

Prélèvements sanguins pour analyses biologiques
Blood sampling for biological analysis

Version : 5

Date : 01/11/2017

REDACTEURS	VERIFICATEURS	APPROBATEUR	DESTINATAIRES
Thomas Kesteman	Franck Remoué André Offianan Touré Carole Eboumbou Nicaise Ndam Inès Vigan-Womas Milijaona Randrianariveლოსია Serge Assi	Participants au projet PALEVALUT	Infirmiers et superviseurs de la POS n° 5 (PREVALENCE)
Date : 19/09/2013	Date : 30/09/2013	Date : 04/10/2016	


Objet : La procédure définit la méthode de prélèvement sanguin pour la réalisation de tests biologiques « au lit du malade », ainsi que pour la collection d'échantillons et leur transport au laboratoire pour la réalisation de tests parasitologiques, sérologiques et de biologie moléculaire.

Application : Le document est élaboré pour le personnel chargé de la réalisation des prélèvements sanguins sur le terrain durant l'enquête transversale (POS n°5) et de leur acheminement jusqu'au(x) laboratoire(s).

Documents associés :

- POS n°5 ; PREVALENCE : Prévalence du paludisme, des interventions de contrôle et de leurs facteurs associés
- POS n°10 ; DIAG-RAPID : Diagnostic des infections plasmodiales par test de diagnostic rapide (TDR)
- POS n°11 ; DIAG-MICROSCOP : Détection des infections plasmodiales par microscopie
- POS n°12 ; DIAG-MOLECULAR : Détection des infections plasmodiales par test de biologie moléculaire
- POS n°13 ; IMMUNO-VECTOR-BITES : Evaluation immunologique de l'exposition aux piqûres de vecteurs de paludisme
- POS n°14 ; IMMUNO-INFECTION : Evaluation immunologique de l'exposition aux infections plasmodiales
- POS n°15 ; IMMUNO-MULTIPLEX : Evaluation immunologique multiplex de l'exposition aux infections plasmodiales et aux piqûres de vecteurs de paludisme

Annexe : Néant

	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017


Historique des modifications :

Date	Version	Nature de la modification
19/09/2013	1	Création de la POS après les remarques des vérificateurs et des participants à l'atelier WP1
30/09/2013	2	Corrections par les vérificateurs
04/10/2016	3	Prise en compte des remarques après la mise en œuvre de la POS (Madagascar, Bénin, Cameroun et Côte d'Ivoire) et insertion des propositions faites lors de l'atelier WP4 (3 au 7 octobre 2016, Paris)
21/10/2016	4	Remise en forme selon modèle défini
01/11/2017	5	Validation C. Rogier

Sommaire :

1. Introduction	3
2. Objectif.....	3
3. Responsabilités	3
4. Matériels	4
4.1 Matériel pour le prélèvement et le transport de l'échantillon de sang.....	4
4.2 Matériel pour la réalisation de TDR.....	5
4.3 Matériel pour la réalisation d'étalement de sang sur lame de verre	5
4.4 Matériel pour la conservation de sang sur papier-buvard.....	5
4.5 Matériel pour la collecte de sérum	6
5. Méthodes.....	6
5.1 Préparation des feuilles de papier-buvard (avant utilisation sur le terrain).....	6
5.2 Précautions à prendre avant et pendant les prélèvements.....	7
5.3 Ordre des étapes du prélèvement	7
5.4 Piqûre pour collecte de sang capillaire.....	8
5.5 Prélèvement pour réalisation d'un TDR	9
5.6 Prélèvement pour l'étalement de sang sur lames de verre	10
5.7 Prélèvement pour collecte de sérum	10
5.8 Prélèvement pour collecte de sang séché sur papier-buvard.....	11
5.9 Conservation des échantillons.....	12
5.9.1 Conservation des TDR	12
5.9.2 Conservation des lames	12
5.9.3 Conservation des papier-buvards	12
5.9.4 Conservation des microcuvettes ou microtubes 1,5 ml PP	13



