

ERRIT-IRBA		Titre : Manuel de prélèvement	
Code : ERRIT-DIRE-PR-002	V : 4	Date d'application : 07/06/2018	Page : 1 / 11

IRBA CNR sur les Arbovirus Laboratoire 114 IHU MI, 19-21 bd Jean Moulin 13005 Marseille Tél. : 04.13.73.21.81 Fax : 04.13.73.21.82	DIRECTION/MANAGEMENT	ENREGISTREMENT
	MANUEL DE PRELEVEMENT	

ETAT DES MODIFICATIONS :

VERSION	DATE	COMMENTAIRE
1	22/09/2016	Création du document
2	12/10/2016	Modification
3	17/04/2018	Modification
4	07/06/2018	Modification
5	01/02/2019	Modification

Rédaction	Vérification technique	Vérification qualité	Approbation
Date : 01/02/2019 Fonction : Responsable qualité Nom : DURAND Guillaume Visa :	Date : 07/06/2018 Fonction : Adjoint d'unité Nom : GRARD Gilda Visa :	Date : 07/06/2018 Fonction : Responsable qualité Nom : TENEBRAY Bernard Visa :	Date : 07/06/2018 Fonction : Adjoint d'unité Nom : GRARD Gilda Visa :

LISTE DE DIFFUSION :

Identification	Mode de diffusion
Tout le personnel de l'ERRIT	Mise en réseau.
Laboratoires de Biologie Médicale	Voie électronique
Poste de travail pré-analytique	Papier
Public	Site internet du CNR

I – OBJET :

Ce manuel de prélèvement vise essentiellement à l'obtention d'un échantillon biologique de qualité, première étape pour garantir de la fiabilité du résultat de l'examen demandé.

Il est rédigé par le responsable qualité, vérifié par un personnel du laboratoire et approuvé par le responsable du laboratoire. Sa mise à jour est effectuée tous les 2 ans et lors d'un changement nécessaire.

Sa diffusion est effectuée automatiquement pour les laboratoires demandeurs réguliers, et à la demande d'un laboratoire demandeur ponctuel.

Lors d'une modification, une note d'information sera adressée à la liste de diffusion.

Le manuel de prélèvement a pour finalité d'optimiser les échanges entre le CNR des Arbovirus et ses différents clients réalisant et/ou assurant l'acheminement des prélèvements.

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 toutes les informations utiles, ainsi que les exigences à respecter, pour réaliser et prendre en charge, dans des conditions optimales, les prélèvements.

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

ERRIT-IRBA		Titre : Manuel de prélèvement	
Code : ERRIT-DIRE-PR-002	V : 4	Date d'application : 07/06/2018	Page : 2 / 11

Le manuel de prélèvement aborde aussi les modalités de validation des résultats, délai des résultats, transmission des résultats et conseils.

Le « Manuel de Prélèvement » apporte aux différents centres préleveurs et clients l'assurance de l'existence d'un système qualité au sein du CNR des Arbovirus en respectant les exigences réglementaires et en particulier celles de la norme NF EN ISO 15189.

II – DOMAINE D'APPLICATION :

Ce document est destiné à l'ensemble du personnel de l'ERRIT et ses clients. L'envoi d'un examen de biologie médicale au CNR arbovirus vaut acceptation des modalités du présent manuel et formalise la revue du contrat entre les deux parties.

III – DOCUMENTS DE REFERENCE :

- Documents liés :

Code du document	Nom du document
VIR-PR-001-TRI ET ENREGISTREMENT DES PRELEVEMENTS	Procédure de tri et d'enregistrement des prélèvements
QUAL-PR-002-TRAITEMENT DES NON-CONFORMITES	Traitement des non-conformités
QUAL-EN-005-FICHE DE NON-CONFORMITE	Fiche de non-conformité
VIR-EN-002-V2-FICHE DE RENSEIGNEMENTS	Fiche de renseignements
QUAL-FR-001-ENQUETE DE SATISFACTION	Enquête de satisfaction

IV – DEFINITIONS / MOTS CLEFS:

