

PNT-LNR Sénégal	Procédure Opératoire Standard pour le transport des crachats en vue d'une culture ou des tests de sensibilité	Code: Version: no. Date: 09/ 10/ 2012 Page: 1 à 8
--------------------	--	--

1. Objet
2. Définitions et abréviations
3. qualifications du personnel
 - 3.1 Aptitude médicale
 - 3.2 Éducation et formation
4. Procédure
 - 4.1 Principe
 - 4.2 Échantillons
 - 4.3 L'équipement et le matériel
 - 4.4 Réactifs et solutions
 - 4.5 Instructions détaillées de la procédure
 - 4.6 Lecture et compte rendu des résultats
 - 4.7 Contrôle de qualité
5. documents connexes
 - Annexe 1. Exemple de système du triple emballage
 - Annexe 2. Bulletin de demande de cultures et tests de sensibilité

	Compilé par	Contrôlé par :	Approuvé par :	Remplacé par :	Nouvelle Version
Nom	Dr Fatoumata BA	Dr Papa Amadou Lamine Gueye	Dr Fatoumata BA	Code :	Code :
Date	09/ 10/ 2012	09/ 10/ 2012			
Signature					
Zone du Laboratoire : Nombre de Copies : Raisons du Changement :					

PNT-LNR Sénégal	Procédure Opératoire Standard pour le transport des crachats en vue d'une culture ou des tests de sensibilité	Code: Version: no. Date: 09/ 10/ 2012 Page: 1 à 8
--------------------	--	--

1. Objet

Ce POS spécifie les exigences minimales pour la qualité et la quantité des spécimens biologiques envoyés à un laboratoire de la tuberculose pour la culture et les conditions de transport des échantillons au laboratoire.

2. Définitions et abréviations

LAB: lavage broncho-alvéolaire

CPC: chlorure de cétypyridinium

MNT: Mycobactéries non tuberculeuses

PNT: Programme national de lutte contre la tuberculose

3. Qualification du personnel

3.1 L'aptitude médicale

Conformément aux législations et pratiques nationales, des dispositions devraient être prises pour la surveillance médicale appropriée des travailleurs de laboratoire de tuberculose:

- avant le recrutement dans le laboratoire de la tuberculose;
- à intervalles réguliers par la suite, annuellement ou bi-annuellement;
- après tout incident risques biologiques;
- à l'apparition des symptômes de la tuberculose.

Idéalement, les dossiers médicaux individuels doivent être conservés jusqu'à 10 ans suivant la fin de l'exposition professionnelle.

Les travailleurs de laboratoire doivent être informés sur les symptômes de la tuberculose et bénéficier d'un accès immédiat aux soins médicaux gratuits si des symptômes surviennent.

En plus un conseil / dépistage confidentiel du VIH doit leur être proposé.

La réaffectation du personnel VIH-positif ou les personnes immunodéprimées hors des zones à haut risque du laboratoire de tuberculose doit être envisagée.

Tous les cas de maladie ou de décès identifiés conformément aux lois nationales comme résultant d'une exposition professionnelle à des agents biologiques sont notifiés à l'autorité compétente.

3.2 L'éducation et la formation

L'éducation de base et la formation doivent être données sur les sujets suivants:

- Les risques potentiels pour la santé (symptômes de la tuberculose et la transmission);
- Les précautions à prendre pour minimiser la formation d'aérosols et de prévenir l'exposition
- Les conditions d'hygiène requises
- Le port et l'utilisation des équipements et vêtements de protection;
- La prévention des incidents et les mesures à prendre par les travailleurs en cas d'incidents (incidents à risque biologiques, chimique, électrique et d'incendie);
- La manipulation de matériaux potentiellement infectieux ;
- La conception du laboratoire, y compris les conditions de circulation de l'air;
- l'utilisation des équipements (fonctionnement, l'identification des dysfonctionnements, maintenance);
- bonnes pratiques de laboratoire et une bonne technique microbiologique;
- l'organisation des flux de travail ;
- les procédures;
- l'importance des résultats de laboratoire pour la gestion des patients;
- l'importance des résultats de laboratoire pour le Programme National de lutte contre la Tuberculose.

La formation doit être:

- donnée avant qu'un membre du personnel prenne son poste;
- strictement encadrée;
- adaptée pour tenir compte de conditions nouvelles ou modifiées, et
- répétée périodiquement, de préférence chaque année.

