



Biologie Sans Frontières

Association d'aide à long terme à la biologie médicale des pays en développement

Association Loi 1901 enregistrée à la Préfecture du Rhône
sous le n° W691058983 (JO du 1 .4 .1992).

Association reconnue d'utilité publique
(décret du 18 février 2010)

MISSION	Audit et contrôle de qualité à Dapaong au Togo, janvier 2013	Validé par le CA le 19/03/13
---------	---	---------------------------------

Intervenants :

Yves Boucaud-Maître

- Pharmacien-biologiste
- En activité au laboratoire de l'hôpital Saint-Luc – Saint-Joseph de Lyon
- Première mission BSF

Joseph Cuziat

- Pharmacien-biologiste, retraité depuis juillet 2008
- Exerçait ses activités au laboratoire du Centre Hospitalier de Saint-Nazaire
- Sixième mission africaine BSF

Mots clés :

Hôpital pédiatrique, Dapaong, Togo, audit, contrôle de qualité, Korbongou, 2013

Résumé :

Cette intervention s'est effectuée au laboratoire de l'hôpital pédiatrique de Dapaong, ville située au nord du Togo. Il s'agissait essentiellement d'une mission d'audit.

L'hôpital, géré par une congrégation de religieuses catholiques, les « Sœurs Hospitalières du Sacré-Cœur de Jésus », reçoit quotidiennement de nombreux consultants et dispose d'une capacité d'hospitalisation de 125 lits.

L'activité du laboratoire, intense durant l'année entière, est maximale en saison humide (juin à octobre).

A la demande du personnel technique des actions ont été menées pour mettre en place un contrôle de qualité (intra et inter-laboratoire), mais aussi pour optimiser les procédures existantes et pour en proposer de nouvelles.

Aux questions posées par le personnel soignant au cours d'une réunion nous avons essayé d'apporter des réponses, reproduites dans le présent rapport.

La visite de l'Etablissement voisin de Korbongou a mis en évidence la réelle nécessité d'y faire réaliser au plus tôt quelques analyses biologiques, projet pour lequel l'aide de BSF est sollicitée.

Notre intervention sur site n'ayant pas permis de réaliser la totalité des actions planifiées, il est indispensable de la prolonger en maintenant un contact avec ce laboratoire tellement utile à la population et aux potentialités très grandes. Il faut donc que continuent les échanges de messages électroniques entre la responsable du laboratoire et BSF. L'opportunité d'une nouvelle mission pourra se discuter dans quelques mois.

I. - CADRE D'INTERVENTION

I.1 La république du Togo

Bordé au sud par l'océan Atlantique, à l'ouest par le Ghana, à l'est par le Bénin et au nord par le Burkina-Faso le Togo est l'un des plus petits pays du continent africain ; sa superficie est environ le 1/10 de celle de la France.

Etiré sur une longueur de 650 Km environ du sud au nord il connaît un climat très diversifié ; équatorial dans les régions proches de l'océan il devient sahélien, - avec végétation de type savane - dans le nord du pays.

Lomé, sa capitale, possède une activité portuaire très intense : il y transite une partie importante des marchandises d'importation destinées aux pays voisins enclavés (surtout Burkina-Faso, Niger et Mali).

Les mines de phosphate ainsi que l'agriculture constituent aussi une part importante de son économie.

Le Togo compte actuellement 6.10⁶ habitants et sa démographie – comme celle des autres pays d'Afrique occidentale – est marquée par un accroissement rapide de la population.

Cette population, qui est l'une des plus pauvres du monde, est encore plus pauvre dans le nord – où se situe Dapaong – que dans le reste du pays.

I.2 La ville de Dapaong

Elle se situe dans la région dite des « Savanes ». Ne comptant que 35.000 habitants environ elle figure cependant parmi les 10 principales villes du pays. Une préfecture et un évêché y siègent.

La seule voie d'accès à partir du sud est une route en mauvais état, parcourue par des camions nombreux et lourdement chargés ; le trajet en bus à partir de Lomé – distant de 650 Km – nécessite une douzaine d'heures.

Arrivant d'Europe certains préfèrent transiter par Ouagadougou pour rejoindre Dapaong. Ce choix – qui a été le notre – comporte avantages et inconvénients :

- durée de trajet moins longue parce que distance (350 Km) plus courte et route en bien meilleur état sur une portion de 300 Km,

- en contre partie : nécessité de 2 visa d'entrée (Burkina + Togo) ; par ailleurs le bus en provenance d'Ouagadougou ne franchit pas la frontière ; la fin du trajet – en territoire togolais – relève de l'improvisation. Pour ce qui nous concerne les sœurs religieuses de Dapaong – qui avaient tout organisé à la perfection, depuis notre accueil à l'aéroport jusque l'arrivée à notre lieu d'hébergement – avaient envoyé un véhicule à notre intention à la frontière.

I.3 Différentes structures hospitalières existent à Dapaong

Le Centre Hospitalier Régional (CHR) est un Etablissement public pour adultes. Les relations entre son personnel et celui de l'hôpital « Yendube » sont cordiales, fréquentes et fructueuses. Notre visite à son laboratoire a reçu un accueil très courtois.

Nous n'avons pas eu de contacts avec les cliniques privées, qui, pourtant, semble t'il, disposent d'un laboratoire.

I.4 Les relations entre BSF et l'hôpital « Yendube »

Elles trouvent leur origine dans la rencontre de Sœur Angèle-Marie et d'Odette Terry au cours du congrès organisé par ASSITEB à Lomé au début du mois d'octobre 2011.

Le travail préparatoire à la mission, qui a pu commencer dès le début de l'été 2012, a été grandement facilité d'une part par la présence sur le territoire français d'un partenaire actif (la maison mère de la congrégation à Saint-Amand-les-Eaux 59) et aussi par des échanges nombreux de messages électroniques entre les intervenants désignés par BSF et Sœur Angèle-Marie, responsable du laboratoire.

