Procédures opérationnelles standard (SOP) pour l'essai LAKANA

**SOP Lab-10 Traitement des échantillons de DBS**

Version 1.0. (2022-03-15)

# Objectif et aperçu :

Cette Procedure opérationnelle standard (SOP) explique comment traiter et conserver les échantillons de DBS 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
* 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% |
| Récipients pour déchets à risque biologique | 1 | Aucune |
| Sachet déshydratant | 1/participant | Aucune |
| Boîte pour échantillons | Comme demandé | Pour le congélateur -20 oC |

# 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 dans des boîtes qui vont au congélateur -20 oC.

# 5. Procédures étape par étape

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

### 5.1.1. À Kita et Bamako : Lors de la remise de l'échantillon de DBS par le chauffeur/messager (il devrait y avoir un DBS 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 DBS 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 conserver le DBS dans un environnement sec, à température ambiante et à l'abri du soleil.

### 5.1.2. Bamako : 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 DBS dans le fichier de laboratoire - FreezerPro (LAKANA, sous-étude mécaniste, identification du participant (PID), date et heure de réception au laboratoire). 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.

### Ouvrez le sac à fermeture éclair DBS et ajoutez un déshydratant, fermer le sac. Laissez les DBS sécher pendant une journée avant de les mettre au congélateur.

### Mettez les sacs DBS dans une boîte. Écrivez sur la boîte LAKANA AMR, numéro de boîte, échantillons DBS, MDA4. Écrivez sur la boîte la date à laquelle le premier DBS dans la boîte a été collecté et la date à laquelle le dernier a été collecté. Mettre au congélateur à -20oC.

### Les boîtes doivent contenir les informations suivantes :

1) Acronyme de l'essai

2) Numéro de la boîte

3) Type d'échantillon – quelle MDA

4) Plage de dates des échantillons dans la boîte

**Exemple:**

**LAKANA-AMR**

**Boîte 1**

**DBS - MDA4**

**14fev2022 – 28fev2022**

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

# 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 Rikhard Ihamuotila, Yuemei Fan, Jane Juma, Awa Traore et Dagmar Alber. |
|  (2022-03-15) | Rédigé par Rikhard Ihamuotila, Yuemei Fan, Jane Juma, Awa Traore et Dagmar Alber. |

**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**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| A picture containing logo  Description automatically generated **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.