éthanol à 70 %.  |
| Vortex  | 1  | Aucune  |
| Marqueur permanent  | 1  | Aucune  |
| Étiquettes de code-barres pour les échantillons  | 3/participant  | Aucune  |
| Conteneurs pour déchets à risque biologique  | 1  | Aucune  |

# 4. Définitions et instructions générales

##  4.1. Définitions

4.1.1. Conducteur/messager : conducteur et/ou messager responsable(s) du transport des échantillons biologiques du site de prélèvement vers un laboratoire.

4.1.2. Technicien de laboratoire : membre du personnel du laboratoire chargé de la réception des échantillons, du traitement et du stockage des échantillons de l’étude LAKANA.

##  4.2. Instructions générales

4.2.1. Les échantillons biologiques suivants sont traités et conservés à chaque point temporel

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Échantillon  | **étiquette**  | **Température (oC)**  |
| Écouvillon dans le milieu Cary Blair  | Tube 1  | -80 ou entre 2 et 8 si cultivé dans les 48h  |
| Écouvillon dans le milieu DESS  | Tube 2 | -80  |
| Écouvillon rectal sec  | Tube 3  | -80  |

#

# 5. Procédures étape par étape

## 5.1. Réception et traitement initial de l’échantillon rectal au laboratoire d’analyse

5.1.1. Lors de la remise de l’échantillon rectal (il doit y en avoir 3 par participant) par le conducteur/messager, le technicien de laboratoire vérifie que tous les formulaires de collecte de données (DCF) 13 (prélèvement d’échantillons biologiques) sur tablette ou 13a-RAM (annexe 1), le carnet d’échantillons (annexe 2) et l’échantillon rectal respectif ont des identifiants correspondants. S’ils correspondent, le technicien de laboratoire passe à l’étape suivante. S’ils ne correspondent pas, le technicien de laboratoire contacte l’infirmière qui a prélevé l’échantillon et rempli le DCF13 ou 13a-RAM pour résoudre les divergences. Si les problèmes ne peuvent être résolus, l’échantillon est éliminé.

5.1.2. Le technicien de laboratoire remplit ensuite le formulaire de réception des échantillons (annexe 3) et suit la procédure standardisée de réception et de manipulation des échantillons biologiques (annexe 4). Le technicien enregistre l’échantillon rectal dans le registre du laboratoire - FreezerPro (nom du projet, AMR, numéro de visite, type d'échantillon, numéro d’identification du participant (IDP), date et heure de réception au laboratoire et températures minimales et maximales depuis le placement dans la glacière).

**Remarque :** s’il n’y a pas de logiciel FreezerPro ou s’il y a un problème de connexion, le technicien de laboratoire enregistre les informations ci-dessus dans le fichier du journal de bord sur l’ordinateur (par exemple Excel) ou dans le journal de bord manuel qui peut être téléchargé ou saisi ultérieurement dans FreezerPro.

5.1.3. Imprimez 3 nouvelles étiquettes à code-barres avec l’acronyme de l’étude (LAKANA-AMR), le numéro IDP, l’heure de la visite, le numéro du tube (tubes 1 à 3), le type d’échantillon et l’ID unique de l’échantillon (à partir de l’étiquette à code-barres sur le tube de l’échantillon).

**Remarque :** si les étiquettes à code-barres ne sont pas disponibles, écrivez les étiquettes à la main avec les informations ci-dessus sur le tube d’échantillon et enregistrez-les dans un journal de bord.

5.1.4. Apposez une nouvelle étiquette à code-barres (tube 1) sur le tube de milieu Cary Blair avec écouvillon rectal et sur le tube de milieu DESS avec écouvillon rectal (tube 2).

5.1.5. Apposez la dernière nouvelle étiquette à code-barres (tube 3) sur le tube de 2 mL reçu avec un écouvillon sec à l’intérieur.

5.1.6. Nettoyez toutes les surfaces de travail avec de l’eau de Javel à 10 % puis avec de l’éthanol à 70 %.

5.1.7. Vortexez les tubes d’échantillon reçus avec le milieu Cary Blair (tube 1) contenant l’échantillon rectal pendant 30 secondes.

5.1.8. Placez les 3 tubes (tubes 1-3) dans un congélateur à -80°C, si la culture d’*E. coli* en lot et le test RAM vont être effectués ultérieurement. Enregistrez l’emplacement de chaque tube dans le plan du congélateur ou dans un carnet de bord.

5.1.9. Si la culture d’*E. coli* à partir de l’échantillon rectal doit être effectuée dans les 48 heures, le tube 1 contenant le milieu Cary Blair peut être placé temporairement entre 2 et 8°C jusqu’à ce que la culture soit prête (pas plus de 48 heures après le prélèvement de l’échantillon). Tous les autres tubes (tubes 2 et 3) doivent être congelés à -80°C. Le tube 2 sert de réserve.

