

Rapport d'intervention Dossier n° 330-2	<b>Intervention au Centre de Santé « Saint-Luc » de Ku-Jéricho</b> <b>Moundou (République du Tchad)</b>  Septembre 2018	Validé par le CA le 25-10-2018
---	--	-----------------------------------

**INTERVENANTS :** Joseph CUZIAT, pharmacien biologiste  
Félix GANDON, interne en Biologie

## **RESUME**

Pour doter d'un laboratoire de Biologie médicale son tout récent Centre de Santé situé à faible distance de la ville de Moundou, à l'extrême sud-ouest de la République du Tchad, la « Communauté du Chemin Neuf » a sollicité l'appui technique de l'ONG « Biologie Sans Frontières » (BSF).

L'opération s'effectuera par étapes successives. L'intervention objet du présent rapport, la seconde de ces étapes, avait pour objectif premier la mise en place du diagnostic biologique de la tuberculose en partenariat étroit avec les structures gouvernementales de la Santé. En prévision d'une activité transfusionnelle –principalement au bénéfice des enfants atteints de paludisme- le second objectif était d'organiser la participation du laboratoire à la qualification biologique des dons de sang et à la réalisation des tests de compatibilité entre receveurs et donneurs.

Les interventions à venir consisteront essentiellement à rendre possible la réalisation de quelques examens qui relèvent de la Biochimie puis à installer un automate pour hémogrammes, opérations pour lesquelles les intervenants BSF de septembre 2018 ont préparé le terrain.

**MOTS CLE :** Centre Santé Saint-Luc, Ku-Jéricho, Moundou, Tchad, Communauté Chemin Neuf, Biologie Sans Frontières, BSF, Installation laboratoire.

## **I. LE CONTEXTE DANS LEQUEL SE SITUE L'INTERVENTION DE BSF**

La localité de Ku-Jéricho est un ensemble de villages situés dans l'extrême sud-ouest du Tchad, à une quinzaine de Km de Moundou, 2<sup>e</sup> ville du pays

Malgré cette proximité son accès est difficile, particulièrement durant la saison des pluies, qui s'étale sur 5 mois successifs ; l'isolement géographique qui en résulte est cause de difficultés - notamment d'ordre sanitaire- pour la population,

C'est en cet endroit que se situent les locaux de la « Communauté du Chemin Neuf » (CCN) au Tchad, Etablissement dirigé par le Père Elysée Niyokindi.

Dans ses nombreux Etablissements répartis en de nombreux pays la CCN, structure catholique dont le siège est à Lyon –plus précisément à la « Montée du Chemin Neuf »-, organise des séances et des séminaires de formation et de réflexion spirituelle.

A proximité immédiate de la maison du CCN à Ku-Jéricho se trouvent une école primaire ainsi qu'un Centre de Santé (CS) de construction récente (inauguration en octobre 2017), tous deux gérés par la CCN.

La conception, la construction, l'organisation du CS doivent énormément au docteur Luc Watine, médecin français, qui, à l'occasion de ses très fréquents voyages au Tchad mais aussi à distance à partir de son domicile de la banlieue lilloise, participe très activement au fonctionnement de cet Etablissement de Santé. Il nous accompagnait et il nous a guidés durant tout le temps que nous avons passé au Tchad

Il est important aussi de mentionner la présence fréquente et prolongée d'autres médecins français sur le site, eux-mêmes membres de la CCN, se relayant et contribuant ainsi à assurer un encadrement médical du CS de Ku-Jéricho.

C'est à la demande de la CCN et avec l'agrément des autorités tchadiennes que BSF apporte son appui pour la mise en place progressive d'un laboratoire de Biologie dans ce CS

Commencée à la date du 18 septembre 2018 l'intervention, objet du présent rapport, s'est terminée le 30 septembre. Elle était conduite par 2 membres de cette ONG :

Félix Gandon, interne en Biologie (1<sup>e</sup> mission BSF)

Joseph Cuziat, pharmacien biologiste (10<sup>e</sup> mission BSF en divers pays d'Afrique francophone)

Rappelons que cette intervention faisait suite à celle de 2 autres biologistes, Evelyne Chabin et Clarisse Deffuant, en mars 2018, première intervention de BSF sur ce site, qui a fait l'objet d'un rapport détaillé.