	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

1. Introduction

Pour évaluer l'efficacité des méthodes de lutte par des indicateurs d'exposition aux piqûres de vecteurs et d'infection plasmodiale, il est nécessaire d'avoir recours à différents tests biologiques. Ces tests sont réalisés à partir de prélèvements de sang sur des supports différents et transportés dans des conditions différentes. La réalisation de ces tests est décrite *in extenso* dans les POS correspondantes, à savoir :

- POS n°10 ; DIAG-RAPID : Diagnostic des infections plasmodiales par test de diagnostic rapide (TDR)
- POS n°11 ; DIAG-MICROSCOP : Détection des infections plasmodiales par microscopie
- POS n°12 ; DIAG-MOLECULAR : Détection des infections plasmodiales par test de biologie moléculaire
- POS n°13 ; IMMUNO-VECTOR-BITES : Evaluation immunologique de l'exposition aux piqûres de vecteurs de paludisme
- POS n°14 ; IMMUNO-INFECTON : Evaluation immunologique de l'exposition aux infections plasmodiales
- POS n°15 ; IMMUNO-MULTIPLEX : Evaluation immunologique multiplex de l'exposition aux infections plasmodiales et aux piqûres de vecteurs de paludisme

2. Objectif


L'objectif est de standardiser la procédure de prélèvement sanguin pour la réalisation de tests biologiques de diagnostic rapide (TDR) « au lit du malade », ainsi que pour la collection d'échantillons et leur transport au laboratoire pour la réalisation de tests parasitologiques, sérologiques et de biologie moléculaire.

3. Responsabilités

Fonction 1 : Personnel paramédical (infirmier, sage-femme,...) : identification et réalisation des prélèvements sanguins sur le terrain dans le cadre de la POS n°5 - PREVALENCE

Fonction 2 : Superviseur d'équipe : stockage des échantillons sanguin sur le terrain, et leur envoi du terrain vers le laboratoire. Organisation et gestion de sérothèque de laboratoire.




	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

4. Matériels

4.1 Matériel pour le prélèvement et le transport de l'échantillon de sang

- Coton hydrophile et alcool 70% (ou autre équivalent pour la désinfection du site de prélèvement)
- Gants à usage unique
- Crayon ou étiquettes individuelles
- Marqueur indélébile
- Container de biosécurité destiné à recevoir le matériel de ponction ou de collecte de sang usagé (considéré comme potentiellement infecté)
- Matériel de prélèvement à sélectionner selon le type de prélèvement (sang capillaire ou veineux) et la quantité de sang nécessaire :
 - Lancettes ou vaccinostyles pour le prélèvement de sang capillaire si uniquement les POS DIAG-RAPID (n°10) et DIAG-MICROSCOP (n°11) sont réalisées. Le recours à des lancettes *ad hoc* peut être également considéré, comme par exemple BD microtainer® contact-activated lancets (high flow, 1.5*2.0 mm, ref. 366594) ; Accu-chek (Safe-t-pro Plus - Roche)
 - Lancettes ou vaccinostyles pour le prélèvement de sang capillaire si utilisation de Microcuvettes (avec gel séparateur) pour le recueil du sérum (pour POS Sérologie et/ou POS DIAG-MOLECULAR)
 - Pour le prélèvement de sang veineux (au pli du coude), si une quantité plus importante de sang doit être prélevé (pour la réalisation des POS DIAG-MOLECULAR et/ou POS Sérologie : IMMUNO-VECTOR-BITES et/ou IMMUNO-INFECTION et/ou IMMUNO-MULTIPLEX)
 - Seringue à insuline à aiguille détachable (1 ml ; *une seringue de 2 ml peut également être utilisée*), ou
 - Systèmes intégrés *ad hoc* (comprenant aiguilles, supports et tubes sous vide) qui assurent une meilleure sécurité du prélèvement et de la manipulation *comme par exemple le système Vacutainer®*
- Microtube 1,5 ml PP avec cupule (type Eppendorf) pour la collecte du sang veineux prélevé à la seringue et sa centrifugation rapide pour récupération du sérum
- Si utilisation de Microcuvettes (avec gel séparateur) ou Microtube 1,5 ml PP : Glacière et accumulateurs de froid pour la conservation et le transport des prélèvements de sang.