# 6. Problèmes de sécurité au travail

6.1. Tous les membres de l’équipe d’étude qui entreprennent cette procédure standardisée doivent être formés aux bonnes pratiques de laboratoire clinique.

6.2. Tous les membres de l’équipe d’étude manipuleront tous les échantillons rectaux avec soin et les traiteront comme du matériel potentiellement infectieux.

# 7. Assurance Qualité / Contrôle Qualité

Tous les membres du personnel de l’étude qui seront amenés à traiter des écouvillons rectaux suivront une formation pratique. Le personnel de l’étude ne sera pas autorisé à traiter les échantillons rectaux tant qu’un superviseur de laboratoire n’aura pas évalué ses compétences et signé dans le registre de formation.

# 8. Annexes et autres documents connexes

|  |  |
| --- | --- |
| **Numéro du document**  | **Contenu du document**  |
| Annexe 1  | Formulaire de collecte de données (DCF) 13a-RAM |
| Annexe 2  | Exemple de journal de bord  |
| Annexe 3  | Formulaire de réception des échantillons de laboratoire  |
| Annexe 4  | POS - Réception d’échantillons biologiques  |

# 9. Historique des versions, auteurs et approbations

|  |  |
| --- | --- |
| **Version (date)**  | **Modifications du texte de la POS (auteur)**  |
| 2.0 (2021-04-20) | Changement de numéro de flacon (pas d'aliquote pour le flacon Cary Blair) et suppression de matériel et texte correspondant à la réalisation d'aliquotes. Approuvée par le PSG de LAKANA le 20 avril 2021. |
| 1.0 (09.03.2021)  | Rédigée par Dagmar Alber, Elaine Cloutman-Green et Yuemei Fan. Approuvée par LAKANA PSG le 9 mars 2021.  |

# Annexe 1 : Formulaire de collecte de données (DCF) 13a-RAM

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **En-tête de section**  | **Texte de la question**  | **Réponses aux questions**  | **Requis**  |
| Formulaire 13a - Prélèvement d’échantillons biologiques - RAM  | Instructions : remplissez ce formulaire pour les enfants du groupe d’âge ciblé (4 à 14 mois et 49 à 59 mois).  |
|   | Identification de l’enquêteur (ID de l’infirmière de l’étude)  |   | Oui  |
|   | Identification de l’enfant (autocollant d’identification de l’enfant)  |   | Oui  |
| A. INFORMATIONS SUR LA VISITE  | 1. Date  |   | Oui  |
|   | 2. Cycle AMM (numéro de visite)  |   | Oui  |
|   | 3. Lieu de prélèvement de l’échantillon  | Place centrale du village / installation pop-up  |   |
|   | 4. Groupe d’âge des enfants  | 4 à 14 mois | 49 à 59 mois  | Oui  |
| B. COLLECTE DES ÉCHANTILLONS  | 5. Quels sont les échantillons collectés ?  | Écouvillon rectal | Écouvillon nasopharyngé  | Oui  |
|   | 6. Combien d’écouvillons rectaux ont été prélevés ?  | 0 | 1 | 2 | 3  | Oui  |
|   | 6a. À quelle heure les écouvillons rectaux ont-ils été prélevés ?  |   | Oui  |
|   | 6b. Identifiant (code-barres) du premier écouvillon rectal dans le tube de milieu Cary-Blair  |   | Oui  |
|   | 6c. Identifiant (code-barres) du deuxième écouvillon rectal dans le tube de milieu DESS  |   | Oui  |
|   | 6d. Identifiant (code-barres) du troisième écouvillon rectal sec  |   | Oui  |
|   | 7. Combien d’écouvillons nasopharyngés ont été recueillis dans le milieu STGG ?  | 0 | 1  | Oui  |
|  | 7a. À quelle heure l’écouvillon nasopharyngé a-t-il été prélevé ?  |   | Oui  |
|  | 7b. Identifiant (code-barres) de l’écouvillon nasopharyngé  |   | Oui  |

# Annexe 2 : Exemple de journal de bord

## Nom de l’étude : LAKANA-RAM

**Nom du village :**

**Infirmière de l’étude (collecteur d’échantillons) :**

**Date :**

Date Mois Année

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Numéro de compte**  | **ID du participant**  | **Numéro d’AMM**  | **Type d’échantillon**  | **ID de l’échantillon** **(n° de codebarres)**  | **Temps de collecte**  | **Temp. de** **la glacière**  | **Nom du conducteur/messager**  | **Nom du** **destinataire au laboratoire**  |
| 1  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 2  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 4  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 5  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 6  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 7  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 8  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 9  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 10  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 11  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 12  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 13  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 14  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 15  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 16  |  |  |  |  |  |  |  |  |