## **II. L'INTERVENTION COMPORTAIT QUATRE OBJECTIFS PRINCIPAUX**

- Le diagnostic biologique de la tuberculose
- La préparation du terrain en vue d'une activité transfusionnelle
- La première étape d'un diagnostic en Bactériologie
- La sérologie de la syphilis

Sur ces objectifs initiaux, au fil des jours, sont venues se greffer quelques autres opérations.

## **III. LA VISITE A QUELQUES PERSONNALITES FIGURAIT EGALEMENT AU PROGRAMME**

Les encouragements et les promesses d'appuis que nous y avons trouvés ont contribué au bon déroulement de la mission.

La première journée de notre présence au Tchad a été consacrée à ces démarches.

Les coordonnées de chacune de ces personnalités figurent dans *l'annexe n°1*

### **1. Le docteur Oumar Abdelhadi, responsable du Plan national de la Tuberculose (PNT)**

- Informé de la venue de BSF en territoire tchadien par le docteur Laurent Raskine (Fondation Mérieux à Lyon) ainsi que par quelques échanges préalables de courriers électroniques le docteur Oumar nous a reçus avec chaleur, nous exprimant tout l'intérêt de l'Etat tchadien pour toute

action en faveur du diagnostic et du traitement de la tuberculose, maladie origine de gros dégâts sur l'ensemble du continent.

- Nous avons recueilli auprès de lui l'assurance que le CS de Ku-Jéricho –au même titre que les autres laboratoires qui participent au PNT- bénéficiera à court terme de la gratuité des divers produits indispensables à la coloration des frottis par la méthode à l'auramine
- Par ailleurs le docteur Oumar nous a informés de la procédure d'approvisionnement en ces produits, qui consiste en une demande trimestrielle adressée au Directeur de la Santé du District de Moundou accompagnée du bilan du CS de Ku-Jéricho en matière de tuberculose durant le trimestre écoulé.
- Le projet -en gestation- de production locale des réactifs pour le diagnostic biologique de l'infection a été évoqué.
- La nécessité d'établir des relations de partenariat avec le laboratoire du CH de Moundou a été rappelée et soulignée

**2. La visite au laboratoire de l'hôpital du « Bon Samaritain » de N'Djamena a également** été d'une grande utilité puisque Etienne, le responsable du laboratoire, nous a fourni de précieuses informations relatives à l'organisation de la Biologie médicale en République du Tchad.

Un tableau (*annexe n°2*) contenant les coordonnées des principaux responsables de laboratoires du pays nous a été remis.

Ses remarques à propos des méthodologies analytiques le plus aisément accessibles aux CS ruraux nous ont particulièrement intéressés.

### **3. Il nous importait de rendre visite à la société « SLEM Médical », principal distributeur tchadien de produits de laboratoire**

Dans la diversité des produits disponibles nous avons été particulièrement attentifs aux tests de diagnostics rapides (TDR), dont les performances analytiques, la facilité et la rapidité d'utilisation de même que les prix en font des réactifs adaptés au CS de Ku-Jéricho dans l'attente de l'accroissement significatif de l'activité du laboratoire

Parmi les tests disponibles nous retenons particulièrement ceux qui sont nécessaires à la qualification biologique des donneurs de sang, à savoir :

- Le dépistage sérologique du HIV
- Le diagnostic des hépatites B et C (Ag HBs et Ac anti HCV)
- La syphilis (réactif à Ag tréponémique)

**4. A l'ambassade de France Madame Radhia Oudjani, la conseillère pour la coopération,** nous a reçus avec une extrême courtoisie ; son intérêt était manifeste pour mieux connaître la Communauté du Chemin Neuf et ses actions menées au Tchad (exposées par le docteur Luc Watine) et pour mieux connaître aussi l'ONG « Biologie Sans Frontières »

S'étonnant que BSF ne bénéficie d'aucune subvention publique elle suggère que notre ONG se mette en relation avec elle avant les interventions à venir sur le territoire tchadien afin de solliciter une participation financière de l'ambassade, par exemple pour l'acquisition des billets d'avion.

