

MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001 Version : v04 Date d'application: 29/01/2019

Page(s) 1/17

MANUEL DE PRELEVEMENT DU CNR IST bactériennes Laboratoire Associé SYPHILIS

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Gulvaly	Mhighi



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/20192/17

OBJET

Le Manuel de Prélèvement a pour but d'améliorer les échanges entre les centres préleveurs réalisant et assurant l'acheminement des prélèvements et le CNR IST LA Syphilis.

Des instructions spécifiques relatives au prélèvement et à la manipulation des échantillons primaires sont décrites et documentées afin d'obtenir des échantillons biologiques répondant aux conditions nécessaires à l'obtention d'un résultat fiable.

Le présent Manuel de Prélèvement regroupe les informations utiles ainsi que les exigences à respecter pour réaliser et prendre en charge, dans des conditions optimales, les prélèvements bactériologiques .

Le CNR IST LA Syphilis a l'obligation de refuser les échantillons biologiques qui ne respecteraient pas ces critères de qualité indispensables à la réalisation des analyses.

Le Manuel de Prélèvement est disponible sur notre site internet : www.cnr-ist.fr dans la rubrique « Documents de référence » et nos correspondants peuvent visualiser et imprimer cette version qui est mise à jour régulièrement.

MOTS CLES

Qualité, pré-analytique, transport, échantillon

DOMAINE D'APPLICATION

Tous les centres préleveurs susceptibles de participer aux protocoles de recherche ou pour l'envoi d'échantillon dans le cadre de l'expertise.

DEFINITIONS / ABREVIATIONS

CNR IST LA Syphilis: Centre National de Référence des Infections Sexuellement Transmissibles Laboratoire Associé de la Syphilis

ANSP : Agence Nationale de Santé Publique

TPA: Treponema pallidum

LCR: liquide céphalorachidien

PCR: polymerase chain reaction

RFLP: restriction fragment lenght polymorphism

DOCUMENT DE REFERENCE

Le Manuel de Prélèvement apporte aux centres préleveurs l'assurance de l'existence d'un système qualité au sein du CNR IST LA Syphilis tout en respectant les exigences réglementaires et les exigences de la norme NF EN ISO 15189 « Laboratoire d'analyses de biologie médicale : Exigences particulières concernant la qualité et la compétence ».

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Sulvalie	Mhigh



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001 Version : v04 Date d'application: 29/01/2019

Page(s) 3/17

DESCRIPTION

SOMMAIRE

1- Récapitulatif des recommandations pré-analytiques	4
2- Présentation du CNR syphilis : ses missions	5
3- Liste des analyses effectuées au CNR syphilis	6
4- Réalisation des prélèvements	7
5- Matériels de prélèvement	10
6- Identification de l'échantillon	12
7- Transport	14
8- Elimination des déchets	16
9- Sécurité du personnel	17
10- Phase post analytique	17

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Gulvaly	Mhighi



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Page(s) 4/17

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Version : v0429/01/2019

1- Récapitulatif des recommandations pré-analytiques SIMPLIFIEES

Analyse	Nature, volume du prélèvement et recommandations	Transport		nsport Méthode		Stockage des échantillons examinés	
		Т°С	Délais		résultat	т°С	Durée
	Ecouvillon cutanéo- muqueux sur tube sec	Amb	< 10 j				
	Ecouvillon cutanéo- muqueux en milieu de transport	4°C	< 2 j				
	Sang total (tube EDTA), 5 ml	4°C					
Génotypage de	Biopsie			Méthode de type qualitatif			
Treponema	Sérum (tube sec), 5 ml			Amplification d'acide			
pallidum	LCR, 0,2 ml minimum		48 h	nucléiques (nPCR) détection du gène <i>tpp47</i>			
	Prélèvements périnataux (placenta, liquide amniotique, cordon ombilical)	4°C et -20°C si > 7 j	et -20°C	3 N	IgM avec IgM	-20°C	Illimité
	Liquide amniotique, 0,2 ml minimum						
Sérologie	Sérum (tube sec), 5 ml	4°C		Quantitatif (CMIA sur Architect; IgM avec IgM EIA test kits).			
syphilis	LCR, <u>0,1 ml minimum</u>	et -20°C si > 7 j	<7j	Qualitatif (RPR-VDRL sur RPR test kits ; FTA-Abs sur TrepoSpot IF			
Résistance azithromycine	Ecouvillon cutanéo- muqueux	Amb	10 j	Méthode de type qualitatif Amplification d'acide nucléiques (PCR/RFLP – PCR/séquençage): recherche mutations A2058G –A2059G Thermocycler GenAmp PCR system 9700 (Applied Biosystems)	Contacter le CNR		
				Méthode de type qualitatif			
Sous-typage de Treponema pallidum	Ecouvillon cutanéo- muqueux	Amb	10 j	Amplification d'acide nucléiques (PCR, RFLP, séquençage)	Contacter le CNR		
				sur gènes <i>arp, trp</i> et <i>tp0548</i>			