<p>PNT-LNR Sénégal</p>	<p>Procédure Opératoire Standard pour le transport des crachats en vue d'une culture ou des tests de sensibilité</p>	<p>Code: Version: no. Date: 09/ 10/ 2012 Page: 1 à 8</p>
----------------------------	--	--

4. Procédure

4.1 Principe

La qualité des échantillons à partir du moment de la collecte jusqu'à l'arrivée des échantillons au laboratoire où ils seront mis en culture - est de la responsabilité de la structure dans laquelle les échantillons sont prélevés c'est-à-dire soit c'est le laboratoire périphérique où les patients ont reçu crachoirs ou les postes de santé ou structures sanitaires privées.

Puisque le laboratoire est généralement le seul endroit où il ya un contrôle de la qualité des échantillons reçus, les laboratoires de tous niveaux doivent suivre les indicateurs de qualité, par exemple la proportion des échantillons de crachats salivaires, la fréquente arrivée tardive des échantillons, et pour signaler tout problème afin que des mesures correctives puissent être prises s'il y en a.

Les échantillons envoyés au laboratoire doivent avoir un volume suffisant, comme indiqué ci-dessous, précisément étiquetés pour l'identification et accompagné d'un bulletin de demande d'analyse écrit selon les recommandations de l'OMS.

Les échantillons doivent être envoyés au laboratoire le plus tôt possible après la collecte, dans des récipients étanches entourés par un matériau absorbant dans un emballage résistant aux chocs externes qui est correctement étiqueté conformément à la réglementation nationale et / ou des règles internationales pour les matières infectieuses.

4.2 Les échantillons

NA

4.3 Équipement et matériel

Récipients à large ouverture, incassables, étanches, bouchons à vis. Les conteneurs doivent avoir une capacité de 50 ml et en matière translucide, afin de pouvoir contrôler le volume d'échantillon et la qualité sans ouvrir le conteneur.

4.4 Réactifs et solutions

NA

4.5 Les instructions détaillées pour la procédure

4.5.1 Collecte des échantillons

Les expectorations

La grande majorité des échantillons reçus pour le diagnostic sont des échantillons de crachats.

- Pour obtenir de bons prélèvements, les patients doivent être informés de la façon de produire des expectorations.

Les échantillons doivent être prélevés dans une pièce isolée, ventilée ou, de préférence à l'extérieur. En gardant les deux mains sur les hanches, tousser avec force et recueillir les crachats dans la bouche, cracher avec précaution dans récipient étanche munie d'une large ouverture, incassable, et fermer le couvercle hermétiquement.

- Idéalement, un échantillon de crachat devrait être de 3 à 5 ml de volume, bien que de plus petites quantités soient acceptables si la qualité est satisfaisante.
- Si les échantillons doivent être mis en culture en utilisant un procédé de centrifugation (voir POS Le traitement des échantillons pour la culture), les crachats doivent de préférence être collectés directement dans des tubes à centrifuger de 50 ml afin d'éviter la nécessité de leur transfert d'un conteneur à un autre.
- Étiqueter chaque échantillon avec le numéro d'identification unique du bulletin de demande de cultures et tests de sensibilité.
- Recueillir deux échantillons pour chaque patient

Prélèvement laryngé

Les Prélèvements laryngés peuvent être utiles chez les enfants et les patients qui ne peuvent pas produire des expectorations ou qui pourraient l'avaler.

- Recueillir des prélèvements laryngés tôt le matin, avant que les patients ne mangent ou ne boivent quoi que ce soit.
- Utiliser un écouvillon stérile absorbant pour la collecte.
- Transporter chaque échantillon dans un récipient avec quelques gouttes de solution saline stérile à 0,9% afin de maintenir l'écouvillon humide.

Autres échantillons respiratoires

- les sécrétions bronchiques (2-5 ml) et LBA (20-40 ml)
- Les épanchements pleuraux (20-50 ml)
- Les biopsies transbronchiques et autres prises dans des conditions stériles doivent être maintenus humides pendant le transport en ajoutant quelques gouttes de solution saline stérile à 0,9% pour le tissu.

<p>PNT-LNR Sénégal</p>	<p>Procédure Opératoire Standard pour le transport des crachats en vue d'une culture ou des tests de sensibilité</p>	<p>Code: Version: no. Date: 09/ 10/ 2012 Page: 1 à 8</p>
----------------------------	--	--

Remarque: Les échantillons sont parfois envoyés dans le formol ou l'eau de Javel! Il peut donc être utile de rappeler le médecin les conditions de collecte, la veille de l'intervention.