	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

4.2 Matériel pour la réalisation de TDR

Cf. POS n°10 : DIAG-RAPID

- Dispositifs (e.g. cassettes emballées individuellement), solution tampon, poire jetable ou pipette capillaire et notice (fournis par le fabricant dans le kit TDR)

4.3 Matériel pour la réalisation d'étalement de sang sur lame de verre

Cf. POS n°11 : DIAG-MICROSCOP


- Lames de verre support pour examen microscopique, à bord poli, lavées et dégraissées
- Plateau pour le séchage des lames à l'abri des mouches et de la poussière
- Boîte de rangement pour lames
- Ruban adhésif ou élastique
- Crayon à papier

4.4 Matériel pour la conservation de sang sur papier-buvard

Cf. POS n°12 : DIAG-MOLECULAR (papier-buvard Whatman™ FTA® ou 3MM) et POS n°13 ; IMMUNO-VECTOR-BITES (papier-buvard Whatman™ 3MM)

- Micropipette 50 µl (volume variable ou fixe)
- Tips (cônes, embouts) 20-200µl
- Types de papier-buvard à sélectionner en fonction utilisation et coût :
 - papier-buvard Whatman™ FTA Elute Micro Cards (Whatman™: Cat WB: WB120410)
 - OU
 - papier-buvard Whatman™ 3MM (ce type de papier-buvard est recommandé pour les zones à forte humidité)
- Papiers ou sachet dessicant (i.e. déshydratant, absorbeur d'humidité)
- Pochette cartonnée ou sachet plastique pour protéger les buvards



	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

4.5 Matériel pour la collecte de sérum

Cf. POS Sérologie: POS n°13 ; IMMUNO-VECTOR-BITES
 POS n°14 ; IMMUNO-INFECTION
 POS n°15 ; IMMUNO-MULTIPLEX

- Microcuvettes pour le recueil du sang capillaire avec gel séparateur du sérum, comme par exemple :
 - Greiner bio-one MiniCollect® Capillary Blood Collection System, ref. 450473 (Z Serum, Sep, red cap, 0.5ml) + collerette (Funnel, ref. 450421)
 - BD Microtainer® tube with serum separator with Conventional gold closure (ref. 365956 ou 365951)
 - BD Microtainer® tube with serum separator with Microgard™ closure, clot activator, 400-600 µl (ref. 365967)

OU

- Microtube 1,5 ml PP avec cupule (type Eppendorf) pour la collecte du sang veineux prélevé à la seringue et sa centrifugation rapide pour récupération du sérum
- Boîtes de rangement pour tubes 1.5 ml
- Centrifugeuse pour tubes 1.5-2.0 ml ou microcuvettes

5. Méthodes


5.1 Préparation des feuilles de papier-buvard (avant utilisation sur le terrain)

La collecte de papier-buvard concerne la réalisation de la POS n°12 : DIAG-MOLECULAR et/ou POS n°13 ; IMMUNO-VECTOR-BITES

Cette méthode ne concerne que l'utilisation des papier-buvards Whatman™ 3MM. Si utilisation des papier-buvards FTA, le format du papier-buvard et les cercles sont déjà réalisés par le fabricant.

- Couper une feuille de papier-buvard Whatman™ 3MM en morceaux de la taille voulue pour la collecte des taches de sang (*i.e.* en fonction du nombre et de la taille des cercles à remplir avec des gouttes de sang ; voir ci-après) et les agraffer dans une chemise cartonnée, dite chemise « cartonnée protectrice ».