**5. Dans les locaux de la « Conférence des Evêques du Tchad » (CET) nous avons présenté** notre ONG au docteur Mbaitoloum Weina, coordinateur national Santé au sein de la « Caritas Tchad », Caritas étant –faut-il le rappeler ? -la branche internationale du « Secours catholique ».

Nous lui avons précisé les objectifs principaux de notre intervention à Ku-Jéricho.

Lui-même nous a développé avec clarté la structure du système de santé au Tchad ainsi que la place que « Caritas » y occupe.

**6. Le Directeur Provincial de la Santé à Moundou (le docteur Honoré Djehaïkoulayom Dembayo)** nous a reçus dans le même climat de courtoisie, en exprimant le même intérêt pour tout ce qui participe au bon fonctionnement du CS « Saint-Luc » et en nous assurant de son soutien notamment pour ce qui concerne le diagnostic de la tuberculose. Comme l'avait fait le docteur Oumar quelques jours plus tôt il nous rappelle d'une part l'obligation de produire un bilan trimestriel de l'activité tuberculose menée à Ku-Jéricho et, d'autre part, les modalités administratives de demande des produits diagnostiques et thérapeutiques nécessaires à cette activité. En témoignage de l'intérêt accordé au CS « Saint-Luc » par les autorités officielles du Tchad le docteur Honoré, en compagnie du docteur Oumar, est venu visiter l'Etablissement l'avant-veille de notre départ.

A noter que nous n'avons pas rencontré le Directeur de la Santé du District, absent durant tout le temps de notre séjour

#### **7. Au Centre Hospitalier de Moundou nous avons rencontré successivement :**

➤ La responsable du laboratoire de Biologie, Madame Honorine Nekianbe, qui nous a assurés de son accord pour apporter son soutien technique au laboratoire de Ku-Jéricho  
Après nous avoir fait visiter son laboratoire elle nous a entretenus de l'activité transfusionnelle – importante- du CH et de la participation du laboratoire à cette activité, précisant le nombre élevé de donneurs disqualifiés par les tests biologiques.  
Cette rencontre augure d'une aide précieuse en faveur du laboratoire de Ku-Jéricho.

➤ Le Directeur du CH, Monsieur Dobel Nemonguel s'est dit favorable à ratifier la proposition écrite de partenariat (*voir annexe n°3*) entre le CS de Ku-Jéricho et le CH de Moundou que lui a présentée le docteur Watine, sous réserve –toutefois- de l'accord de son Conseil d'Administration.  
Par ailleurs le Directeur nous fait part de son regret de ne pas disposer de prestations biomédicales satisfaisantes au sein de son Etablissement, y compris pour le laboratoire.

#### **8. La rencontre fortuite à Moundou du Directeur du Centre National de Transfusion**

Sanguine (CNTS) a permis au docteur Watine de lui exposer brièvement son souhait de mettre en place une activité transfusionnelle au CS « Saint-Luc », projet à l'encontre duquel le CNTS n'exprime aucune opposition de principe

Il a donc été convenu qu'à son prochain retour au Tchad dans quelques semaines le docteur Watine se rendra au près du docteur Mbangha Djimadoum, directeur du CNTS, pour l'entretenir plus longuement de ce projet, auquel, bien sûr, le laboratoire devra participer conformément aux procédures objets des *annexes n°5 et 6*, qui seront présentées au CNTS pour validation.