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Gullalle	Mhigh



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/20195/17

2- Présentation du CNR IST : ses missions

Le Centre National de Référence des Infections Sexuellement Transmissibles bactériennes a été créé en 2017, pour la période 2017-2021 par Arrêté du 7 mars 2017 (JORF n°0058 du 9 mars 2017, texte n°20). Il regroupe trois laboratoires ayant chacun des expertises complémentaires. Les infections à *Chlamydia trachomatis* et celles causée par les mycoplasmes urogénitaux sont du domaine du laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux, les infections à gonocoque sont du domaine du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital Saint-Louis et les infection à *Treponema pallidum* du domaine du laboratoire de Dermatologie de l'hôpital Cochin.

Le CNR IST LA Syphilis est hébergé au sein de l'Institut Cochin U1016 dans le Laboratoire de Dermatologie. Il est dirigé par le Pr. Nicolas Dupin, Service de Dermatologie à l'Hôpital Cochin, AP-HP, Paris.

Le CNR IST bactériennes s'engage à assurer les missions définies par le décret no 2016-806 du 16 juin 2016 relatif aux centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles. Ce CNR oriente en priorité ses activités sur les infections à *Chlamydia trachomatis*, les infections à gonocoque, la syphilis et les infections urogénitales à mycoplasmes.

C'est dans ce contexte que le CNR IST LA Syphilis propose la détection par PCR nichée du gène *tpp47* de TPA agent de la syphilis à partir d'écouvillonnage de lésions cutanées ou muqueuses prélevées chez des patient suspects de syphilis primaire et secondaire.

Le CNR IST LA Syphilis propose également la détection du gène *tpp47* de TPA dans les prélèvements sanguins, le LCR, et les échantillons périnataux ainsi quetout autre prélèvement pouvant être infecté par TPA dès lors que le médecin prescripteur juge utile de cette recherche.

De plus, le CNR IST LA Syphilis réalise les tests de sérologie syphilis dans le sérum ou le plasma (CMIA / RPR et Western blot IgG/M) et le VDRL dans le LCR

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Sulvalie	Mhigh



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001 Version : v04 Date d'application: 29/01/2019

Page(s) 6/17

3- Liste des analyses effectuées au CNR syphilis

Analyse	Type d'échantillon	Principe de la méthode et équipement	
	Ecouvillon cutanéo-muqueux sur tube sec ou milieu de transport ²	Méthode de type qualitatif Amplification d'acide	
	Sérum (tube sec), 5 ml	nucléiques (nPCR) détection du gène <i>tpp47</i>	
	Sang total (tube EDTA), 5 ml		
	Biopsie		
Génotypage de Treponema pallidum	LCR, 0,2 ml minimum		
T. oponoma pamaan	Prélèvements périnataux (placenta, liquide amniotique, cordon ombilical) Liquide amniotique, 0,2 ml	Thermocycler ProFlex PCR System (Applied Biosystems by Life Technologies)	
	minimum		
	Sérum (tube sec), 5 ml	Quantitatif (CMIA sur Architect; IgM avec IgM EIA test kits).	
Sérologie syphilis	LCR, 0,1 ml minimum	Qualitatif (RPR-VDRL sur RPR test kits ; FTA-Abs sur TrepoSpot IF)	
Résistance à l' azithromycine³	Ecouvillon cutané ou - muqueux	Méthode de type qualitatif Amplification d'acide nucléiques (PCR/RFLP – PCR/séquençage): recherche mutations A2058G –A2059G Thermocycler GenAmp PCR system 9700 (Applied Biosystems)	
		Méthode de type qualitatif	
Sous-typage ⁴ de Treponema pallidum	Ecouvillon cutané ou-muqueux	Amplification d'acides nucléiques (PCR, RFLP, séquençage)	
)) (l) M; l : F0(2) F4(sur gènes <i>arp, trp</i> et <i>tp0548</i>	

² Grange *et al.* (2012) J. Clin. Microbiol. 50(3):546-552.