	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

- Sur chaque morceau de papier-buvard Whatman™ 3MM: dessiner au crayon à papier, un ou des cercles (de diamètre identique pour chaque cercle, environ 11 mm de diamètre) au milieu desquels le sang sera déposé (2-3 gouttes ou 40-50 µL de sang par cercle).


5.2 Précautions à prendre avant et pendant les prélèvements

- Lire la POS en entier avant de commencer les prélèvements
- Veiller à la protection vaccinale des opérateurs (e.g. contre l'hépatite B), à leur formation technique en matière de biosécurité (i.e. considérer que le sang manipulé et les déchets de ces manipulations sont potentiellement infectieux) et à leur supervision dans ce domaine
- Veiller à faire préparer les équipements (y compris l'aménagement du local) et les matériels nécessaires avant de procéder aux manipulations.
- Veiller au lavage des mains et au port des gants de protection par les opérateurs
- Identifier (i.e. indiquer l'identifiant individuel) les supports de collecte du sang (lames de verre, TDR, papier-buvard, microcuvette avec gel séparateur, microtube 1,5 ml) **AVANT** de réaliser le prélèvement de sang
- Décrire soigneusement à la personne prélevée ou au parent/adulte responsable /tuteur de l'enfant prélevé la procédure de prélèvement et ce qu'ils peuvent faire pour aider durant le prélèvement, afin d'obtenir leur collaboration et de les rassurer.
- Si prélèvement avec Lancette/vaccinostyle (sang capillaire) :
 - Pour enfant > 1 an :
 - Choisir de préférence pour le lieu de piqûre, le troisième doigt de la main gauche (pour les droitiers), au bout du doigt sur le côté (mais pas trop près de l'ongle)
 - Toujours nettoyer le doigt avant de le désinfecter juste avant la piqûre
 - Pour nourrisson < 1 an :
 - Choisir de préférence pour le lieu de piqûre le bord externe du talon (pas le doigt)
 - Toujours nettoyer le talon avant de le désinfecter juste avant la piqûre
- Si prélèvement en seringue à aiguille détachable (sang veineux) : piquer au pli du coude
- Jeter la lancette/vaccinostyle, l'aiguille ou la seringue utilisée dans le container de biosécurité adapté juste après son utilisation sans la déposer entretemps. Ne jamais la réutiliser.

5.3 Ordre des étapes du prélèvement

Un ordre est défini pour assurer la meilleure utilisation des données dans le cas où le prélèvement ne permettrait pas d'obtenir le volume de sang nécessaire à l'ensemble des tests



	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

biologiques. L'infirmier (ou le personnel paramédical opérant) réalise le prélèvement de sang pour une utilisation et une collecte dans l'ordre suivant (*i.e.* ordre décroissant de priorité) :

1) TDR,

2) Etalements de sang sur lame : goutte épaisse (GE) et frottis sanguin mince (FS),

puis, si les POS DIAG-MOLECULAR ou/et Sérologie (IMMUNO-VECTOR-BITES, IMMUNO-INFECTION et/ou IMMUNO-MULTIPLEX) sont prévues,

3) Collecte du sang en microcuvette (avec gel séparateur) si prélèvement de sang capillaire

4) Dépôt de 40-50 µl de sang sur chaque emplacement (*i.e.* cercle) de papier-buvard pour la réalisation de la POS DIAG-MOLECULAR (Whatman™ FTA® ou 3MM) et/ou pour la réalisation de la POS IMMUNO-VECTOR-BITES (Whatman™ 3MM uniquement)


5) Collecte du reste du sang veineux dans un Microtube 1,5 ml PP

Il est recommandé qu'un personnel paramédical assiste le préleveur de sang pour réaliser immédiatement les étalements de sang (GE et FS ; POS n°11 : DIAG-MICROSCOP), avant que le sang ait le temps de sécher sur la lame pendant que le prélèvement se poursuit.

