

1. Objectif et aperçu :

Cette procédure opérationnelle standardisée (POS¹) explique comment traiter et conserver les échantillons d'écouvillons nasopharyngés (NPS) 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 les nouvelles étiquettes à code-barres des tubes cryo - Traiter et stocker les échantillons de NPS en utilisant une bonne technique aseptique. - Enregistrer précisément les échantillons qui sont traités

3. Matériel nécessaire

Article	Numéro	Caractéristiques
Désinfectant	1	Eau de Javel à 10 % et éthanol à 70 %.
Vortex	1	Aucune
Pipette	1	P1000
Embouts de pipette	1/participant	1 mL
Tubes cryogéniques ou tube à bouchon à vis de 2 mL avec joint torique	1/participant	Aucune
Marqueur permanent	1	Aucune
Étiquettes de code-barres pour les échantillons	2/participant	Aucune

¹ Abréviations : RAM = résistance antimicrobienne, DCF = formulaire de collecte de données, 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, NPS = écouvillon nasopharyngé, IDP = identification du participant, POS = procédure opérationnelle standardisée

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 collecte des échantillons vers un laboratoire.
- 4.1.2. Technicien de laboratoire : membre du personnel du laboratoire responsable de l'étude LAKANA pour la réception des échantillons, le traitement et le stockage des échantillons.

4.2. Instructions générales

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

Échantillon	Étiquette	Température (°C)
Écouvillon dans le milieu STGG	Tube 4	-80 ou entre 2 et 8 si cultivé dans les 48h
	Tube 5	-80

Procédures étape par étape

5.1. Réception et traitement initial de l'échantillon de NPS au laboratoire d'essai

- 5.1.1. Lors de la remise de l'échantillon de NPS (il doit y en avoir un 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 de prélèvement (annexe 2) et l'échantillon de NPS correspondant 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 remplit le DCF13 ou 13aRAM pour résoudre les problèmes. 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 du laboratoire (annexe 3) et suit la procédure normalisée de réception et de manipulation des échantillons biologiques (annexe 4). Le technicien enregistre l'échantillon de NPS dans le journal de bord du laboratoire - FreezerPro (LAKANA, AMR, identification du participant (IDP), date et heure de réception au laboratoire et températures minimale et maximale 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 enregistrera 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 2 nouvelles étiquettes à code-barres avec l'acronyme de l'étude (LAKANA-AMR), le numéro IPD, l'heure de la visite, le numéro du tube (tube 4 et tube 5), le type d'échantillon et l'ID unique de l'échantillon (à partir de l'étiquette à code-barres sur le tube d'échantillon). Si les codes-barres ne sont pas disponibles, écrivez les étiquettes à la main et enregistrez-les dans un journal de bord.

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 de code-barres (tube 5) sur le tube de 2 mL contenant le milieu STGG et l'écouvillon NPS.

5.1.5. Apposez l'autre nouvelle étiquette à code-barres (tube 4) sur un tube vide de 2 mL.

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

5.1.7. Vortexez le tube d'échantillon reçu avec le tube STGG contenant l'échantillon NPS (tube 5) pendant 30 secondes.

5.1.8. À l'aide d'une pipette P1000 et dans des conditions de biosécurité aseptiques, transférez 400 µL de l'échantillon STGG vortexé (tube 6) dans le tube cryo vide étiqueté (tube 5).

5.1.9. Jetez l'embout de pipette utilisé dans de l'eau de Javel à 10 %.

5.1.10. Placez les 2 tubes (tube 4 et tube 5) dans un congélateur à -80°C, si la culture en lot de *Streptococcus pneumoniae* et le test RAM sont effectués ultérieurement. Notez l'emplacement de chaque tube dans le plan du congélateur.

5.1.11. Si la culture de *Streptococcus pneumoniae* à partir de l'échantillon NPS doit être effectuée dans les 48 heures, le tube 4 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). Le tube 5 doit être congelé à -80°C et servira de réserve.

6. Problème 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 traiteront les écouvillons NPS 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 des numéros de flacons - de 5 et 6 à 4 et 5, respectivement. 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

15								
16								
17								

Nom du village : _____

Infirmière de l'étude (collecteur d'échantillons) : _____

Date : _____

Date

Mois

Année

18								
----	--	--	--	--	--	--	--	--

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

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 | <input type="radio"/> | Non | <input type="radio"/> |
| Q2. Le récipient de l'échantillon est-il bien fermé ? | Oui | <input type="radio"/> | Non | <input type="radio"/> |
| Q3. La température est-elle adéquate (entre 2 et 8°C) ? | Oui | <input type="radio"/> | Non | <input type="radio"/> |
| Q4. Le délai de collecte des échantillons jusqu'à leur livraison au laboratoire est-il adéquat (dans les 72 heures) ? | Oui | <input type="radio"/> | Non | <input type="radio"/> |
| Q5. Les informations figurant sur le CRF correspondent-elles aux informations figurant sur l'échantillon ? | Oui | <input type="radio"/> | Non | <input type="radio"/> |
| Q6. L'échantillon est-il acceptable pour le traitement ? | Oui | <input type="radio"/> | Non | <input type="radio"/> |

Technicien de laboratoire : **Date :**/...../.....(JJ/MM/AAAA)



FORMULAIRE DE RÉCEPTION DES ÉCHANTILLONS DE

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



Annexe 4 : POS - Réception d'échantillons biologiques

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,
 - iii. 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,
 - iv. le volume de l'échantillon est adéquat selon les exigences de l'étude,

v. 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

Page

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.