I.5 La Congrégation des « Sœurs Hospitalières du Sacré-Cœur de Jésus »

Elle dispose d'un site internet fort intéressant : www.hospitalieres.org.

On y découvre la diversité de ses domaines d'activité ainsi que la diversité de ses sites d'action, répartis tant sur le sol français que sur le continent africain.

La communauté de Dapaong, dirigée par Sœur Marie Stella, est constituée de 10 religieuses, sans compter celles (au nombre de 4 religieuses + 7 jeunes en formation) affectées dans l'Etablissement de Korbongou, proche de Dapaong (voir § 12).

Chacune des religieuses exerce une fonction hospitalière, la Direction de l'Etablissement incombant à Sœur Geneviève-Marie.

II. - L'ETABLISSEMENT HOSPITALIER DE PEDIATRIE « YENDUBE »

A l'établissement principal, qui partage ses activités entre consultations et hospitalisations, sont associées d'autres structures :

- un centre de soins pour maladies mentales,
- un orphelinat de filles (65 enfants) et un orphelinat de garçons (27 enfants) + un centre de prise en charge des personnes vivant avec le HIV/SIDA, gérés par l'association « Vivre dans L'espérance » (présidente : la très dynamique et très joviale Sœur Marie-Stella),
- le centre de santé pédiatrique de Korbongou, situé à 15 Km environ de Dapaong.

Pour ce qui est des informations ci-après elles sont déjà connues de BSF puisqu'elles nous ont été communiquées il y a quelques mois sur la « Fiche annexe n°6 »).

- Population desservie par les structures de santé de Dapaong : 600.000 habitants.
- Le plus grand nombre des enfants est pris en charge par l'hôpital pédiatrique « Yendube ».
- Densité médicale faible dans la région : 1 médecin pour 60.000 habitants.
- Personnels de l'hôpital pédiatrique : 2 médecins temps plein, 4 assistants médicaux, 24 personnels infirmiers, 6 techniciens de laboratoire, 2 personnes à la pharmacie.
- Eau courante + électricité : en permanence.
- Accès à internet sur place (accès rapide).
- Pour ses activités d'hospitalisation (600 à 650 hospitalisations/mois) l'hôpital dispose de 125 lits (médecine, réanimation, couveuses).

- Pas d'activité chirurgicale.
- Grande activité de consultations quelle que soit la saison ; mais bien plus grande en saison humide (juin à mi-octobre) qu'en saison sèche (novembre à juin).
- Moyenne de 3.000 consultations/mois.
- Les pathologies les plus fréquentes (anémies, infections, fièvres ...) sont souvent les conséquences du paludisme, du VIH, des malnutritions.

A noter que la prévalence du VIH dans la population se situe entre 6 et 7%.

- L'ensemble des cas de dénutrition et malnutrition (avec marasme et kwashiorkor fréquents) est voisin de 3000/an.
- Activité transfusionnelle importante : voir plus loin §.3.2.2.2.

III. - LE LABORATOIRE : SES MOYENS, SES LOCAUX, SON ORGANISATION

III.1 Le personnel

La responsable du service est Sœur Angèle-Marie, technicienne diplômée.

Cinq autres techniciens diplômés : Richard, Jacques, Lucien, Issa et Daniel.

III.2 Les locaux

- Ils se situent en 2 endroits, distants l'un de l'autre d'une trentaine de mètres.
- Chacun de ces 2 sites dispose en permanence de l'eau courante et de l'électricité.
- Paillasse : surfaces convenables, état de propreté satisfaisant.
- Surfaces de rangements : correctes. Les accroître si possible.

L'organisation du travail et la répartition des tâches sont conçues en tenant compte de l'existence de 2 sites distincts.

Un point important : la séparation des locaux ne contribue pas à l'optimisation des tâches.

III.2.1 SITE DES PRÉLÈVEMENTS DE SANG CAPILLAIRES

- Disposant d'une salle d'attente spacieuse l'endroit est adapté à l'accueil des consultants, nombreux même en saison sèche (jusque 50 à 60/jour), très nombreux en saison des pluies (jusque 150/jour voire 200).
- Les patients, dans leur très grande majorité, sont des enfants de très bas âge accompagnés de leur mère et souvent des 2 parents.
- Les prescriptions habituelles : recherche du paludisme + dosage de l'hémoglobine ; assez souvent groupe sanguin ABO-D (sur plaque à godets), quelquefois sérologie HIV (test unitaire immuno-enzymatique sur sang total).
- L'ensemble de ces paramètres est effectué sur sang capillaire : 1 technicien prélève, 1 second technicien enregistre.
- Ce mode d'organisation nous est apparu particulièrement efficace et adapté au flux important des patients.

III.2.2 LE SITE OÙ S'EFFECTUENT LES ANALYSES SUR SANG VEINEUX

De part et d'autre d'un hall d'accueil se situent deux pièces :

- l'une sert aux analyses biologiques (sang veineux et urines),
- dans l'autre pièce sont prélevés – par le personnel du laboratoire – les poches de sang pour transfusion .

III.2.2.1 Le laboratoire proprement dit :

L'équipement principal est constitué de :

- 2 spectrophotomètres : un « KENZA Max Biolabo » récemment offert par une association du nord de la France + un appareil « Secomam », également fonctionnel quoique plus ancien,
- un automate à hémogramme de marque « Sysmex », modèle « KX 21-N » avec approche de la formule leucocytaire,
- un appareil à numération des lymphocytes CD4, marque « PARTEC », modèle « CY-Flow »,
- une cuve + intégrateur d'électrophorèses (marque « Gernon »), qui sert exclusivement pour les électrophorèses d'hémoglobine,
- des pipettes automatiques (Gilson, Finnpiquette, Biohit),
- un micro-ordinateur : logiciels Word et Excel + accès (rapide) à internet.