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Gullery	Mhigh

^{3,4} Contacter le CNR syphilis



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/20197/17

4- Réalisation des prélèvements

Les prélèvements qui sont envoyés au CNR IST LA Syphilis sont de deux types.

- 1) Les prélèvements dit «**d'expertise**» qui sont des demandes ponctuelles de praticiens pour la détection moléculaire de TPA dans divers prélèvements biologiques. Ces prélèvements sont réalisés au décours de consultations de patients suspects de syphilis. La demande d'expertise fait l'objet d'un rendu de résultat nominatif, validé par le biologiste du CNR IST LA Syphilis.
- 2) Les prélèvements dits «**de protocole**» font références à des études de recherches, mises en place par le CNR IST LA Syphilis dans le cadre de ses missions. Ce sont des études prospectives, soumises à l'approbation du Comité de Protection des Personnes (CPP) Ile de France III et déclarées à la Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL). Ce sont des études anonymes qui font l'objet d'un rendu de résultat anonyme et périodique.

2.1- Dans le cadre de l'expertise

Les prélèvements pour le CNR syphilis sont :

- des écouvillonnages de lésions cutanées ou-muqueuses (si la lésion <u>cutanée</u> est sèche, réaliser une érosion douce à l'aide d'un scalpel permettant d'obtenir un exsudat récupéré par l'écouvillon)
- des prélèvements sanguins (sang total, sérum)
- du LCR
- des prélèvements périnataux (placenta, liquide amniotique, cordon, sang total de cordon, écouvillon buccal et/ou nasal, liquide gastrique)
- des biopsies cutanées ou autres
- tout autre type de prélèvement

L'ensemble des prélèvements cités ci-dessus sont réalisés selon les règles établies dans chaque centre préleveur.

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Sulvalie	Mhigh



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/20198/17

2.2- Dans le cadre des protocoles de recherche

Le CNR IST LA Syphilis, dans le cadre de ses missions d'évaluation et de recherche, propose une «Etude Moléculaire de la syphilis ou GENOSYPH» qui est une surveillance épidémiologique et moléculaire sentinelle pérenne et documentée qui associera les données sociodémographique et cliniques avec les échantillons biologiques pour la constitution d'une sérothèque/souchothèque. Cette étude est couplée à l'étude «Surveillance de la Syphilis» réalisée par l'ANSP. Cette étude déclarée à la CNIL (n° de déclaration 1208504) a reçu l'agrémént du CPP lle de France III, le 08 novembre 2012 (n° S.C. 3005).

En fonction des possibilités opérationnelles du centre participant (centrifugation et stockage), le CNR IST LA Syphilis met à disposition 2 types de kit :

1) un kit GENOSYPH «complet» qui contient :

- 2 tubes secs pour le prélèvement de sang périphérique de 10 ml pré-identifiés (numéro d'anonymat du CNR)
- 2 tubes plastiques stériles bouchon rouge pré-identifés pour aliquoter le sérum
- 1 écouvillon coton sec dans son étui pré-identifié (numéro d'anonymat du CNR). Si le médecin juge opportun d'écouvillonner d'autres lésions, il utilisera ses propres écouvillons mais prendra soin d'indiquer le site de prélèvement et de coller le numéro d'anonymat du CNR correspondant sur l'étuis.
 - 1 jeu de 3 étiquettes auto-collantes pré-identifiées (numéro d'anonymat du CNR)
 - les formulaires relatif à l'étude

Le centre préleveur procèdera à la récolte du sérum après centrifugation à 2500 rpm pendant 10 min à température ambiante. Le sérum sera aliquoté, en proportion égales, dans les deux tubes de 5 ml pré-identifiés fournis dans le kit.

Les aliquots de sérum, l'écouvillon(s) dans son étuis, ainsi que la fiche de renseignement seront placés dans la pochette du kit qui sera scellée. <u>Le tout sera stocké à -20°C avant envoi</u> groupé à -20°C au CNR IST LA Syphilis.