## Annexe 3 : Formulaire de réception des échantillons de laboratoire

**CENTRE POUR LE DEVELOPPEMENT DES VACCINS-MALI (CVD-MALI)**

**Département de Microbiologie et de Biologie Moléculaire**

**FORMULAIRE DE RÉCEPTION DES ÉCHANTILLONS DE LABORATOIRE**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| **ID du participant :**...  |  | **Site :** ...  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
| **Collecte d’échantillons**  |   |   |   |   |   |   |
| **Date** : ...... ..../........... / ........(JJ/MM/AAAA)  |   |   |   |   |   |   |
| **Heure :** /… ...........(24H00)  |   |   |   |   |   |   |
|  |   |   |   |   |   |   |
| **Réception des échantillons au laboratoire**  |  |   |   |   |   |   |
| **Date :** ... ...../........... / ........ (JJ/MM/AAAA)  |   |   |   |   |   |   |
| **Heure :** ... ......./…… ........ (24H00)  |   |   |   |   |   |   |
|  |   |   |   |   |   |   |
| **Critères d’acceptation/de rejet des échantillons**  |  |   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |   |   |
| Q1. L’échantillon est-il correctement étiqueté ?  |   |   | Oui  | ⃝  | Non  | ⃝  |
|   |   |   |   |   |   |   |
| Q2. Le récipient de l’échantillon est-il bien fermé ?  |   |   | Oui  | ⃝  | Non  | ⃝  |
|   |   |   |   |   |   |   |
| Q3. La température est-elle adéquate (entre 2 et 8°C) ?  |   |   | Oui  | ⃝  | Non  | ⃝  |
|   |   |   |   |   |   |   |
| Q4. Le délai de collecte des échantillons jusqu’à leur livraison au laboratoire est-il adéquat (dans les 72 heures) ?  | Oui  | ⃝  | Non  | ⃝  |
|   |   |   |   |   |
| Q5. Les informations figurant sur le CRF correspondent-elles aux informations figurant sur l’échantillon ?  | Oui  | ⃝  | Non  | ⃝  |
|   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |
|  Q6. L’échantillon est-il acceptable pour le traitement ?  | Oui  | ⃝  | Non  | ⃝  |
|   |   |   |   |   |
|   |   |   |   |   |
| **Technicien de laboratoire :** ... ................................................................. | **Date** :....../....../......**JJ/MM/AAAA)**  |

## Annexe 4 : POS - Réception des échantillons biologiques

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  **CENTRE POUR LE DEVELOPPEMENT DES VACCINS-MALI** **(CVD-MALI)**   | **Code**  |   |
| **Version**  | 2  |
| **De**  | MAI 2020  |
| **Revue suivante** |  MAI 2021  |
| **Pages**  | 2  |
| **Auteur** **signature**  |   |

# PROCÉDURE OPÉRATIONNELLE STANDARDISÉE

**Réception d’échantillons biologiques**

## 1. Objectif

Cette procédure opérationnelle standardisée fournit des instructions pour la réception et la manipulation des échantillons d’étude biologiques destinés à l’analyse et au stockage en laboratoire.

## 2. Responsabilités

* Le directeur du laboratoire ou son représentant est chargé de veiller à ce que le protocole soit exécuté comme indiqué.
* Le directeur du laboratoire ou son représentant est chargé de veiller à ce que le personnel soit formé à l’exécution de ce protocole.
* Le technicien de laboratoire est responsable de l’exécution précise et ponctuelle de la procédure.

## 3. Documents

Directives provisoires des Centers for Disease Control and Prevention (CDC) pour le prélèvement, la manipulation et l’analyse des échantillons cliniques

## 4. Matériel

* Porte-tubes / rack
* Boîtes de rangement des échantillons 9 x 9 ou 10 x 10
* Réfrigérateur (entre 2 et 8°C)
* Congélateur à -80°C
* Équipement de protection individuelle (EPI)
* Étiquettes pour les aliquotes d’échantillons
* Embouts de pipette de 1 ml
* Pipettes Pasteur en plastique
* Micropipette de 1 ml
* Vortex
* Tubes Sarstedt de 1,5 ml
* Armoire de sécurité biologique de classe II (BSL-2) • Eau de Javel à 10 % / Virkon
* Éthanol à 70 %.
* Ciseaux

## 5. Biosécurité

* Tous les échantillons biologiques doivent être considérés comme dangereux et doivent être traités et transformés conformément aux directives de biosécurité appropriées.
* Un EPI approprié doit toujours être porté avant de manipuler des échantillons.
* Les postes de travail, les équipements et les matériaux doivent être nettoyés avec de l’eau de Javel à 10 % puis de l’éthanol à 70 % avant et après le travail.
* Tous le matériel entrant en contact avec les échantillons doit être éliminé conformément aux directives de biosécurité.
* Les déchets à risque biologique doivent être éliminés de manière appropriée, conformément aux directives de biosécurité.