- **CNR** : Centre National de Référence
- **ANSP** : Santé Publique France
- **Cire** : Cellule Interrégionale d'Epidémiologie
- **LCR** : Liquide Céphalo-Rachidien
- **RT-PCR** : Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
- **ELISA** : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
- **Qualité**
- **Pré-analytique**
- **Transport**
- **Echantillon**
- **Consentement à l'usage d'échantillon et de données associées**

ERRIT-IRBA		Titre : Manuel de prélèvement	
Code : ERRIT-DIRE-PR-002	V : 4	Date d'application : 07/06/2018	Page : 3 / 11

V – MISE EN ŒUVRE :

Sommaire

V-1 Présentation du CNR des Arbovirus : ses missions	4
V-2 Récapitulatif des recommandations pré-analytiques	5
V-3 Liste des analyses effectuées au CNR des Arbovirus	6
Acceptation de la demande	6
Adaptation modification de la prescription	7
V-4 Réalisation des prélèvements	7
V-5 Matériels de prélèvement	8
V-6 Renseignements cliniques & Consentement à la recherche	8
Mise à disposition de la fiche de renseignement	9
Consentement du patient à l'utilisation des échantillons et données associées	9
V-7 Etiquetage du prélèvement	9
V-8 Conditionnement de l'envoi	9
V-9 Transport des échantillons.....	9
V-10 Elimination des déchets.....	10
V-11 Sécurité du personnel	10
V-12 Conservation post-analytique des échantillons	10
V-13 Compte-rendu des résultats	11
Validation et interprétation des résultats	11
Délais de rendu des résultats.....	11
Modalités de transmission des résultats.....	11

ERRIT-IRBA		Titre : Manuel de prélèvement	
Code : ERRIT-DIRE-PR-002	V : 4	Date d'application : 07/06/2018	Page : 4 / 11

V-1 Présentation du CNR des Arbovirus : ses missions

Le Centre National de Référence des Arbovirus a été nommé pour la période avril 2017 à mars 2022 par arrêté du 9 mars 2017 (JORF n°0058 texte n°20) fixant la liste des centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles et des laboratoires associés. Le CNR sur les Arbovirus fait partie de l'unité Virologie, du département Microbiologie et Maladies Infectieuses, au sein de l'Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA). Il est hébergé au sein de l'Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée Infection, situé 19-21 boulevard Jean Moulin à Marseille.

Le CNR des Arbovirus a une mission d'expertise pour le diagnostic des Arbovirus et, en liaison étroite avec Santé Publique France et les différentes CIRE, une mission de surveillance et d'alerte des cas d'arbovirose en France et importés en France. Il fait également partie du réseau national des laboratoires Biotox-Piratox.

Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR

1. Apporter une expertise microbiologique :

- Développer et/ou valider les techniques diagnostiques sérologiques et moléculaires des arboviroses
- Mettre les techniques à disposition des laboratoires intéressés
- Disposer d'une expertise pour l'identification et la caractérisation des souches d'arbovirus autochtones et importées en France métropolitaine et dans les DOM
- Collaborer avec les structures expertes en entomologie pour suivre la situation des vecteurs potentiels en métropole et dans les DOM

2. Contribuer à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'Institut de Veille Sanitaire :

- En contribuant à la surveillance épidémiologique des arboviroses et à l'investigation d'éventuels cas groupés, en lien avec les Cire concernées et selon les modalités définies par les plans concernant la lutte contre ces virus en vigueur en France métropolitaine et dans les DOM
- En contribuant aux réseaux de surveillance européens ou internationaux
- En contribuant avec les structures en charge de la surveillance des arboviroses chez l'animal

3. Contribuer à l'alerte :

- En signalant à l'Institut de Veille Sanitaire et aux Cire concernées tout évènement inhabituel : augmentation du nombre de cas, apparition de cas groupés, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles), introduction de nouveaux arbovirus sur le territoire, etc.

4. Contribuer aux travaux du réseau national des laboratoires Biotox-Piratox :

- Apporter son expertise spécifique au profit des instances concernées de santé publique, de défense et de sécurité nationale
- Contribuer avec les instances chargées de leur pilotage, à l'animation du réseau des laboratoires Biotox-Piratox
- Contribuer à la mise en place d'une collection nationale de souches des agents de la menace pour les besoins de la biodéfense.