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Sulvalie	Mhigh



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/20199/17

2) un kit GENOSYPH «allégé» qui contient :

- 1 écouvillon coton sec dans son étui pré-identifié (numéro d'anonymat du CNR). Si le médecin juge opportun d'écouvillonner d'autres lésions, il utilisera ses propres écouvillons mais prendra soin d'indiquer le site de prélèvement et de coller le numéro d'anonymat du CNR correspondant sur l'étuis.
 - un jeu de 3 étiquettes auto-collantes pré-identifiées (numéro d'anonymat du CNR)
 - les formulaires relatif à l'étude.
 - une boite de transport pour du matériel biologique infectieux prête à l'emploi.

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Sulvaly	Mhighi



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/201910/17

5- Matériels de prélèvement

5.1- Dans le cadre de l'expertise

Le centre préleveur qui désire envoyer un échantillon au CNR syphilis utilise son propre matériel de prélèvement (voir tableau ci-dessous donné à titre d'exemple) :

Matériel	Type de prélèvements
Ecouvillon sec tige bois	
CUPAN S 2 LTD S 1 LTD	Lésion cutanée,
Ecouvillon en milieu de transport	muqueuse
Track region and the second of	
Tube EDTA 5 ml	
5 60 802 805 80 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	Sang total
Tube sec 5 ml	
dg to the same and	Sérum
Flacon	
	Biopsies ¹
Tube sec hermétique	
	LCR

 $^{^1}$ Les biopsies seront envoyées en présence de PBS ou de sérum physiologique afin d'éviter leur déshydratation

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Gullalle	Mhifi



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/201911/17

5.2- Dans le cadre des protocoles de recherche

Le matériel mis à disposition du centre préleveur par le CNR IST LA Syphilis:

Matériel mis à disposition par le CNR	Type de prélèvement / Objet
syphilis	
Ecouvillon sec tige bois (x1)	Lésion cutanée, muqueuse
COLUPAN (S) (C) (S) (S) (S) (S) (S) (S) (S) (S) (S) (S	
Tube sec 10 ml (x2)	Sérum
Deg N GOOH	
Tube plastique stérile 5 ml (x2)	Aliquote de sérum
Boite de transport	Retour écouvillon pour kit «allégé» :
	Boite sécurisée pour le transport de Matériel
	Infectieux de catégorie B
	(l'écouvillon est placé dans le tube à bouchon
	noir qui est lui même déposé dans la boite de
\\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \	transport)

Avec «kit complet » : écouvillon + tubes sec pour sérum + tubes plastique pour aliquotage:

Chaque centre qui acceptera de participer à l'étude recevra en première dotation un lot de 3 kits renouvelables contenant 1 écouvillon sec tige bois, 2 tubes sec + 2 tubes d'aliquote pré-identifiés et tous les formulaires relatif à l'étude pour chaque kit.

Avec « kit allégé » : écouvillon uniquement dans boite de transport:

Chaque centre qui acceptera de participer à l'étude recevra en première dotation un lot de 3 kits renouvelables contenant 1 écouvillon sec tige bois, une boite de transport complète prête à l'emploi et tous les formulaires relatif à l'étude pour chaque kit.

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Gullery	Mhigh



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/201912/17

6- Identification de l'échantillon

6.1- Dans le cadre de l'expertise

En fonction de l'analyse souhaitée, les fiches de renseignements sont téléchargeables sur le site internet du CNR IST (www.cnr-ist.fr) rubrique « Envoyer une souche ou un échantillon », sous rubrique « SYPHILIS ». La fiche <u>PCR TP</u> correspond à une analyse par PCR. La fiche <u>Sérologie</u> correspondant à une détermination de la sérologie syphilis sur sérum ou plasma décanté. La fiche <u>VDRL-LCR</u> correspond à une demande d'analyse sérologique du LCR (test VRL charbon). Ces fiches peuvent être envoyées également par mail (contact: Tel: 0144-412-560, e-mail: philippe.grange@aphp.fr).







	Rédaction Vérification		Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Gulvaly	Mhighi



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/201913/17

6.2- Dans le cadre d'un protocole de recherche

Avec «kit complet» : <u>écouvillon</u> + <u>2 tubes sec</u> <u>pour sérum</u> :

CNR Syphilis FICHE DE RENSEIGNEMENTS Adresse du centre préleveur xxxx (le code centre, le numéro CNR et l'adresse sont pré-remplis par le CNR syphilis) Nom du médecin ou biologiste : Coordonnées précises pour vous joindre: Sexe: M F enceinte 2- Prélèvements : utiliser les tubes pré-numérotés du sachet Ecouvillon coton sec (en cas de lésions muqueuses ou cutanées, faire un grattage pour obtenir une sérosité). Merci d'utiliser vos propres écouvillons si vous jugez nécessaire de réaliser plusieurs prélèvements et de les identifier avec les étiquettes CNR jointes dans le kit. BIEN PRECISER LE SITE DE PRELEVEMENT Génital Anal Buccal Tronc Main Pied Autres : ___ 2 tubes secs de 10 ml chacun de sang périphérique du patient.