Le lavage gastrique

Les lavages gastriques contiennent souvent des MNT et sont donc rarement utilisés pour les adultes, ils sont indiqués pour les enfants, cependant, qui ne produisent presque pas d'expectoration

- Faire la collecte tôt le matin, lorsque le patient est à jeun.
- Neutraliser l'échantillon par addition de 100 mg de bicarbonate de sodium à l'aspiration gastrique et la transporter immédiatement au laboratoire.

Prélèvements extrapulmonaires

Le laboratoire peut recevoir une grande variété d'échantillons pour le diagnostic de tuberculose extrapulmonaire - les fluides corporels, les tissus, etc. Ces échantillons d'urine peuvent être divisés en deux groupes qui sont traités de différentes manières:

- Les échantillons prélevés de façon aseptique (liquide céphalo-rachidien, péricardique, le liquide synovial et d'ascite, le sang, la moelle osseuse, etc.), qui sont généralement exempts de la flore contaminante.

Tous les échantillons liquides doivent être collectés dans des récipients en verre stériles sans utiliser d'agent de conservation.

Les échantillons peuvent être inoculés directement dans des flacons de liquide et transportés au laboratoire pour la culture.

Les échantillons doivent être transportés au laboratoire immédiatement, ils doivent être traités dès que possible ou conservés à 2-6 ° C.

Les volumes optimaux sont au moins 3 ml de liquide céphalo-rachidien et 5-10 ml de sang, recueilli dans des tubes de sang citrate.

- Les échantillons contenant une flore résidente ou de contaminante

Un échantillon d'urine recueilli tôt le matin au milieu du jet dans un récipient à large ouverture stérile (d'au moins 200 ml).

Les sécrétions de sperme et de la prostate sont envoyées dans un tube sec.

Les échantillons de sang menstruel ne sont pas conseillés.

Les échantillons de selles ne sont pas conseillés, mais des échantillons de selles provenant de patients immunodéprimés peuvent être utilisés, principalement pour détecter les mycobactéries.

4.5.2 Les conditions de transport

Les crachats doivent être transportés au laboratoire le plus rapidement possible.

Si un retard de quelques jours ne peut être évité, conserver les échantillons au froid (réfrigéré mais non congelé) jusqu'à une semaine ; ces conditions de froid vont pas affecter de manière significative le taux de positivité du frottis, mais la croissance additionnelle des contaminants se traduira par une augmentation taux de contamination des milieux de culture.

Si le retard est supérieur à 3 jours, un volume égal de chlorure de cétylpyridinium (CPC; solution de 1% de chlorure de sodium dans le CPC à 2%) doit donc être ajouté à des expectorations (voir POS préparation de réactifs pour la culture).

Les crachats contenant du CPC peuvent être conservés jusqu'à 7 jours à température ambiante (> 20 ° C puisque le CPC cristallise à des températures plus basses).

L'ajout de CPC doit être indiqué sur les documents d'accompagnement (voir le formulaire ci-dessous), car le CPC doit être éliminé avant la culture.

Emballage pour le transport

Le système d'emballage de base pour les transports de surface locale de tous les échantillons se compose de trois couches (Annexe 1):

- réceptacle primaire - le conteneur d'échantillon - emballé avec une matière absorbante suffisante pour absorber tout le liquide en cas de bris.
- Emballage secondaire - un second durable, étanche à l'eau, emballage étanche pour contenir et protéger le récipient primaire (s). Plusieurs récipients primaires rembourrés peuvent être placés dans un emballage secondaire, mais suffisamment de matière absorbante doit être utilisée pour absorber tout le liquide en cas de bris.

PNT-LNR Sénégal	Procédure Opératoire Standard pour le transport des crachats en vue d'une culture ou des tests de sensibilité	Code: Version: no. Date: 09/ 10/ 2012 Page: 1 à 8
--------------------	---	--

Pour les conditions de transport froids, de la glace ou de la glace sèche doit être placée à l'extérieur de l'emballage secondaire. La glace fondue doit être placée dans un récipient étanche;

- L'emballage extérieur - Les emballages secondaires sont placés dans des emballages d'expédition extérieure avec une matière de rembourrage approprié. Les emballages extérieurs protègent leur contenu contre les influences extérieures telles que les dommages physiques, pendant le transport.

Pour le transport de surface, il n'y a pas de quantité maximale par colis.

Pour le transport aérien, aucun récipient primaire ne devra dépasser 1 l pour les liquides ou les limites de masse emballage extérieur pour les solides. Le volume expédié par colis ne doit pas dépasser 4 l ou 4 kg.

4.6 Lecture et rendu des résultats

Utiliser le formulaire en annexe 2.