V-2 Récapitulatif des recommandations pré-analytiques

Analyse	Nature, volume du prélèvement et recommandations	Transport			Délai de rendu des résultats	Stockage des échantillons au CNR	
		T°C	Délai préconisé*	Rejet		T°C	Durée
RT-PCR Arbovirus Détection de génome viral	Plasma sur tube EDTA 5 ml	+4°C	48h	Si hémolysé	48 à 72h	-20° C	Illimitée (prélèvement)
	Tube sec avec gel centrifugé 5 ml	+4°C	48h	> 8 jours			
	Sérum ou plasma décanté	+4°C	48h				
	LCR minimum 0,5 ml	+4°C	48h				
	Urines 1ml	+4°C	48h				
	Autres liquides biologiques 1ml	+4°C	48h				
Biopsie	-20°C	48h	décongelée	48 à 96h	N/A	N/A	
Sérologie Arbovirus Détection des IgM et IgG par ELISA	Plasma sur tube EDTA 5 ml	+4°C	48h	Si hémolysé	48 à 96h	-20°C	Illimitée
	Tube sec avec gel centrifugé 5 ml	+4°C	48h	Jamais			
	Sérum ou plasma décanté 1 ml	+4°C	48h				
	LCR minimum 0,5 ml	+4°C	48h				
Séro-neutralisation	Plasma sur tube EDTA 5 ml	+4°C	48h	Si hémolysé	1 mois	-20°C	Illimitée
	Tube sec avec gel centrifugé 5 ml	+4°C	48h	Jamais			
	Sérum ou plasma décanté 1 ml	+4°C	48h				
	LCR minimum 0,5 ml	+4°C	48h				
Isolement viral	Plasma sur tube EDTA 5 ml	+4°C	48h	Si hémolysé	N/A	-20° C	Illimitée
	Tube sec avec gel centrifugé 5 ml	+4°C	48h	> 8 jours			
	Sérum ou plasma décanté 1ml	+4°C	48h				
	LCR minimum 0,5 ml	+4°C	48h				
	Urines 1ml	+4°C	48h				
	Autres liquides biologiques 1ml	+4°C	48h				
Biopsie	-20°C	48h	Décongelée		N/A	N/A	

* Le délai de 48h est préconisé pour permettre un rendu de résultat patient dans des délais acceptables.
N/A : non applicable

V-3 Liste des analyses effectuées au CNR des Arbovirus

		Sérologie			
Genre	Virus	Elisa (IgM / IgG)	Neutralisation	RT-PCR en temps réel	Culture
Alphavirus				•	•
	Chikungunya	•	•	•	•
	O' Nyong Nyong	•	•		•
	Ross River	•	•	•	•
	Sindbis	•	•		•
	Semliki Forest	•	•		•
	Mayaro	•	•	•	•
	Tonate	•	•		•
	Encéphalite équine du Vénézuéla (VEE)	•	•		•
	Encéphalite équine de l'Est (EEE)	•	•		•
	Encéphalite équine de l'ouest (WEE)	•	•		•
Flavivirus				•	•
	Fièvre jaune	•	•	•	•
	Dengue	•	•	•	•
	West Nile	•	•	•	•
	Usutu	•	•	•	•
	Wesselsbron	•	•		•
	Encéphalite à tiques	•	•	•	•
	Encéphalite japonaise	•	•	•	•
	Encéphalite de Saint Louis	•	•	•	•
	Zika	•	•	•	•
Bunyavirus				•	•
	Bunyamwera	•	•		•
	Tahyna	•	•		•
Phlebovirus				•	•
	Rift Valley fever	•	•	•	•
	Toscana	•	•	•	•
	Sandfly Sicilian	•	•	•	•
	Sandfly Naples	•	•	•	•

Acceptation de la demande

Le CNR des arbovirus ne réalise pas les analyses si le prélèvement n'est pas accompagné de la fiche de renseignement. De même, les conditions de rejet des échantillons sont précisées dans le tableau des recommandations pré-analytiques.