Avec «kit allégé» : <u>écouvillon uniquement</u> :

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

Centre :		nº de	rode centre		Numéro CNR
	Adress	e du centre pi	éleveur		
		entre, le numéro CNR emplis par le CNR sy			XXX
Date du pré	lèvement :				
Nom du mé	decin ou biol	logiste :			
Coordonnée	s précises po	our vous joindre:			
Age : 2- Prélèvem Ecouvill	ent : utiliser on coton sec	Sexe : le tube pré-numér	oté du kit		nceinte
		PRECISER LI			
	Génital	Anal	Buccal		
	Tronc				
	Main	Pied			
	Autres : _				
Les résultats	seront transn	nis à titre indicatif et	ne doivent pas	modifier la p	orise en charge initi

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Sulvely	Mhighi



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Page(s)

14/17

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Version : v0429/01/2019

7- Transport

Les envois de matières infectieuses sont soumis à la réglementation du transport des matières dangereuses. Cette réglementation impose des obligations en matière d'emballage, d'étiquetage et de transport. Tout transport de matériels biologiques potentiellement infectieux est sous l'entière responsabilité de l'expéditeur.

Les modalités de transport des matières infectieuses sont fixées par l'arrêté du 5 décembre 2002 modifiant l'arrêté du 1^{er} juin 2001 relatif au transport des marchandises dangereuses par route (dit « <u>arrêté ADR</u> »). Il est recommandé de suivre le Guide sur la sécurité du transport des matières infectieuses et des échantillons de diagnostic <u>publié par l'OMS</u>.

7.1- Dans le cadre de l'expertise

Les échantillons pour expertise moléculaire sont envoyés par le centre préleveur au CNR IST LA Syphilis à température ambiante, 4°C ou congelé (voir plus bas) en utilisant leur transporteur agréé pour le transport du matériel biologique de catégorie B.

L'adresse du CNR syphilis est disponible soit sur demande (Tel : 0144-412-560, e-mail : philippe.grange@cch.aphp.fr). Elle est également consultable à partir du site internet www.cnr-ist.fr dans la rubrique «Envoyer une souche ou un échantillon ».

7.2- Dans le cadre des protocoles de recherche

Avec «kit complet» : <u>écouvillon</u> + <u>2 tubes sec pour sérum</u> :

L'ensemble des échantillons prélevés sont conservés à -20°C par le centre préleveur jusqu'à épuisement du nombre de kits. Le centre préleveur contactera alors le CNR syphilis qui mandatera un transporteur pour la récupération des échantillons. L'envoi des écouvillons se fait à -20°C.

ADRESSE: CNR des IST bactériennes – Syphilis

Service de Dermatologie

Hôpital Cochin – Pavillon Gustave Roussy

Etage 4, porte 405

8, rue Méchain - 75014 PARIS

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Gullalle	Mhifi



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/201915/17

7.3- Délai d'acheminement des échantillons

Analyse	Nature échantillon		Température	Délai	Sous	Rejet
Allalyse			remperature	autorisé	réserve	Rejet
		Sec	Ambiante	10 j	> 10 j et < 15 j	> 15 j
	Ecouvillon	Milieu transport	4°C	< 2 j	> 2 j et < 4 j	> 5 j
	Sang total		4°C	< 2 j	> 2 j et < 4 j	> 5 j
Pour PCR	LCR	I CD		< 2 j	> 2 j et < 4 j	> 5 j
	LCR		- 20°C	> 7 j	/	/
	Tout autre prélevement		4°C	< 3 j	> 3 j et < 5 j	> 5 j
			- 20°C	> 7 j	/	/
	Sérum et plasi	na	4°C	< 7 j	> 7 j et < 8 j	> 9 j
Pour	(échantillon décar	nté obligatoire)	- 20°C	> 7 j	/	/
sérologie	LCR		4°C	< 7 j	> 7 j et < 8 j	> 9 j
	DOR		- 20°C	> 7 j	/	/

Pour amplification génique

- Les écouvillons secs sont transmis à température ambiante (après expertise, le CNR syphilis a montré que la détection de *T. pallidum* par nPCR est réalisable sur des écouvillons laissés à température ambiante pendant 10 jours).
- Les écouvillons en milieu de transport sont acheminés à 4°C sur une période n'excédant pas 5 j.
- Pour les autres types de prélèvements ils sont envoyés à la température de leur conservation. Si > à 7 jours, ils seront congelés. **NE PAS DECONGELER UN ECHANTILLON**.

