Procédures opérationnelles standard (SOP) pour l'essai LAKANA

**SOP Lab-09 Traitement des échantillons de selles entières**

Version 1.0. (2022-03-15)

# Objectif et aperçu :

Cette Procedure opérationnelle standard (SOP) explique comment traiter et conserver les échantillons de selles entières pour la sous-étude mécaniste de l'essai LAKANA après leur réception au laboratoire.

# 2. Applicabilité et responsabilités des différents membres du personnel

|  |  |
| --- | --- |
| **Membre du personnel** | **Responsabilité** |
| Chauffeur/messager | * Transporter les échantillons collectés au laboratoire désigné dans une glacière.
 |
| Technicien de laboratoire | * Assurer le maintien d'une quantité suffisante de matériel de stockage dans le laboratoire
* Réceptionner les échantillons et imprimer une nouvelle étiquette à code-barres pour le cryoflacon
* Traitement et stockage des échantillons avec une technique aseptique correcte
* Enregistrement précis des spécimens traités
 |

# 3. Matériel nécessaire

| **Article** | **Quantité** | **Spécifications** |
| --- | --- | --- |
| Désinfectant | 1 | Javel à 10% et éthanol à 70% |
| Tube cryogénique de 1,8 mL, bouchon à vis (bouchon bleu) | 1/participant | SARSTEDT CryoPure Tube  |
| Tube cryogénique de 1,8 mL bouchon à vis (bouchon jaune) | 1/participant | SARSTEDT CryoPure Tube |
| Tube cryogénique de 1,8 mL à bouchon à vis (bouchon vert) | 1/participant | SARSTEDT CryoPure Tube |
| Tube cryogénique de 1.8 mL à bouchon à vis (bouchon violet) | 1/participant | SARSTEDT CryoPure Tube |
| Bâton de bois pour échantillon | 1/participant | 15 cm  |
| Étiquettes de code-barres des échantillons | 4/participant | Aucune |
| Récipients pour déchets à risque biologique | 1 | Aucune |

# 4. Définitions et instructions générales

# 4.1. Définitions

### 4.1.1. Chauffeur/messager : Le chauffeur et/ou messager est responsable du transport des échantillons biologiques du site de collecte des échantillons vers un laboratoire.

4.1.2. Technicien de laboratoire : membre du personnel de laboratoire de l'étude LAKANA responsable pour la réception des échantillons, leur traitement et leur stockage.

## 4.2. Instructions générales

4.2.1. Les échantillons biologiques suivants seront traités et stockés

| Échantillon | **Étiquette** | **Numéro de boite** | **Température (oC)** |
| --- | --- | --- | --- |
| Échantillon de selles complet | Flacon 7 (bouchon bleu) | 4001 - 4040 | -80 |
| Échantillon de selles complet | Flacon 8(bouchon jaune) | 4041 - 4080 | -80 |
| Échantillon de selles complet | Flacon 9(bouchon vert) | 4081 - 4120 | -80 |
| Échantillon de selles complet | Flacon 10(bouchon violet) | 4121 - 4160 | -80 |

# 5. Procédures étape par étape

## 5.1. Réception et traitement initial de l'échantillon de selles entières au laboratoire d'analyse

### 5.1.1. À Kita et Bamako : Lors de la remise de l'échantillon de selles par le chauffeur/messager (il devrait y avoir un récipient de selles par participant), le technicien de laboratoire vérifie que tous les formulaires de collecte de données (DCF) 13 (prélèvement d'échantillons biologiques) sur la tablette ou 13b-Prélèvement d'échantillons biologiques-sous-étude mécaniste (annexe 1), le carnet d'échantillons (annexe 2) et l'échantillon de selles 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 contactera l'infirmière qui a prélevé l'échantillon et remplira le DCF13 ou 13b pour résoudre les divergences. Si les divergences ne peuvent être résolues, l'échantillon sera éliminé.

**Note :** N'oubliez pas de mettre les échantillons à 2-8 oC jusqu'à ce que les échantillons de selles soient à Bamako.

### 5.1.2. À Bamako lab : Le technicien de laboratoire remplit ensuite le formulaire de réception des échantillons de laboratoire (Annexe 3) et suit les SOP pour la réception et la manipulation des échantillons biologiques (Annexe 4). Il/elle enregistre l'échantillon de selles dans le fichier de laboratoire - FreezerPro (LAKANA, sous-étude mécaniste, identification du participant (PID), date et heure de réception au laboratoire et températures minimale et maximale depuis le placement dans la glacière). En cas de problème concernant l'une des questions du formulaire de réception d'échantillon, les informations de chaque échantillon problématique seront écrites dans un fichier excel avec les identifiants et le problème spécifique.

### **Note** : 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 un fichier (logbook) sur l'ordinateur (ex. fichier Excel) ou dans le fichier manuel qui pourra être téléchargé ou saisi ultérieurement dans FreezerPro.