5.4 Piqûre pour collecte de sang capillaire

- Se positionner adéquatement par rapport à l'individu prélevé.
- Nettoyer et désinfecter soigneusement avec du coton imbibé d'alcool le lieu de ponction. Le lieu de ponction doit être de préférence placé en situation déclive par rapport au thorax de la personne prélevée.
- Laisser l'alcool sécher à l'air. Sinon, le sang pourrait se mélanger à l'alcool et cela pourrait gêner la suite des opérations et altérer les résultats des tests biologiques.
- Retirer la protection de la lancette/vaccinostyle. Ne pas toucher la pointe de la lancette (risque de la contaminer).
- En décrivant un mouvement circulaire avec le pouce, appuyer doucement autour et vers le lieu de piqûre pour stimuler la circulation sanguine et drainer le sang vers ce lieu.
- Maintenir une pression légère (*i.e.* avec le pouce) au bout du doigt ou du talon. Enfoncer la lancette/vaccinostyle d'un coup rapide et ferme. Au niveau du doigt, piquer



	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

perpendiculairement à l’empreinte digitale, légèrement sur le côté, en évitant l’extrémité du doigt ou les côtés extérieurs à l’empreinte digitale parce qu’il y a un risque d’atteindre l’os sous-jacent chez les enfants les plus jeunes.


- Orienter le doigt ou le talon de façon à présenter le point de ponction vers le bas afin que les gouttes de sang tombent directement depuis le point de piqûre, sans qu’elles ne coulent sur la peau. L’écoulement compliquerait la collecte du sang, réduirait la quantité de sang prélevé et faciliterait sa contamination.
- Juste après la piqûre, essuyer la première goutte de sang avec du coton sec
- Procéder au prélèvement.

5.5 Prélèvement pour réalisation d’un TDR

Cf. POS n°10 : DIAG-RAPID et selon recommandation du fabricant

- Recueillir la quantité requise de sang (5 µl) à l'aide de la pipette capillaire (ou du dispositif) fournie par le fabricant du TDR. Déposer le sang dans le puits/endroit approprié.
- Jeter la pipette (ou le dispositif de collecte de sang) dans le container de biosécurité.
- Déposer la quantité de tampon (réactif) prévue par le fabricant dans l’emplacement approprié (selon la notice d’utilisation).
- Attendre le temps indiqué (utiliser un chronomètre) par la notice d’utilisation, puis lire et enregistrer le résultat immédiatement (sans délai supplémentaire qui risquerait de fausser la lecture du résultat).



	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

5.6 Prélèvement pour l'étalement de sang sur lames de verre

Cf. POS n°11 : DIAG-MICROSCOP

- D'une main, prendre par les bords la lame de verre préparée (ne pas toucher la surface de la lame),
- Si prélèvement de sang capillaire, presser avec l'autre main le doigt ou le talon piqué pour faire perler une goutte de sang. Par affleurement, déposer la goutte de sang au milieu de la lame. De la même manière, déposer une nouvelle goutte de sang sur la moitié libre de la lame où le frottis sanguin sera tiré.
- Si prélèvement de sang veineux, mettre une goutte de sang (à la seringue ou à l'aide d'un tips ou d'une micropipette à partir du tube type Vacutainer®) au milieu de la lame. De la même manière, déposer une nouvelle goutte de sang sur la moitié libre de la lame où le frottis sanguin sera tiré.