Pour sérologie (échantillon décanté obligatoire)

- Pour le sérum et le plasma ils sont envoyés à 4°C. Si > 7 jours, ils sont envoyés congelés.
- Pour le LCR il est envoyé à 4°C. Si > 7 jours, il est envoyé congelé.

	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Gullerty	Mhighi



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/201916/17

8- Elimination des déchets

8.1- Réglementation

La gestion des déchets est réglementée par le code de l'environnement.

Loi n°75-633 du 15 juillet 1975 relative à l'élimination des déchets et la récupération des matériaux.

Art. 1: Est déchet, tout résidu issu d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation. Toute substance ou matériau produit ou plus généralement tout bien meublé abandonné ou que son détenteur destin à l'abandon.

Art. 2 : Tout producteur de déchet est responsable de l'élimination des déchets qu'il produit.

En conséquence, tout centre préleveur est responsable de l'élimination des déchets non contaminés et contaminés par du matériel biologique qu'il produit.

Tout personnel des centres préleveurs impliqués dans la collecte des échantillons biologiques à destination du CNR IST LA syphilis doit se référer au Manuel de Prélèvement et au protocole de Prévention des risques mis en place dans son laboratoire.

	Rédaction	Rédaction Vérification	
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	-hang.	Sulvate	Mhifi



MANUEL DE PRELEVEMENT

Procédure qualité au CNR IST LA Syphilis

Référence : CNRSY-PREA-PR-001Date d'application:Page(s)Version : v0429/01/201917/17

9- Sécurité du personnel

Le personnel des centres préleveurs peut être exposé à une grande diversité de risques. Dans ce cadre là, un protocole de gestion des risques conduisant à leur évaluation à conduit les responsables des centres préleveurs à mettre en place des mesures de prévention du personnel. Tous les personnels impliqués dans la collecte des échantillons pour le CNR IST LA syphilis, doivent se reporter au manuel de gestion des risques mis en place dans leur laboratoire.

10- Phase post-analytique

10.1- Conditions de stockage des échantillons analysés et ré-analyse

Les échantillons analysés sont systématiquement re-congelés immédiatement après leur utilisation et peuvent, de ce fait, être ré-analysés si nécessaire.

10.1.1- Dans le cadre de l'expertise :

Les échantillons analysés sont stockés pour une courte période dans un congélateur -20°C identifié, dans une boite numérotée et identifiée «Echantillons envoyés pour analyse PCR» et logo du CNR IST. Cette boite est ensuite transférée dans un congélateur -80°C identifié au CNR pour une conservation longue.

10.1.2- Dans le cadre des protocoles de recherche :

Les exsudats d'écouvillons et les sérums (aliquotés en 4 fractions égales) sont stockés pour une courte période dans un congélateur -20°C identifié au CNR IST, dans une boite numérotée et identifiée «ECOUVILLON» et dans une boite numérotée et identifiée «SERUM» avec et le logo du CNR IST. Ces boites sont ensuite transférées dans un congélateur -80°C identifié au CNR pour une conservation longue.

10.1.3- Critères de ré-analyse

Le critère de ré-analyse est établit selon la procédure «Validation biologique des résultats». La validation biologique est le contrôle de la vraisemblance et de la cohérence de l'ensemble des résultats des analyses d'un même dossier et leur confrontation avec les résultats antérieurs. Elle peut nécessiter la connaissance de l'état clinique du patient et les traitements mis en œuvre. Elle est assurée par le biologiste du CNR IST LA Syphilis.

	Rédaction	Vérification Approba	
Nom	Philippe GRANGE	Nadjet BENHADDOU	Nicolas DUPIN
Fonction	Ingénieur de recherche	Pharmacien biologiste	PU-PH
Signature	hand	1. N. A. W.	1M 0
		Juliany	Nhigh
			<i>J</i>