### **IV. LE LABORATOIRE DU CS « SAINT-LUC »**

#### **1. Deux catégories distinctes de bénéficiaires des prestations du laboratoire**

- Les adultes, qui consultent pour causes très diverses
- Les enfants et les femmes en cours de grossesse

A noter qu'une garde d'infirmier / sage-femme est assurée 24h/24 et 7 jours/7

#### **2. Les locaux ont été décrits dans le rapport de l'intervention BSF du mois de mars 2018**

Nous rappelons donc seulement :

- Leur grand état de propreté, leur luminosité naturelle, leur caractère très fonctionnel
- La facilité de leur entretien (carrelages au sol, sur les murs à mi-hauteur et sur les paillasses)
- L'existence de 3 pièces distinctes, toutes trois bien conçues, chacune équipée d'un évier avec arrivée d'eau ; des volets parfaitement opaques à la lumière permettent d'obtenir aisément l'obscurité indispensable à l'observation des frottis en microscopie à fluorescence
- La surface de chacune des 2 pièces techniques avoisine 15 m<sup>2</sup>
- L'alimentation électrique –d'origine exclusivement solaire- ne connaît pas d'interruption durant la journée
- Malgré l'absence de climatisation la température n'a jamais excédé 29°C durant notre séjour, y compris durant les heures les plus chaudes de la journée. A noter, toutefois, que les sommets de température extérieure se situent à d'autres moments de l'année

#### **3. Le personnel est constitué de 2 techniciens, dont nous avons pu apprécier les bonnes**

compétences professionnelles, une très forte capacité d'écoute et bien d'autres qualités humaines.

Il s'agit de :

*Monsieur Jean-Bernard Kizonzolo*, également membre de la CCN,  
*Monsieur Jeudi Mbairéda*, assez récemment recruté.

**4. Le mobilier –fabriqué en totalité par des artisans locaux- est non seulement fonctionnel** mais également esthétique. Chaque meuble est muni d'une porte, évitant ainsi l'empoussièrement intérieur

**5. Le matériel existant à notre arrivée**

- 2 microscopes lumière blanche, tous 2 équipés de 2 oculaires x10 et d'objectifs x10, x40 et x100 immersion,
- 1 microscope tout neuf « Zeiss » financé aux 2/3 par l'OMS et au 1/3 par la CCN destiné à la recherche des bacilles tuberculeux (BK) après coloration par l'auramine  
2 oculaires x10, 1 objectif x40 pour l'auramine + 1 objectif x 10 et x100 immersion,
- 2 centrifugeuses : l'une recevant uniquement des tubes de type hémolyse, l'autre pouvant –en principe- recevoir des tubes de 10 ml à fond conique,
- 2 supports pour frottis en cours de coloration,
- Quelques pipettes automatiques,
- Quelques portoirs à tubes à hémolyse. Pas de portoirs pour tubes de 10 ml.

**6. Le matériel que nous avons apporté dans nos bagages**

La liste figure dans *l'annexe n° 4*

NB. Un microscope, adressé par BSF en colis postal à l'un de nous n'est pas parvenu à son destinataire. Des recherches, menées par André Bayle, sont en cours au près de « La Poste »

**7. Les prélèvements de sang veineux sont réalisés par les techniciens à l'aide de matériel à usage unique dans des tubes sous vide**

**V. LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA TUBERCULOSE : OBJECTIF PRIORITAIRE DE L'INTERVENTION**

- La procédure que nous avons mise en place –la seule actuellement accessible- est l'examen microscopique des frottis colorés selon *la technique à l'auramine*
- C'est sur les recommandations du Plan National de la Tuberculose (PNT) que cette coloration a été préférée à la coloration de Ziehl
- *Le microscope « Primo Star » (Zeiss)* –équipé d'une source lumineuse LED- a été financé aux 2/3 par l'OMS et au 1/3 par la CCN
- A titre de témoins positifs nous avons dans nos bagages des étalements fixés de BAAR, aimablement préparés par les technicien(ne)s du laboratoire du CH de Saint-Nazaire. Immense merci à elles (eux).
- En l'absence actuelle de colorants auramine disponibles au Tchad, nous en avons acheté un kit au près du « Groupe Meridis », distributeur des produits RAL en France.