L'activité menée dans cette pièce est maximale 2 fois/semaine, les jours de consultations périodique des patients HIV (environ 50 patients durant chacun de ces 2 jours).

Les prélèvements en tubes (1 tube sec + 1 tube EDTA) sont généralement effectués dans les services par le personnel infirmier; quelques uns sont effectués au laboratoire.

Le bilan systématique de suivi biologique des patients recevant un traitement antirétroviral comprend NFS, CD4, transaminases, urée, créatinine, glycémie.

Les bilans lipidiques concernent plutôt les autres consultants externes.

III.2.2.2 La pièce de prélèvement des poches de sang pour transfusion

Pièce exclusivement réservée aux prélèvements des donneurs.

- Ces donneurs appartiennent souvent à la famille des enfants à transfuser.
- Grâce à quelques donneurs spontanés il est possible de disposer d'une banque de sang, qui permet d'approvisionner aussi les autres établissements d'hospitalisation de Dapaong.
- A défaut de centrifugeuse pour poches de sang l'extraction du plasma n'est pas réalisable et c'est donc le sang total qui est transfusé.
- Durant l'année 2012 écoulée 3.000 poches ont été prélevées. Cependant 10 à 15% d'entre elles doivent être détruites pour cause de positivité HIV ou HCV.

La réalisation du test Ag HBs avant prélèvement a permis de diminuer ces pertes.

- Dans l'attente de leur distribution les poches sont maintenues au froid dans un réfrigérateur du laboratoire, affecté à cet usage exclusif.

Remarque : durant le prélèvement des donneurs les poches sont posées sur un petit appareil qui devrait faire fonction à la fois d'agitateur et de limiteur. En fait seule l'agitation fonctionne. Nous demandons donc à BSF s'il serait possible de trouver et de céder 2 appareils agitateurs + limiteurs.

IV. - QUELQUES COMMENTAIRES ET RECOMMANDATIONS CONCERNANT LE LABORATOIRE

Remarque préalable : la durée de notre intervention ayant été écourtée du fait des conditions météorologiques en France au moment du départ mais aussi par la nécessité de quitter Dapaong 1 jour plus tôt que prévu, le temps nous a manqué pour accomplir la totalité du travail que nous avons programmé.

IV.1 Concernant le site des analyses sur sang capillaire

IV.1.1 GOUTTE ÉPAISSE (GE) : PAS DE REMARQUES PARTICULIÈRES.

IV.1.2 LE DOSAGE DE L'HÉMOGLOBINE (HB) SE FAIT À L'AIDE D'UN HÉMOGLOBINOMÈTRE (MARQUE « HEMOCUE »)

Nous avons effectué un contrôle de l'appareil en nous servant d'un échantillon de sang veineux prélevé en tube EDTA : le résultat de l'hémoglobinomètre (11,2 g/dl) concordait avec celui de l'automate à hémogrammes (11,4 g/dl).

Ce type de contrôle devrait s'effectuer systématiquement avec une périodicité régulière (par exemple le 1^e et le 3^e lundi de chaque mois). Les résultats devront être consignés sur un registre (papier et/ou informatique).

Un rappel important : la piqûre doit être très franche de façon à permettre au sang de couler rapidement et abondamment sans avoir à exercer une pression importante sur l'endroit de la ponction (risque de diluer le sang et donc risque de sous-évaluer la concentration en Hb).

IV.1.3 LA DÉTERMINATION DU GROUPE SANGUIN ABO-D

Rappels d'ordre technique :

- bien veiller qu'il n'y ait ni trop ni trop peu d'hématies, ce qui n'est pas facile à obtenir lorsque l'on utilise du sang capillaire.
- bien mélanger la goutte de réactif antisérum avec le sang du patient : bien homogénéiser à l'aide d'un bâtonnet (en bois ou, mieux, en verre ou en plastique rigide),
- une seule goutte de chacun des réactifs antisérums suffit ; il ne sert à rien d'ajouter systématiquement une deuxième goutte de ces produits onéreux.

Rappels d'ordre réglementaire :

- la détermination doit être faite par 2 personnes différentes utilisant des réactifs d'origines différentes ; le résultat ne peut être rendu qu'après comparaison du résultat des 2 manipulateurs,
- en cas de nécessité de transfuser : un second prélèvement doit être effectué sur lequel on doit également pratiquer 2 déterminations (2 manipulateurs + réactifs de 2 origines différentes) ,
- pour chaque prélèvement bien veiller à l'exactitude de l'identité du patient.

IV.1.4 LA SÉROLOGIE HIV

Un rappel : il n'appartient pas au technicien de laboratoire de rendre le résultat au patient (ou à ses parents) ; quelque soit le résultat (négatif ou positif) c'est le médecin prescripteur (ou l'assistant médical ?), seul, qui doit s'en charger.

En cas de positivité du test de première intention (« HIV Determine » Abbott) un test de confirmation (Tri-Dot Vih1 et VIH2 ou « First Response HIV 1-2 » ou « ImmunoComb HIV 1 et 2 » Origenics- est systématiquement effectué.

Il serait très utile d'écrire une procédure décrivant les prélèvements, les réactifs à utiliser, le rendu du résultat au patient.

Le texte devrait être validée par la responsable du laboratoire mais aussi par le médecin pédiatre et par la directrice de l'Etablissement.

En collaboration avec « Yendube » BSF pourrait participer à la rédaction de cette procédure.

IV.1.5 LA RÉALISATION ET LA COLORATION DES FROTTIS SANGUINS

Les lames sont très insuffisamment dégraissées : les immerger dans l'éthanol 95° durant 2 à 4 jours.

La micro-goutte de sang ne doit pas être étalée sur toute la longueur de la lame mais seulement jusque la moitié (les $\frac{3}{4}$ au maximum).