ERRIT-IRBA		Titre : Manuel de prélèvement	
Code : ERRIT-DIRE-PR-002	V : 4	Date d'application : 07/06/2018	Page : 7 / 11

Une absence complète d'identification, ou une discordance entre la fiche de renseignement et l'identité sur le tube, fera l'objet d'un rejet de la demande. En cas d'identification partielle (ex : absence de prénom) une confirmation d'identité par fax via la fiche de renseignement sera demandée au laboratoire demandeur.

Les non-conformités seront visibles sur le compte-rendu de résultats.

Adaptation modification de la prescription

Le CNR arbovirus, dans le cadre de ces missions de santé publique et de diagnostic d'expertise, réalise les analyses pertinentes en fonction des renseignements et ne suit pas forcément les prescriptions reçues.

Rappel à titre indicatif sur l'interprétation des renseignements par le CNR des Arbovirus et le type d'analyse qui en découle en fonction du délai entre la date de début des signes cliniques et la date du prélèvement et de la présence ou non d'un syndrome neurologique :

- strictement inférieur à 5 jours : PCR
- compris entre 5 et 7 jours : PCR + sérologie
- strictement supérieur à 7 jours : sérologie

Rappel sur les arbovirus recherchés en systématique en fonction du pays de voyage :

- **Sud de la France** : Dengue, West-Nile, Zika, Chikungunya, Toscana
- **Nord de la France** : Dengue, West-Nile, Zika, Chikungunya, TBE (Langat)
- **Afrique, Moyen-orient** : Dengue, West-Nile, Zika, Chikungunya, Fièvre de la Vallée du Rift
- **Etats-Unis** : Dengue, West-Nile, Zika, Chikungunya, Encéphalite de Saint-Louis
- **Amériques centrale et du sud** : Dengue, Zika, Chikungunya, Mayaro
- **Pacifique** : Dengue, Zika, Chikungunya, Ross River
- **Asie** : Dengue, Zika, Chikungunya, Encéphalite Japonaise
- **Caraïbes** : Dengue, West-Nile, Chikungunya, Zika

Pour des raisons épidémiologiques ou scientifiques le CNR des Arbovirus se réserve, à tout moment, le droit de modifier cette liste ou de rajouter la recherche d'autres virus en fonction du contexte clinique.

V-4 Réalisation des prélèvements

Les prélèvements reçus au CNR des Arbovirus sont des demandes ponctuelles de praticiens pour la détection moléculaire et/ou la sérologie des Arbovirus dans divers prélèvements biologiques. Ces prélèvements sont obtenus à l'issue de consultations de patients suspectés d'arbovirose. La demande fait l'objet d'un rendu de résultat nominatif au laboratoire expéditeur, celui-ci étant validé et signé par le chef d'unité ou ses adjoints.

Les prélèvements acceptés par le CNR des Arbovirus sont :


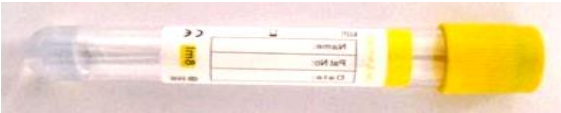


- des prélèvements sanguins (plasma EDTA, sérum)
- du LCR
- de l'urine
- d'autres liquides biologiques (liquide amniotique, sperme, salive, etc.)
- des biopsies

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

ERRIT-IRBA		Titre : Manuel de prélèvement	
Code : ERRIT-DIRE-PR-002	V : 4	Date d'application : 07/06/2018	Page : 8 / 11

V-5 Matériels de prélèvement

Les préleveurs doivent vérifier au préalable la date de péremption de leur matériel de prélèvement avant utilisation.

Matériel	Type de prélèvements
Tube EDTA 5 ml 	Sang total
Tube sec avec gel 5 ml 	Sérum
 Tubes hermétiques (1 à 1,5 ml) supportant la congélation Exemples : 	LCR
Flacon stérile et étanche Type ECBU 	Urine

V-6 Renseignements cliniques & Consentement à la recherche

Chaque prélèvement envoyé au CNR des Arbovirus doit impérativement être accompagné de la fiche de renseignements de diagnostic des arboviroses dûment remplie.