### Imprimez 4 nouvelles étiquettes à code-barres avec l'acronyme de l'étude (LAKANA-MDA4), le numéro PID, l'heure de la visite, le numéro du flacon (flacons 7 - 10), 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, écrire les étiquettes à la main et les enregistrer dans un cahier d’échantillons

### **Note :** 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 FreezerPro ou dans un logbook.

### Préparer 4 cryovials (chacun avec un bouchon de couleur différente - bleu, jaune, vert et violet).

### Apposer une nouvelle étiquette de code-barres (flacon 7) sur le flacon vide de 1,8 mL à bouchon bleu.

### Apposer une nouvelle étiquette de code-barres (flacon 8) sur le flacon vide 1.8mL à bouchon jaune.

### Apposer une nouvelle étiquette de code-barres (flacon 9) sur le flacon vide de 1.8mL à bouchon vert.

### Apposer une nouvelle étiquette de code-barres (flacon 10) sur le flacon vide de 1.8mL au bouchon violet.

### Préparer 4 aliquotes d'échantillons de selles. Mélanger les selles et en prélever un peu à l'aide de la cuillère attachée au récipient à selles et les mettre dans chacun des cryovials ci-dessus avec en tout 1-1,5 g d'échantillons de selles dans chaque flacon. Il y a une ligne à 1,0 ml et à 1,8 ml, remplissez l'aliquote entre ces deux lignes. Si l'échantillon de selles colle à la cuillère, utilisez un bâton de bois pour faire entrer l'échantillon de selles dans le tube. S'il n'y a pas assez de selles pour 4 aliquotes, remplissez autant d'aliquotes que possible et marquez dans un Excel qu'il n'y avait pas assez de selles, avec les identificateurs d'échantillon.

* + 1. Placer les 4 flacons (flacons 7 - 10) dans les boites désignées (voir 4.2.1).
		2. Chaque glacière doit avoir une étiquette sur la boîte et sur son couvercle. Les boîtes doivent être congelées en position verticale. Les boîtes doivent contenir les informations suivantes :

1) Acronyme de l'essai

2) Numéro de la boîte

3) Type d'échantillon - numéro de flacon et moment du prélèvement.

4) Essais (‘assays’) pour lesquels l'échantillon sera utilisé

5) Plage de dates des échantillons dans la boîte

Exemple:

LAKANA-AMR LAKANA-AMR

Boite 4001 Boite 4041

Selles - flacon 7, MDA4 Selles - flacon 8, MDA4

14fev2022 – 28fev2022 14fev2022 – 28Feb2022

LAKANA-AMR LAKANA-AMR

Boite 4081 Boite 4121

Selles - flacon 9, MDA4 Selles – flacon 10, MDA4

14fev2022 – 28fev2022 14fev2022 – 28fev2022

* + 1. Nettoyez toutes les surfaces de travail avec du Javel à 10 % et puis avec de l'alcool à 70 %.

### Placer les boîtes d'échantillons dans un rack (le même numéro de flacon et le même bouchon de couleur dans la même boîte et les mêmes boîtes de flacons dans le même rack) et stocker les racks dans un congélateur à -80oC. Enregistrez l'emplacement de chaque flacon dans le plan de congélation.

# Questions de sécurité au travail

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

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

# Assurance de la qualité / Contrôle de la 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 le registre de formation.

# Annexes et autres documents connexes

| Numéro de document | Contenu du document |
| --- | --- |
| Annexe 1 | Formulaire de collecte de données (DCF) 13b - Collecte d'échantillons biologiques - sous-étude mécaniste |
| Annexe 2 | Cahier d'échantillons |
| Annexe 3 | Formulaire de réception des échantillons au laboratoire |
| Annexe 4 | SOP - Réception des échantillons biologiques |

# Historique des versions, auteurs et approbations

| Version (date) | Modifications du texte de la SOP (auteur) |
| --- | --- |
| 0.1 (2022-03-01) | Rédigé par Yuemei Fan, Dagmar Alber, Rikhard Ihamuotila, Jane Juma et Awa Traore. |
|  (2022-03-15) | Rédigé par Yuemei Fan, Dagmar Alber, Rikhard Ihamuotila, Jane Juma et Awa Traore. |

**Annexe 1 : Formulaire de collecte de données (DCF) 13b - sous-étude mécaniste**

Version 0.1, 11 avril 2021

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **En-tête de section** | **Texte de la question** | **Réponses aux questions** | **Requis** |
| Formulaire 13b - Prélèvement d'échantillons biologiques - sous-étude mécaniste | Instructions : Remplissez ce formulaire pour les enfants du groupe d'âge ciblé.  |
|  | ID 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 MDA (numéro de visite) | 4S-00 / 4S-14 | Oui |
|  | 3. Lieu de prélèvement de l'échantillon | Place centrale du village / installation d'appoint  |  |
|  | 4. Groupe d'âge des enfants | 4-11 mois | Oui |
| B. COLLECTE DES ÉCHANTILLONS | 5. Quels sont les échantillons collectés ? | Piqûre au talon, CRP | Piqûre au talon, Hb | Piqûre au talon, tache de sang | Selles | Oui |
|  | 6. Un échantillon de sang a été prélevé par piqûre au talon ?  | Oui | Non | Oui |
|  | 6a. Enregistrez le résultat de la CRP | CRP = | Oui |
|  | 6b. Enregistrez le résultat de Hb | Hb = | Oui |
|  | 7. Combien de taches de sang ont été conservées sur la carte de papier filtre ?  | 0 | 1 | 2 | Oui |
|  | 7a. Identifiant (code à barres) de la carte papier-filtre ? |  | Oui |
|  | 8. Un échantillon de selles a-t-il été prélevé ? | Oui | Non | Oui |
|  | 8a. A quelle heure l'échantillon de selles complet a-t-il été prélevé ? |  | Oui |
|  | 8b. À quelle date et à quelle heure l'enfant a-t-il évacué ses selles ? |  | Oui |
|  | 8c. Identifiant (code-barres) de l'échantillon de selles |  | Oui |

**Annexe 2 : Cahier des échantillons**

**Nom de l'étude : LAKANA - sous-étude mécaniste MDA S4**

**Nom du village :**

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

**Date :**

Date Mois Année

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Numéro de compte** | **ID du participant** | **Numéro de MDA** | **Type d'échantillon** | **ID de l'échantillon (n° de code-barres)** | **Heure de la collecte** | **Temp. de la glacière** | **Nom du conducteur/messager** | **Nom du bénéficiaire au laboratoire** |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |

## 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.