Les colorants (May-Grünwald et Giemsa) doivent en permanence être conservés en flacons bien bouchés, de préférence à l'abri d'une lumière intense.

Si on constate une diminution de la qualité des colorations : envisager de renouveler les colorants.

Pour la fixation des frottis utiliser la solution de May-Grünwald de préférence au méthanol seul.

Qualité de l'eau pour enlever la solution de May-Grünwald et pour diluer le Giemsa : il nous est apparu que l'eau du robinet ainsi que l'eau distillée donnent un résultat satisfaisant, avec une légère supériorité de l'eau distillée (celle distillée au laboratoire).

Utiliser des comprimés de tampon phosphate ne nous est pas apparu utile.

IV.1.6 LES TROIS MICROSCOPES SONT DE QUALITÉ ASSEZ MOYENNE

Aucun n'est de qualité parfaite : tantôt c'est le diaphragme qui ne fonctionne pas, tantôt c'est le condenseur qu'on ne réussit ni à monter ni à descendre, tantôt c'est encore autre chose ...

Au constat de l'état dans lequel se trouvent quelques instruments dans plusieurs laboratoires Il apparait de la plus grande utilité que BSF puisse envoyer sur sites un spécialiste en maintenance de matériel et, plus particulièrement, en maintenance de microscopes.

On pourrait envisager que durant sa mission – accompagné ou non d'un intervenant en Biologie – il rende visite à différents laboratoires situés dans un même pays ou dans des pays limitrophes. Idéalement son action porterait aussi sur la maintenance, le contrôle et le réglage des pipettes automatiques.

IV.2 Concernant le site où s'effectuent les analyses du sang veineux

IV.2.1 LE CONTRÔLE DE QUALITÉ QUOTIDIEN EN BIOCHIMIE

a. Deux exemples de tableau Excel ont été remis au laboratoire. Ils permettront de calculer automatiquement –pour chaque paramètre – les moyennes, écart-types et coefficient de variation des différents résultats obtenus quotidiennement, valeurs à reporter sur un diagramme de Levey-Jennings. Voir annexe n° 2.

b. Pour constituer le sérum de contrôle diverses solutions ont été proposées :

b.1. Préparer par soi-même un volume suffisant de sérum humain :

- prélever à 3 sujets sains environ 60 à 70 ml de sang dans un récipient en verre sans anticoagulant,
- laisser coaguler durant 1 à 2 heures à température ambiante,
- couvrir le récipient et le garder pendant 1 nuit dans un réfrigérateur,

- soutirer par aspiration à la pipette la plus grande quantité possible de sérum en évitant de ramener des hématies,
- centrifuger pour éliminer les éventuelles hématies,
- réunir les 3 ou 4 sérums dans un même récipient,
- homogénéiser,
- répartir 0,5 à 1 ml de ce pool de sérums dans des tubes à hémolyse bouchés et convenablement étiquetés,
- congeler à la température de -18°C (ou plus bas si possible).

b.2. A défaut de pouvoir trouver suffisamment de sang de sujets humains sains on pourra tenter l'opération à l'aide de sang d'animal (porc, mouton, chèvre, bœuf ...) recueilli à l'abattoir.

b.3. Autre solution possible : utiliser du plasma commercial selon la procédure appliquée par le laboratoire du Centre Hospitalier Régional de Dapaong.

Voir avec Mr Joseph Labité, ingénieur en Biologie en cet Etablissement, qui a proposé sa collaboration.

IV.2.2 LE CONTRÔLE DE QUALITÉ INTER-LABORATOIRE PEUT ÊTRE MIS EN PLACE DE FAÇON EFFECTIVE DÈS À PRÉSENT.

- Opération totalement gratuite proposée par la société « Biolabo » et organisée par l'association française « Asqualab ».
- Les plasma sont mensuellement envoyés par l'établissement « Equimex » de Lomé.
- Les résultats seront saisis par Sœur Angèle-Marie sur internet à l'aide d'un code d'accès qui a du lui être fourni par Mr Salami-Ousséni Gérard (Etablissement Equimex).

IV.2.3 RÉALISATION DES FROTTIS SANGUINS À PROXIMITÉ DE L'AUTOMATE À HÉMOGRAMMES

Dans la pièce où se situe l'automate à hémogrammes il n'y a ni poste de coloration, ni colorants, ni lames, ni microscope.

Pour réaliser un frottis, le colorer et l'examiner au microscope il faut se transférer sur l'autre site, à une trentaine de mètres, ce qui – on doit bien le reconnaître – n'incite pas à contrôler plus systématiquement la formule leucocytaire sur lame. Et c'est bougrement regrettable !

IV.2.4 MAINTENANCE DES PIPETTES AUTOMATIQUES

Il est indispensable d'assurer une maintenance périodique – périodicité semestrielle – des pipettes automatiques dans le triple but de :

- les nettoyer et désinfecter,
- assurer l'étanchéité au niveau des joints toriques,
- contrôler les volumes distribués.

A l'aide des accessoires que nous avons remis au laboratoire nous avons fait une démonstration de démontage des pipettes, de nettoyage et de lubrification.

Pour ce qui concerne le contrôle des volumes il n'est pas possible de le réaliser, la sensibilité de la balance étant insuffisante pour cet usage. Une balance d'une sensibilité minimum de 1 mg est indispensable.

Nous n'avons pas pensé à nous renseigner si un autre laboratoire de Dapaong possède ce type de balance, dans lequel cas il conviendrait d'aller y faire ces contrôles.

Rappelons cependant que le contrôle des pipettes de volume inférieur à 100 μl relève de la compétence d'un spécialiste convenablement équipé.

IV.2.5 SURVEILLANCE DE LA TEMPÉRATURE DES RÉFRIGÉRATEURS

- A cette fin un thermomètre doit se trouver en permanence dans chaque réfrigérateur.
- Une feuille de relevé des températures (voir modèle en annexe n° 3) devra être fixée sur la porte de chaque réfrigérateur.