Les renseignements obligatoires à la bonne réalisation des analyses sont:

- l'identité du patient y compris le nom de jeune fille pour les femmes mariées
- la date de naissance du patient
- l'identité du prescripteur
- l'identité et le fax du laboratoire expéditeur
- le numéro d'enregistrement du laboratoire expéditeur
- la date du prélèvement
- les informations de voyage et dates
- la date de début des signes cliniques
- les signes cliniques
- les vaccinations pour les arboviroses
- la recherche de paludisme
- grossesse en cours

ERRIT-IRBA		Titre : Manuel de prélèvement	
Code : ERRIT-DIRE-PR-002	V : 4	Date d'application : 07/06/2018	Page : 9 / 11

Mise à disposition de la fiche de renseignement

La fiche de renseignements (voir fin du document) est disponible en ligne :

- Site internet officiel du laboratoire : www.cnr-arbovirus.fr

Elle peut être également disponible sur demande par téléphone au 04 13 73 21 81, par e-mail à mgalla.irba@gmail.com ou gildagrard.irba@gmail.com ou drguillaumedurand@gmail.com (horaires ouvrables). Elle sera envoyée par fax ou par e-mail.

Consentement du patient à l'utilisation des échantillons et données associées

En vertu du Code de la Santé Publique et de la Loi Informatique et Liberté, le patient doit être informé de l'utilisation possible des échantillons biologiques collectés et des données associées à des fins de recherche. Les études de recherche par le CNR et ses partenaires consistent à améliorer le diagnostic et les connaissances scientifiques sur les arbovirus. Dans ce cadre, toute donnée personnelle est systématiquement anonymisée pour un usage dans le respect de la confidentialité. De plus, toute recherche en matière de génétique humaine est exclue de cette démarche.

Il est donc demandé au laboratoire ou au médecin prescripteur d'en informer le patient (ou pour les mineurs : le(s) titulaire(s) de l'autorité parentale / pour les majeurs sous tutelle : le tuteur) avant l'envoi des échantillons et de cocher uniquement en cas d'opposition la case « s'oppose » dans le paragraphe « information préalable du patient ». En cas de non-opposition, le CNR considèrera avoir obtenu le consentement du patient à l'usage des échantillons et données associées à des fins de recherche.

V-7 Etiquetage du prélèvement

L'étiquetage du tube de prélèvement doit impérativement faire figurer :

- le nom de naissance et le prénom du patient
- la date de naissance du patient
- la date du prélèvement
- la nature du prélèvement (sérum, plasma, LCR...)

L'utilisation de l'étiquette de transport orange est impérative (DIRE-FR-002, téléchargeable sur notre site internet).

V-8 Conditionnement de l'envoi

Le conditionnement du tube de prélèvement doit se faire en triple emballage :

- 1 seul prélèvement / emballage (même si envoi de plusieurs prélèvements pour un même patient)
- Une copie de la fiche de renseignement dans chaque emballage unitaire.

Définition d'un triple emballage UN 3373 :

- L'emballage primaire est le tube, le flacon.
- L'emballage secondaire est un contenant étanche et hermétique qui doit tenir à une pression différentielle de 0,95 kPa (0,01 Bar) et dans lequel sera placé un matériau absorbant.
- L'emballage tertiaire est un emballage rigide et robuste dans lequel sera mis l'emballage secondaire.

Celui-ci doit mentionner :

- Etiquetage et marquage : étiquette UN 3373 en indiquant la mention "MATIERE BIOLOGIQUE, CATEGORIE B",
- Identification : nom, adresse et N° de téléphone du responsable de l'expédition en cas d'incident,
- Condition de température et sens de manutention.

V-9 Transport des échantillons

ERRIT-IRBA		Titre : Manuel de prélèvement	
Code : ERRIT-DIRE-PR-002	V : 4	Date d'application : 07/06/2018	Page : 10 / 11

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 matériel biologique potentiellement infectieux est sous l'entière responsabilité de l'expéditeur.