4.7 Contrôle de la qualité

Avant que les spécimens puissent être acceptés dans le laboratoire, les formulaires de demande d'accompagnement doivent être soigneusement vérifiés l'identité (l'échantillon et formulaire de demande portant le même numéro). Les échantillons qui ne peuvent être identifiés exactement ne seront pas traités.

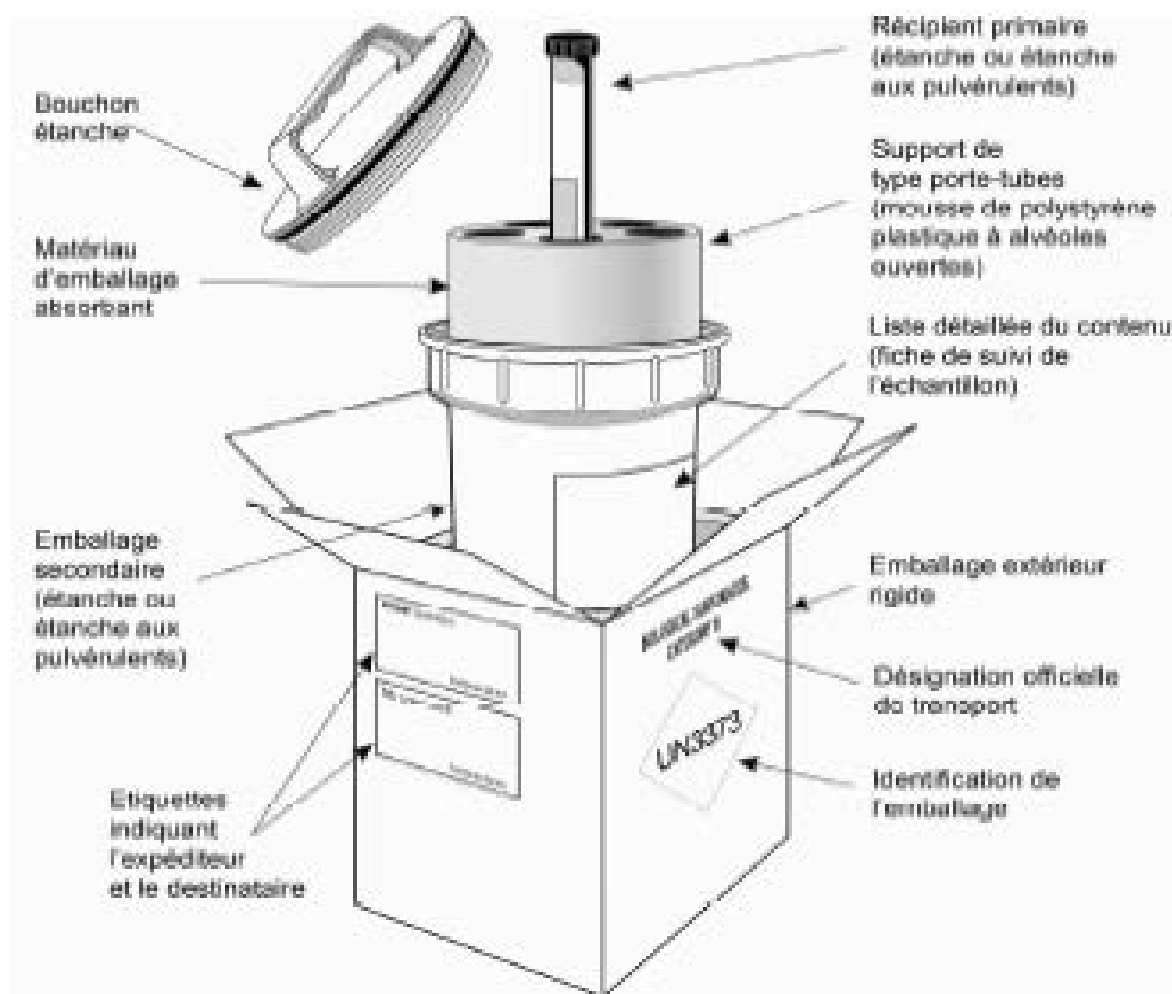
Les échantillons doivent être examinés lors de la réception de l'échantillon, afin de s'assurer qu'ils correspondent au type, la quantité, la qualité et le volume des critères appropriés. Tous les écarts doivent être documentés et notés sur le rapport final, car ils peuvent affecter les résultats.

Les conditions de transport et la durée doivent être vérifiées. Les retards dans le transport et / ou l'exposition des échantillons à des températures extrêmes sans mesures de protection doivent être documentés et notés dans le rapport.