On pourra convenir que, chaque matin, c'est à la première personne qui pénétrera dans le laboratoire qu'incombera la charge de relever les températures et de les transcrire sur la feuille.

- La température ne devra ni être inférieure à +2°C ni excéder +6°C.

V. - 1IER JOUR, NOUS NOUS SOMMES REUNIS AVEC LE PERSONNEL DU LABORATOIRE

V.1 L'objectif était de recueillir les principaux desiderata des techniciens

Les remarques et les souhaits exprimés concernaient :

- la mise en place d'un contrôle de qualité (CQ) des analyses,
- les électrophorèses de l'hémoglobine,
- le dépistage des déficits en G6-PD,
- la numération des réticulocytes,
- la coloration de Gram et celle de Ziehl,
- l'interprétation des résultats d'héogrammes,
- le dépistage des thalassémies,
- les fausses thrombopénies,
- les tests ELISA en micro-plaques de 96 puits,
- les feuilles pour rendre les résultats.

V.2 Les réponses et suites qui ont été données à ces remarques

V.2.1 CONTRÔLE DE QUALITÉ DES ANALYSES

La réponse à la question figure aux §. 4.2.1 et 4.2.2.

Elle concerne à la fois le CQ interne – qui est un contrôle de la reproductibilité journalière – et le CQ mensuel inter-laboratoire – qui est un CQ d'exactitude –.

V.2.2 LES ÉLECTROPHORÈSES D'HÉMOGLOBINE

La cuve de migration et l'intégrateur sont de marque « Gernon ».

La migration se fait sur support acétate de cellulose à pH alcalin.

Deux questions nous ont été soumises :

- l'approvisionnement en bandes d'acétate de cellulose,

- la distinction entre Hb C et Hb A2, dont les vitesses de migration sont identiques.

a. L'approvisionnement en bandes d'acétate de cellulose semble poser problème.

Produit Cellogel (firme italienne) réf. 01A43-25 distribué au Togo par EDIMAMEL.

Nous demandons à Sœur Angèle de nous tenir informés en cas de persistance du problème.

b. Hb A2 ou Hb C ? Si la fraction située à ce niveau représente un pourcentage élevé (> 20%) il est très improbable qu'il s'agisse d'HbA2. Il s'agit d'Hb C (hétérozygote A/C ou S/C ou bien homozygote C/C). Tenir compte du contexte clinique et des autres données biologiques.

L'électrophorèse à pH acide ne nous paraît pas constituer une priorité.

V.2.3 LE DÉPISTAGE DES DÉFICITS EN G6-PD

La mise en place de la méthode décrite par « Bioltrop » ainsi que par un groupe scientifique de l'OMS figurant dans nos objectifs nous avons apporté dans nos bagages les produits nécessaires : NO₂Na et bleu de méthylène

Faute de disposer d'un témoin + nous n'avons pas pu faire nos essais ; faute aussi et surtout de pouvoir prélever le sang en tube hépariné.

Nous ne savons pas si du sang prélevé sur EDTA peut convenir ; aussi nous projetions, après avoir retiré le plasma EDTA, de laver les hématies avec du sérum phy. puis d'en faire une suspension avec laquelle nous aurions pratiqué le test.

Le temps nous a manqué pour réaliser cet essai.

Le mode opératoire figure dans l'annexe n° 4. Nul doute que les techniciens, par eux-mêmes, pourront le mettre en œuvre très facilement et dans de brefs délais. Nous souhaitons que Sœur Angèle nous tienne informés.

V.2.4 LA NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES

La solution de bleu de crésyl brillant a été préparée à l'aide de la poudre apportée dans nos bagages. L'économie ainsi réalisée est conséquente compte tenu du prix particulièrement élevé pratiqué par la société EQUIMEX.

Le caractère un peu déconcertant du comptage des réticulocytes (évaluation du nombre de réticulocytes pour 500 hématies) ne devra pas décourager les techniciens.

Voir le mode opératoire en annexe n° 5.

V.2.5 LA COLORATION DE GRAM

Malgré les prix étonnamment élevés pratiqués par EQUIMEX de Lomé nous avons commandé un coffret de colorants pour Gram avant notre arrivée.

A notre immense déception nous n'avons pas pu faire aux techniciens une démonstration bien satisfaisante de la technique : les produits pathologiques qui nous avaient été remis par le laboratoire de Bactériologie du CHR ne s'y prêtaient pas du tout.

Nous recommandons donc aux techniciens de se rendre au plus tôt au labo du CHR afin de se familiariser avec la confection des frottis, avec leur coloration puis avec l'examen microscopique.

V.2.6 COLORATION DE ZIEHL

Le CHR nous a clairement signifié que – pour des raisons de sécurité !!! - il était déconseillé de pratiquer des examens directs à la recherche de BAAR.

Quel usage peut-on donc faire des colorants qui ont été commandés (et payés cher !)?

- Pour ce qui est de la fuchsine phéniquée de Ziehl on peut la garder : diluée au 1/10 environ dans l'eau elle peut servir à la coloration de Gram en lieu et place de la safranine. Se souvenir que la dilution au 1/10 ne se conserve guère au-delà de 4 ou 5 jours en flacon convenablement bouché et à l'abri d'une lumière intense.

- Quant à la solution de bleu de méthylène phéniqué on peut tenter de négocier une reprise par le laboratoire local habilité pour la recherche de BAAR en échange d'un autre produit de valeur sensiblement égale.

V.2.7 L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DE L'HÉMOGRAMME A FAIT L'OBJET D'UN EXPOSÉ PAR YVES BOUCAUD-MAÎTRE.

V.2.8 LE DÉPISTAGE DES THALASSÉMIES

- Sœur Angèle regrette l'insuffisance de l'électrophorèse sur support solide (acétate de cellulose, gel ...) pour quantifier l'HbA2 et, par là même, pour contribuer au diagnostic des thalassémies.