Les modalités du transport de 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.

Il est conseillé de suivre le Guide sur la sécurité du transport des matières infectieuses et des échantillons de diagnostic publié par l'OMS consultable sur Internet en tapant le lien suivant :

<http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/whoemc973fr.pdf>

Les échantillons sont envoyés par le laboratoire préleveur au CNR des Arbovirus à la température de +4°C ou congelés à -20°C en utilisant leur transporteur agréé pour le transport de matériel biologique de catégorie B à l'adresse suivante :

CNR Arbovirus – Laboratoire 114
IHU Méditerranée Infection
19-21 bd Jean Moulin
13005 Marseille

Afin que le CNR des Arbovirus puisse garantir une qualité optimale des résultats des analyses, les délais autorisés pour l'acheminement des échantillons sont présentés dans le tableau du chapitre « V-2 Récapitulatif des recommandations pré-analytiques ».

V-10 Elimination des déchets

La gestion des déchets est réglementée par le code de l'environnement et en particulier par la loi n°75-633 du 15 juillet 1975 relative à l'élimination des déchets et à la récupération des matériaux. En conséquence, tout laboratoire ou centre préleveur est responsable de l'élimination de tous les déchets qu'il produit, qu'ils soient non contaminés ou contaminés par du matériel biologique.

Tout personnel des laboratoires ou centres préleveurs impliqué dans la collecte des échantillons biologiques destinés au CNR des Arbovirus doit se référer au présent « Manuel de prélèvement » et au protocole de prévention des risques mis en place dans son laboratoire.

V-11 Sécurité du personnel

Le personnel des laboratoires ou centres préleveurs peut être exposé à une grande diversité de risques. Dans ce cadre-là, une évaluation des risques doit être conduite par les responsables des laboratoires ou centres préleveurs afin de mettre en place des mesures de prévention destinées à les prévenir. Tous les personnels impliqués dans la collecte des échantillons pour le CNR des Arbovirus doivent se reporter au document d'analyses des risques mis en place dans leur laboratoire.

V-12 Conservation post-analytique des échantillons

Les échantillons reçus au CNR des Arbovirus sont systématiquement stockés en sérothèque dans un congélateur à -20° C et peuvent de ce fait être, par la suite, réanalysés. Les critères de reprise d'une analyse sont notamment la cohérence des différents résultats ou la confrontation avec les résultats antérieurs du patient. De même, tout prélèvement reçu sans fiche de renseignements est stocké dans les mêmes conditions et sera analysé lors de la réception des informations nécessaires à son exploitation.

ERRIT-IRBA		Titre : Manuel de prélèvement	
Code : ERRIT-DIRE-PR-002	V : 4	Date d'application : 07/06/2018	Page : 11 / 11

V-13 Compte-rendu des résultats

Validation et interprétation des résultats

La validation d'un résultat d'examen de biologie médicale est réalisée par le responsable du CNR et ses adjoints avant toute communication au prescripteur.

Les avis et conseils peuvent être donnés après le rendu d'un résultat, à l'initiative du responsable du CNR ou ses adjoints ou sur demande du prescripteur. Ces avis et conseils peuvent concerner l'interprétation du résultat, des examens complémentaires à réaliser selon le contexte clinique et les résultats.

Toute modification d'un résultat déjà communiqué fait l'objet d'une information au laboratoire expéditeur.

Délais de rendu des résultats

Les délais de rendu des résultats sont précisés dans le tableau du chapitre « V-2 Récapitulatif des recommandations pré-analytiques ».

Modalités de transmission des résultats

Les résultats sont transmis par Télécopie (Fax). Dans certaines situations, les résultats sont transmis par téléphone par le responsable du CNR ou ses adjoints.

V-14 Gratuité des analyses

Les subventions du Ministère de la Santé et du Ministère des Armées permettent d'assurer la gratuité totale des analyses réalisées par le CNR dans le cadre de ses missions de santé publique.

Le transport des échantillons reste à la charge du laboratoire prescripteur.