5.7 Prélèvement pour collecte de sérum

Cf. POS Sérologie : POS n°13 ; IMMUNO-VECTOR-BITES
POS n°14 ; IMMUNO-INFECTION
POS n°15 ; IMMUNO-MULTIPLEX


Si prélèvement de sang capillaire :

- préparer la microcuvette utilisée pour la collecte (e.g. enfoncer la collerette dans le bouchon de la microcuvette si nécessaire).
- Indiquer le N° d'identification (ID) de l'individu sur la microcuvette à l'endroit prévu par le fabricant
- Selon des modalités similaires à la collecte de goutte de sang sur les lames de verre (*i.e.* en faisant perler les gouttes de sang et en les récupérant par affleurement), collecter les gouttes de sang au bord du dispositif de collecte (*e.g.* collerette), et laisser couler le sang dans la microcuvette jusqu'à obtention du volume désiré.
- Retourner doucement la microcuvette ou en tapoter doucement la base, sans la secouer (cela pourrait former une mousse ou provoquer une hémolyse préjudiciables à la poursuite des opérations). Cela permet de s'assurer que le sang a bien été mis en contact du gel séparateur du

10/13



Cette oeuvre, création, site ou texte est sous licence Creative Commons Attribution - Partage dans les Mêmes Conditions 4.0 International. Pour accéder à une copie de cette licence, merci de vous rendre à l'adresse suivante <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/> ou envoyez un courrier à Creative Commons, 444 Castro Street, Suite 900, Mountain View, California, 94041, USA.

	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

sérum. Ne pas collecter plus de sang dans la microcuvette qu'il n'est recommandé par le fabricant.

- Déposer la microcuvette dans la boîte de rangement.

Si prélèvement de sang veineux :


- Déposer à la seringue ou à la micropipette le reste de sang dans un microtube 1,5ml PP, précédemment identifié avec N° d'identification (ID) de l'individu correspondant, et bien refermer la capule.
- Déposer le microtube dans la boîte de rangement.

5.8 Prélèvement pour collecte de sang séché sur papier-buvard

Cf. POS n°12 : DIAG-MOLECULAR et/ou POS n°13 : IMMUNO-VECTOR-BITES

- Eviter de toucher la surface du papier-buvard avec les doigts (interdiction de toucher le papier-buvard au niveau des cercles) ; si nécessaire, le tenir par les bords. Toujours le manipuler avec des gants propres.
- Sur la couverture « cartonnée protectrice » confectionnée pour les morceaux de papier-buvard Whatmann™ 3MM ou servant de support au papier-buvard Whatmann™ FTA® : inscrire les N° du papier buvard, les identifiants des individus (ID), la date et le lieu (village par exemple) des prélèvements. Si les morceaux de papier-buvard Whatmann™ permettent de collecter des échantillons de sang de différentes personnes, inscrire en dessous de chaque cercle de collecte de sang l'ID de l'individu (au crayon à papier ou en collant une étiquette). Il faut prévoir au moins deux dépôts de sang par individu (*i.e.* remplir au moins deux cercles ; par sécurité pour pouvoir reproduire les tests biologiques)
- Si prélèvement de sang capillaire :
 - Avant de piquer le doigt ou le talon, fixer un cône sur la micropipette et vérifier que le volume de prélèvement de cette dernière est celui prévu (*e.g.* de 40-50 µl selon le type de papier-buvard). Cette étape intervient après avoir prélevé le sang en microcuvette et avant que le flux de sang ne se tarisse.
 - Selon des modalités similaires à la collecte de goutte de sang sur les lames de verre (*i.e.* en faisant perler les gouttes de sang et en les récupérant par



	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

affleurement), prélever le sang avec la micropipette, à partir d'une ou plusieurs goutte(s) ayant perlé. La micropipette doit être orientée obliquement, pas à la verticale (la pointe vers le haut). Elle peut être orientée à horizontalement.