- Réponse apportée :

a. Sœur Angèle a tout à fait raison.

L'électrophorèse sur bande ne permet pas d'évaluer l'HbA2 avec une précision et une reproductibilité suffisantes. La solution à ce problème appartient à la chromatographie liquide haute pression (HPLC) et, peut-être aussi, à l'électrophorèse en veine liquide capillaire

L'HPLC, - méthode communément utilisée pour doser les Hb glycosylées – est également, à plusieurs égards, très intéressante pour dépister et doser les Hb anormales (Hb S, HbC, autres) ainsi que pour évaluer les fractions A2 et F.

C'est pour quoi appel a été fait à une société commerciale (BioRad) afin d'obtenir sa participation à la mise en place d'un programme de dépistage à large échelle des hémoglobinopathies en Afrique francophone. Démarche restée sans suite. C'est bien dommage.

b. Le diagnostic des thalassémies ne repose pas exclusivement sur le dosage de l'HbA2, d'autant qu'une concentration normale de l'Hb A2 ne constitue pas un critère d'exclusion. On sait bien que :

- dans les α -thalassémies il n'y a pas d'élévation de l'Hb A2,

- même dans les β - thalassémies l'Hb A2 peut n'être pas augmentée s'il existe une carence en fer associée.

En dehors de l'analyse génique – que nous excluons dans l'immédiat – les principaux éléments à prendre en considération pour retenir ou réfuter le diagnostic d'une thalassémie font l'objet de l'annexe n° 6.

V.2.9 LES CAUSES D'ERREUR DANS LA NUMÉRATION DES PLAQUETTES. LES FAUSSES THROMBOPÉNIES

La numération des plaquettes effectuée à l'aide d'un appareil automatisé sur sang prélevé en tube comporte des pièges, lourds de conséquences pour le patient.

La conduite que le laboratoire doit tenir impérativement en cas de suspicion de fausse thrombopénie est décrite dans l'annexe n° 7.

V.2.10 LES TESTS ELISA SUR MICRO-PLAQUES 96 PUIITS

Cette méthodologie est incontestablement plus adaptée que les tests unitaires pour analyser des séries comportant plusieurs échantillons.

A cette fin le personnel du laboratoire aimerait disposer d'un laveur + un lecteur de plaques.

Mais ce souhait est-il justifié ? Pour y répondre il faut préciser les éléments suivants :

- nature des paramètres concernés (probablement sérologies HIV, HBC, Ag HBs ...)
- fréquence des séries
- nombre moyen d'échantillons dans chaque série
- réactifs prévus : conditionnement, durée de stabilité après ouverture des coffrets, prix de l'unité de conditionnement ...

A la lumière de ces précisions – que nous demandons à Sœur Angèle de fournir – nous pourrions apporter un avis sur le sujet.

Dans cette attente nous interrogeons BSF sur la présence d'un laveur et d'un lecteur de micro-plaques dans ses réserves.

VI. - NOUS NOUS SOMMES AUSSI REUNIS AVEC AVEC LE PERSONNEL SOIGNANT

Cette rencontre a été voulue et organisée par le docteur Géraldo AKIBOU, pédiatre.

Diverses questions nous ont été posées.

VI.1 La protéinurie des 24 heures

L'un des critères utilisés pour définir le syndrome néphrotique est une élimination urinaire de protéines supérieure à 50 mg/Kg/jour.

L'évaluation de ce paramètre en milieu pédiatrique dans un contexte de climat tropical se heurte à la double difficulté du recueil de la totalité des urines émises durant 24 heures et de la conservation de ces urines quand on ne dispose pas d'un réfrigérateur.

La discussion a porté surtout sur ce deuxième point.

De retour en France une enquête menée à ce sujet au près des membres de BSF – précisant que la méthode de dosage utilisée est celle du rouge de pyrogallol + molybdate – a suscité plusieurs réponses, dont la synthèse nous conduit à proposer de recueillir les urines dans un récipient contenant environ 500 mg de thymol cristallisé (pour une diurèse journalière de 1 litre environ).

VI.2 La numération des réticulocytes, souhait déjà exprimé par Sœur Angèle- Marie, a déjà été traitée au §. 5.2.4.

VI.3 Recherche des agglutinines irrégulières (RAI)

Cette demande s'inscrit dans un cadre obstétrical plutôt que transfusionnel

Un double problème se pose :

- le choix de la méthode utilisée + la formation des techniciens du laboratoire,
- le choix des hématies pour réaliser le test.

VI.3.1 LA MÉTHODE UTILISÉE

- Raisonnablement il faudrait opter pour la méthode classique en tubes avec antiglobuline polyvalente : méthode simple, ne nécessitant pas d'appareillage spécifique, peu onéreuse mais nécessitant une formation initiale des techniciens.
- La méthode par centrifugation en gel chargé d'antiglobuline (par exemple réactifs DiaMed ou Ortho ou autre) – méthode simple, sensible et fiable – présente l'inconvénient de nécessiter des réactifs plus onéreux ainsi qu'un appareil (centrifugeuse) spécifique pour cet usage.

VI.3.2 LES HÉMATIES TESTS

Trois solutions peuvent être proposées :

- a. un panel commercial d'hématies, phénotypées dans les principaux systèmes de groupes érythrocytaires :
 - un avantage : permet, en théorie, de détecter toutes les AI quelle que soit leur spécificité,
 - deux inconvénients : prix élevé, courte durée de validité (2 à 3 semaines).
- b. utiliser les hématies du père de l'enfant à naître :
 - un avantage : coût financier nul,
 - un inconvénient : possibilité d'incertitude sur l'identité du géniteur,
 - une condition : père de groupe O ou d'un groupe ABO compatible avec celui de la mère.
- c. utiliser les hématies d'un sujet Rhésus + (D+)
 - en ce cas on accepte de cibler la recherche en direction d'un Ac anti D. C'est dire que la présence d'un Ac d'une autre spécificité peut passer inaperçue,
 - un rappel : les hématies doivent être de groupe O.