5. Documents connexes

1. Collins C, Grange J, Yates M. Organization and practice in tuberculosis bacteriology. London, Butterworths, 1985.
2. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2007–2008. Geneva, World Health Organization, 2007 (WHO/ CDS/ EPR/2007.2) available at http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_EPR_2007_2/en/index.html.
3. Kent PT, Kubica GP. Public Health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. Atlanta, GA, United States Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control, 1985.
4. Laboratory services in tuberculosis control. Part II: Microscopy. Geneva, World Health Organization, 1998 (WHO/ TB/ 98.258).
5. Lumb R, Bastian I. Laboratory diagnosis of tuberculosis by sputum microscopy. Adelaide, Institute of Medical and Veterinary Science, 2005.
6. Revised TB recording and reporting forms and registers – version 2006. Geneva, World Health Organization, 2006 (WHO/ HTM/ TB.2006.373, available at http://www.who.int/tb/dots/r_and_r_forms/en/).
7. Smithwick RW. Laboratory manual for acid-fast microscopy. Atlanta, GA, Center for Disease Control, 1976.

Annexe 1. Exemple de système du triple emballage



PNT-LNR Sénégal	Procédure Opératoire Standard pour le transport des crachats en vue d'une culture ou des tests de sensibilité	Code: Version: no. Date: 09/ 10/ 2012 Page: 1 à 8
--------------------	--	--

Annexe 2. Formulaire de demande de cultures et tests de sensibilité aux antituberculeux

Identification du patient: _____

Numéro de registre TB: _____ précédent numéro de registre TB: _____ numéro de registre MDR: _____

Nom et prénom du patient: _____ Âge (ans): _____ Sexe: _____

Service / Département: _____ Adresse: _____

* statut VIH: Pos / Nég / Inconnu _____

Type de tuberculose et antécédents thérapeutiques :

Site : ☐ pulmonaire

☐ extrapulmonaire (préciser) : _____

Histoire:

- ☐ Nouveaux cas (jamais été traités auparavant pour \geq 1 mois) ☐ reprise après abandon
☐ Excréteur chronique ☐ Rechute
☐ Contact de MDR ☐ Échec
☐ Incertain

Traitement antérieur :

- ☐ Catégorie 1 ☐ Catégorie 2 ☐ Catégorie 4
☐ Autres : _____

Origine de la demande :

Région: _____ District _____ laboratoire : _____

Date de collecte des échantillons: ____ / ____ / 20____

N° identification des échantillons: _____

Résultat du Laboratoire local: frottis: 1er ____ 2e ____

Technique de microscopie utilisée : ☐ Ziehl-Neelsen à chaud ☐ frottis direct
☐ Technique à froid ☐ frottis concentré
☐ Fluorescence

Demande d'examen au laboratoire de référence:

Motif de la demande:

- ☐ Diagnostic Echantillon : ☐ crachat
☐ Suivi à _____ du traitement ☐ crachat dans conservateur type : _____
☐ Suivi à _____ après le traitement ☐ Autres (spécifier): _____

Tests demandés: ☐ microscopie (type _____) ☐ culture ☐ TS (premier / deuxième ligne)

Nom Personne demandant l'examen: _____ Fonction : _____

* optionnel

Résultats de laboratoire de référence

Date de réception au Laboratoire de Référence : ____ / ____ / 20____

N° ordre : _____

L'examen microscopique: antérieurement à la date ____ / ____ / 20____

N° Id .	Neg	1-9	1+	2+	3+

- ☐ Ziehl-Neelsen à chaud ☐ Technique à froid ☐ Fluorescence
☐ Frottis direct ☐ Frottis concentré

PNT-LNR Sénégal	Procédure Opératoire Standard pour le transport des crachats en vue d'une culture ou des tests de sensibilité	Code: Version: no. Date: 09/ 10/ 2012 Page: 1 à 8
--------------------	--	--

Résultat de la culture:

Précédemment rendu le ____ / ____ / 20____

☐ suivra

N° Id.	Contaminée	Négative	MNT	Complexe Mycobacterium tuberculosis			
				1-9 colonies Nombre exact	10 – 100 col 1+	>100 - 200 col 2+	>200 col 3+

Résultats des tests de sensibilité aux médicaments de M. tuberculosis : ☐ vont suivre

☐ Méthode phénotypique utilisée

☐ Méthode génétique utilisée

N° Id _____		Légende: S = sensible; R = résistant; C = contaminée NT = Non testé											
	INH	Rifampicine		Ethambutol		Streptomycine		Pyrazinamide		Ofloxacin		Kanamycine	
µg/ ml													
Résultat													

Date: ____ / ____ / 20____

Signature: _____