## 6. Procédure

* Lavez vos mains avec du savon et de l’eau courante et séchez-les avec un mouchoir en papier ou désinfectez-les avec des désinfectants pour les mains à base d’alcool.
* Portez un équipement de protection individuelle (EPI) approprié, notamment une blouse de laboratoire, des lunettes de protection, un écran facial, des masques nasaux, des gants et des chaussures de protection, si nécessaire, avant de toucher ou de manipuler les échantillons.
* Utilisez de l’eau de Javel à 10 % puis de l’éthanol à 70 % pour nettoyer les tables de travail et la hotte biologique.
* Préparez de l’eau de Javel à 10 % ou du virkon dans un bocal de désinfection et placez-le sous la hotte biologique.
* Nettoyez un porte-tube/rack avec de l’eau de Javel à 10 % et de l’éthanol à 70 %.
* Placez le porte-tube/rack dans l’armoire de biosécurité.
* Vérifiez la date et l’heure du prélèvement sur le formulaire d’accompagnement de l’échantillon. **Remarque :** cela doit être conforme au protocole de l’étude.
* Ouvrez délicatement la glacière et vérifiez la température à laquelle les échantillons ont été transportés.
* Enregistrez la température sur le formulaire de réception des échantillons. • Retirez et placez l’échantillon emballé dans une armoire de sécurité BSL-2.
* Vérifiez l’échantillon par rapport aux critères d’acceptation/de rejet ci-dessous :

i. la température est adéquate (entre 2 et 8°C), ii. le récipient de l’échantillon est bien fermé,

* 1. l’échantillon est correctement étiqueté et les informations figurant sur le récipient de l’échantillon correspondent aux informations figurant sur le formulaire de demande du laboratoire qui l’accompagne,
	2. le volume de l’échantillon est adéquat selon les exigences de l’étude,
	3. le prélèvement et le transport des échantillons sont conformes au protocole de l’étude.
* Si toutes les conditions ci-dessus sont remplies, procédez à la réception des échantillons. Dans le cas contraire, conservez l’échantillon entre 2 et 8 °C dans un réfrigérateur et informez les équipes de collecte et de soumission des échantillons afin de résoudre les problèmes. Si les problèmes ne peuvent être résolus, rejetez l’échantillon et informez l’équipe chargée de l’étude clinique.
* Sous une hotte BSL-2, aliquotez les échantillons dans des tubes (1,5 ml ou 2 ml) selon le protocole de l’étude. Si l’aliquotage n’est pas nécessaire, traitez/testez les échantillons comme requis par le protocole de l’étude, puis procédez à l’étiquetage et au stockage de l’ensemble des échantillons dans les conditions requises.
* Imprimez des étiquettes d’échantillons à code-barres et collez-les sur les différentes aliquotes selon le protocole.
* Utilisez le logiciel d’inventaire d’échantillons approprié, par exemple FreezerPro, Global Trace, etc., pour numériser les échantillons et placez-les à leur emplacement dans la boîte à échantillons, puis procédez au stockage des échantillons dans les conditions requises.
* Transportez les échantillons dans le congélateur désigné de la chambre froide et placez-les à leur emplacement correspondant dans la boîte à échantillons, comme dans l’inventaire de stockage.
* Conservez les échantillons pour un stockage à long terme à -80°C.
* Remplissez un formulaire de réception d’échantillons si l’étude l’exige.
* Jetez les déchets biologiques dans les conteneurs appropriés pour les risques biologiques.
* Nettoyez les tables de travail et la hotte biologique avec de l’eau de Javel à 10 % puis de l’éthanol à 70 %.
* Retirez et éliminez les EPI avec précaution. Désinfectez les EPI réutilisables avec de l’eau de Javel à 10 % puis de l’éthanol à 70 % et stockez-les de manière appropriée.
* Lavez vos mains soigneusement avec du savon et de l’eau courante.
* Séchez vos mains avec un mouchoir en papier et jetez-les dans les sacs poubelle.
* Désinfectez les mains avec un gel désinfectant pour les mains.

1. Abréviations : RAM = résistance antimicrobienne, DCF = formulaire de collecte de données, DESS = DMSO/EDTA/chlorure de sodium saturé, LAKANA = évaluation à grande échelle des principales activités de promotion de la santé de deux nouveaux régimes d’administration massive de médicaments à l’azithromycine, IDP = identification du participant, POS = procédure opérationnelle standardisée [↑](#footnote-ref-1)