Remarque : si, après la naissance il existe chez l'enfant des signes pouvant faire craindre une hémolyse par incompatibilité foeto-maternelle, il est nécessaire de pratiquer un test de Coombs direct sur les hématies de l'enfant même si la RAI dans le sang maternel durant la grossesse était négative

Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'un conflit par incompatibilité ABO entre mère et enfant : anti A immun chez la mère O ou B + enfant groupe A ; même schéma pour anti B immun).

VI.4 Alpha- foeto protéine

Question posée : existe t'il des tests unitaires pour doser l' α - foeto protéine ?

Réponse : nous ne le savons pas. Veuillez préciser l'usage que vous prévoyez d'en faire et nous pourrions envisager de nous renseigner.

VI.5 Dosage du Na⁺ et du K⁺ dans le sang

Deux catégories de méthodes existent : la photométrie de flamme et les électrodes spécifiques, toutes deux présentent des avantages et des inconvénients l'une par rapport à l'autre.

VI.5.1 PHOTOMÉTRIE DE FLAMME

- Avantages : réactifs peu onéreux, coût peu dépendant du nombre quotidien d'analyses.
- Inconvénients : nécessité de gaz butane (produit inflammable) ; difficulté probable à trouver un appareil simple, peu onéreux et disposant d'un SAV en Afrique.

Concernant un appareil de l'excellente marque « Biocode Hycel », dont nous ne pouvons pas assurer qu'il soit encore commercialisé : se renseigner au près de la clinique Pasteur à Bamako (coordonnées à demander au Pr Boubacar Togo à Bamako : togoboubacar2000@yahoo.fr).

VI.5.2 APPAREILS À ÉLECTRODES SPÉCIFIQUES

- Avantages : ne nécessite pas de gaz butane.
- Inconvénients : coût unitaire de l'analyse d'autant plus élevé que le nombre quotidien d'analyses est faible (consommation de solution de lavage est la même quelle que soit ce nombre, nécessité de remplacer périodiquement les électrodes même si elles ont peu servi).

On peut voir ce type d'appareil à Cotonou, clinique pédiatrique Saint- Vincent- de- Paul, docteur Roland Agossou, dont les coordonnées sont les suivantes :

tél. (00.229) 95.96.18.15 et 21.38.03.73 mail : agosperol2006@yahoo.fr

Ces informations ont déjà été communiquées au Dr Géraldo par mail

VI.6 Glycémie sur sang capillaire

Une condition « sine qua non » pour l'utilisation des glucomètres dans les services d'hospitalisation : obligation d'un contrôle périodique (trimestriel ?) par comparaison du résultat d'un patient en sang capillaire (glucomètre) avec le résultat de la glycémie du même patient – au même moment – sur sang veineux (effectuée au laboratoire). Se fixer un écart maximum à ne pas dépasser (entre 10 et 20%).

Se rappeler que les consommables (bandelettes) ne sont généralement compatibles qu'avec un modèle bien précis d'appareil.

BSF accepterait peut-être de fournir l'appareil mais à la condition que l'hôpital « Yendube » se soit préalablement assuré de pouvoir trouver à acheter localement les bandelettes qui correspondent bien à ce modèle de glucomètre.

VI.7 Feuille de rendu des résultats

Nous proposons en annexe n° 8 un modèle. A charge pour Sœur Angèle- Marie et le Dr Géraldo d'y apporter toutes modifications souhaitées ou de nous demander de le faire.

Ces feuilles permettraient, en principe, la saisie informatique des résultats et donc leur archivage sur le PC du laboratoire.

VI.8 Coloration de Gram et coloration de Ziehl

Voir commentaire des § 5.2.5 et 5.2.6)

VI.9 Prescriptions d'hémogrammes

Nous exprimons un certain regret que bien souvent la numération des leucocytes sanguins soit prescrite isolément. De ce fait l'analyse est effectuée manuellement (hématimètre de Malassez) alors même que le laboratoire dispose d'un automate performant, qu'on aurait tout avantage – en terme de coût financier et en terme de fiabilité des résultats – à faire fonctionner bien plus souvent.

Nous suggérons de prescrire plus systématiquement « NFS » plutôt que numération des globules blancs, à charge pour la Direction de « Yendube » de revoir éventuellement à la baisse le prix actuel de facturation de « NFS ».

VI.10 Quelques petits matériels et produits ont été cédés par BSF

- Une partie a été envoyée en juillet 2012, quelques mois avant notre intervention sur site.
- Nous-mêmes en avons pris quelques uns dans nos valises :
 - 1 balance neuve ADAM type CQT 202, sensibilité 1 cg,
 - quelques pipettes automatiques et accessoires pour démontage, entretien et réglage,
 - petits matériels divers : thermomètres, minuteur, classeur de documents, markers ...
 - quelques produits chimiques : nitrite de Na, bleu de méthylène, bleu de crésyl brillant .

VI.11 Le site de Korbongou

A Korbongou, - village situé à une quinzaine de Km de Dapaong – se trouve un autre Etablissement de santé géré par une autre communauté de religieuses appartenant à la même congrégation que celle de « Yendube »

Les activités qui y sont menées nous ont été décrites par Sœur Delphine-Marie avec enthousiasme, clarté et conviction :

- hospitalisation d'enfants (35 lits),
- consultations enfants et mères,
- campagnes de vaccination,
- éducation des femmes dans les domaines de la propreté, hygiène, santé, alimentation ... à la fois dans l'enceinte de l'établissement et en déplacement dans les villages environnants.

Les pathologies les plus fréquemment rencontrées sont des états fébriles d'étiologies et de nature très diverses, des anémies sévères – elles aussi d'origines variées – et des dénutritions profondes.