- Déposer le sang (40-50 µl) dans les emplacements des papiers-buvards (centre des cercles) correspondant à l'ID de l'individu.
- Si prélèvement de sang veineux :
 - Déposer le sang (40-50 µl à la micropipette à partir d'un tube type Vacutainer® ou 3 gouttes de sang à partir de la seringue) dans les emplacements des papiers-buvards (centre des cercles) correspondant à l'ID de l'individu.
- Laisser sécher le sang à l'air libre, à l'abri des mouches et de la poussière, et à température ambiante (pour cela : ouvrir le recto de la pochette cartonnée « protectrice »). Le temps de séchage dure environ 3-4 heures. Le sang sec a normalement une couleur noire. Le papier-buvard ne doit pas être chauffé pour obtenir son séchage.
- Après séchage, rabattre le volet cartonné par-dessus le papier-buvard et le conserver à température ambiante, au sec, en présence de dessiccateur (papier ou sachet).

5.9 Conservation des échantillons

5.9.1 Conservation des TDR

Les TDR sont normalement jetés conformément aux règles de biosécurité. Néanmoins, ils peuvent être conservés au sec et à température ambiante pour des tests moléculaires ultérieurs (génotypage des marqueurs de résistance).


5.9.2 Conservation des lames

- Le FS est rapidement séché par agitation/ventilation puis fixé avec du méthanol. La GE ne doit pas être fixée au méthanol.
- Les étalements de sang doivent être protégés des mouches et de la poussière dans des boîtes de rangement.

5.9.3 Conservation des papier-buvards

- Sur le terrain et au cours du transport entre le terrain et le laboratoire, les papier-buvards sont conservées à température ambiante dans des sachets fermés avec papier ou sachet dessicant. Avant transfert au laboratoire, ces sachets sont stockés dans un classeur ou pochette plastique sur lequel sont notés la date et la localité (e.g. nom du



	Procédure Opératoire Standard n°9	BLOOD-SAMPLING
Prélèvements sanguins pour analyses biologiques <i>Blood sampling for biological analysis</i>		Version : 5
		Date : 01/11/2017

village) de l'enquête où ont été effectués les prélèvements, et toutes autres informations utiles.

- Dès que possible, au laboratoire, pour une conservation pendant plusieurs mois, les papier-buvards, sont stockés à +4°C.
- Important : les **dépôts de sang** sur papier-buvard
 - destinés aux **tests sérologiques** doivent alors être conservés **SANS dessiccateur**, alors que ceux
 - destinés aux **tests de biologie moléculaire** doivent être conservés **AVEC dessiccateur**.

5.9.4 Conservation des microcuvettes ou microtubes 1,5 ml PP

- Sur le terrain, dans les 12 heures suivant le prélèvement, les immunoglobulines recherchées dans les tests sérologiques sont normalement stables à température ambiante (<22°C) dans l'échantillon de sang. Cependant, les échantillons peuvent se dessécher ou être détériorés par la prolifération de microorganismes. Les microcuvettes et microtubes doivent donc être de préférence conservés en boîtes de rangement stockées en glacière réfrigérée (de +2°C à +8°C) ou avec accumulateurs de froid.

- Dans un délai maximal de 12 heures (*i.e.* le soir même du prélèvement), les microcuvettes et les microtubes 1,5 ml PP doivent être centrifugés selon les recommandations du fabricant pour les microcuvettes, ou à 1500 g (soit 5800, 4800, 4100 ou 3700 tours par minute (TPM) pour un rayon (R) du rotor de la centrifugeuse de 40, 60, 80 ou 100 mm ; force $g = 1,12 \times R \times (TPM/1000)^2$) pendant au moins 15 minutes pour les microtubes 1,5 ml PP.

- A l'arrivée au laboratoire, les sérums sont aliquotés, en microtubes 1,5 ml PP (ou 0,5 ml PP) de la façon suivante :

- 50 µl pour IMMUNO-VECTOR-BITES
- 50 µl pour IMMUNO-INFECT
- 50 µl pour IMMUNO-MULTIPLEX
- Le reste est conservé dans le tube d'origine = réserve sérothèque « Pays »
- Tous les aliquots sont classés dans des boites de rangements spécifiques et référencées et conservés à -20°C