Exemplairement organisé et entretenu l'Etablissement regrette cependant de ne pouvoir réaliser aucun examen biologique et sollicite ardemment l'appui de BSF pour la mise en place progressive d'un laboratoire.

Ce souhait nous a paru pleinement justifié.

Il s'agirait, prioritairement, de permettre la réalisation des examens suivants : dosage d'hémoglobine, goutte épaisse, dosage du glucose, examen parasitologique des selles.

On pourrait peut-être aussi ajouter le dosage des protéines totales du sérum.

Un local existe, destiné à cet usage : les 2 pièces concernées sont suffisamment spacieuses, correctement éclairées, disposant de paillasse carrelées et suffisamment grandes, alimentées en eau courante et électricité en permanence.

L'installation d'étagères de rangement devrait pouvoir se faire facilement.

Par ailleurs un infirmier de l'Etablissement a déjà reçu une formation de laboratoire, formation qui lui serait facile d'entretenir par des stages périodiques à « Yendube ».

Nous considérons que les conditions sont réunies pour permettre un démarrage rapide avec l'aide du laboratoire de « Yendube » sans attendre une nouvelle intervention de BSF.

Il faudrait pour cela :

1. pouvoir se procurer un hémoglobinomètre. Opter pour le modèle identique à celui de « Yendube »,
2. pouvoir se procurer un glucomètre : voir commentaire au § 6.6,
3. un poste de coloration des GE, identique à celui de « Yendube »,
4. l'un des 3 microscopes de « Yendube » devrait être cédé à Korbongou dans l'attente que BSF en fournisse un autre.

Par ailleurs, si BSF – comme nous le suggérons – accepte de fournir une centrifugeuse à « Yendube » l'une des 2 centrifugeuses actuellement en place pourrait être cédé à Korbongou.

Nous demandons aussi à BSF de bien vouloir fournir un réfractomètre afin de doser les protéines totales du sérum.

Bien sûr BSF reste disponible pour accompagner – par courrier électronique – cette opération.

VII. - DES CONTACTS AVEC DIFFERENTES PERSONNES ONT EU LIEU

VII.1 Durant la phase préparatoire de la mission : contacts directs ou par messages électroniques. Voir tableau annexe n° 9

VII.2 Durant notre séjour à Dapaong entretien téléphonique avec 2 personnes :

VII.2.1 PIERRE CROZIER

Pierre Crozier, originaire de la région lyonnaise, connaît bien plusieurs pays de l'Afrique de l'ouest où il a vécu et travaillé durant plusieurs années en tant que pharmacien dans divers ministères gouvernementaux.

Il se trouve actuellement à la Direction Pharmacie Laboratoires et Equipements Techniques (DPLET) du Ministère de la Santé à Lomé. Coordonnées en annexe n° 9.

Il nous a exprimé son regret que nous n'ayons pas transité par Lomé et d'avoir laissé son chef de service dans l'ignorance de notre intervention sur le sol togolais. Nous en prenons acte.

Répondant à notre étonnement devant les prix particulièrement élevés pratiqués au Togo pour les réactifs de laboratoire il nous informe que les prix de cette catégorie de produits ne font l'objet d'aucun contrôle.

Il nous apprend aussi que l'intégration du Togo dans l'opération RESAOLAB (Fondation Mérieux) est en cours d'étude.

A retenir de cet entretien :

- si prochaines missions de BSF au Togo : se présenter au Ministère de la Santé,
- mettre les différents distributeurs de réactifs en concurrence : demander des propositions de prix,
- ne pas hésiter à joindre Pierre Crozier pour demande d'informations concernant réactifs, consommables et équipements de laboratoire ainsi que médicaments,
- RESAOLAB : affaire à suivre. Sœur Angèle-Marie, suivez cela avec attention ou rappelez-le nous de temps en temps).

VII.2.2 FÉLIX NADIEDJOA

Monsieur Félix NADIEDJOA président de l'association « Yendube » , informé de notre présence, nous a appelés par téléphone à partir de Lomé – où il réside – afin de remercier BSF pour son intervention à l'hôpital pédiatrique de Dapaong.

VIII. - RECAPITULATIF DES ACTIONS QUI RESTENT A MENER

VIII.1 Par BSF

Fournir matériel suivant :

- 2 agitateurs- limiteurs pour collecte de poches de sang : §.3.2.2,
- 1 centri de paillasse + 1 microscope + 1 réfractomètre pour le CS de Korbongou : § 12,
- 2 glucomètres : § 7.5 et § 12 . Communiquer à « Yendube » la liste détaillée et précise des marques et modèles disponibles.

VIII.2 Par « Yendube »

- contrôle périodique de l'hémoglobinomètre : §.4.1.2,
- détermination des groupes sanguins : §.4.1.3,
- procédure écrite pour sérologies HIV : §.4.1.4,
- réalisation et coloration des frottis sanguins : §.4.1.5 et 4.2.6,
- veiller au bon étiquetage des tubes de sang : §.4.2.1,
- contrôle de qualité « Hémogrammes » : §.4.2.3,
- contrôle de qualité quotidien « Biochimie » : §.4.2.4,
- contrôle de qualité inter-laboratoire : §.4.2.5,
- surveillance températures des réfrigérateurs : §.4.2.8,
- test dépistage déficit en G6- PD : §.5.2.3,

- coloration de Gram : §.5.2.5,
- justification des tests ELISA sur micro-plaques : §.5.2.10,
- feuille de rendus des résultats : §.5.2.11,
- mise en place de glucomètres §.7.5 après informations fournies par BSF (voir §.10.1),
- prescription « NFS » plutôt que « Leucocytes seuls » : §.6.9,
- installation progressive laboratoire Korbongou : §.8,
- se renseigner sur formation RESAOLAB : §.9.2.1.