A l'avenir *l'approvisionnement* se fera au près du PNT après *demande trimestrielle* faite par le CS « Saint-Luc » adressée au *Directeur de la Santé du District à Moundou*

- Dans un souci d'économie de réactifs nous avons opté pour le procédé de coloration par recouvrement des frottis plutôt que par immersion dans des bacs, les 2 procédés produisant des résultats similaires

Cette façon de faire présente un autre avantage, qui est de permettre de préparer la seule quantité de solutions de travail nécessaires pour la journée, ce qui affranchit de tout risque lié à une mauvaise conservation. Voir mode opératoire en *annexe n°5.1*.

- Le laboratoire du CH de Moundou a accepté de nous fournir quelques produits pathologiques (expectorations) hautement suspects de contenir du bacille tuberculeux, ce qui a permis aux techniciens de manipuler en conditions réelles.
- L'intérêt *d'un registre spécial pour le relevé des résultats* : faciliter le relevé trimestriel d'activité à fournir à la Direction de la Santé du district

Conçu sous forme de tableau il devrait contenir les informations suivantes :

- Identité du patient (avec DdN ou âge) + domicile,
  - Prélèvement : nature + date,
  - Résultat de l'examen,
  - Commentaires éventuels : qualité du prélèvement, toutes difficultés rencontrées dans la réalisation de l'examen ...
- L'attention de tous se doit d'être attirée sur les 3 points importants suivants :

1) *L'entretien de la formation dispensée –avec enthousiasme et haute compétence-* par Félix aux 2 techniciens, particulièrement la lecture des frottis colorés. C'est probablement dans cette étape de l'analyse que le partenariat avec le laboratoire du CH de Moundou prend tout son sens et son importance

2) *Les prélèvements :*

- L'obtention d'une expectoration de qualité peut, chez certains patients, bénéficier d'une manœuvre de kinésithérapie, technique avec laquelle le personnel du CS n'est pas familier. En conséquence nous suggérons au PNT de proposer l'apprentissage de cette manœuvre à quelques personnes du CS, qui, à leur tour, pourront l'enseigner à d'autres
- Pour l'instant la solution des aspirations gastriques ne peut être retenue en raison du coût des sondes

3) *La fourniture trimestrielle du bilan d'activité « Tuberculose » à la Direction de la Santé du District.*

Il appartient au CS de solliciter précisions et détails concernant les dates ainsi que les informations à fournir

Il est rappelé avec la plus vive insistance que la demande des produits nécessaires pour les 3 mois suivants (produits pour le diagnostic biologique + médicaments) doit accompagner le bilan trimestriel d'activité

Outre les réactifs pour coloration à l'auramine il semblerait que les produits suivants pourraient figurer dans la demande trimestrielle : pots à prélèvements, lames de microscope et graveurs

## **VI. LES EXAMENS DE BIOLOGIE INDISPENSABLES A LA MISE EN PLACE D'UNE ACTIVITE TRANSFUSIONNELLE**

Si la réalisation technique des analyses biologiques indispensables pour assurer la sécurité transfusionnelle ne comporte pas de réelles difficultés les plus grands risques nous semblent résider dans une observance insuffisante des procédures par les préleveurs, par le laboratoire et par le personnel soignant en charge de brancher la poche de sang sur la veine du patient

Dans l'ordre chronologique les étapes successives qui participent à la sécurité transfusionnelle sont :

- 1) *Les analyses à pratiquer au patient receveur : groupe sanguin ABO-Rh,*
- 2) *Les analyses de qualification du (des) donneur(s)*
  - dosage de l'hémoglobine,

- groupe sanguin ABO-Rh,
- tests de 4 maladies infectieuses : HIV + hépatite B (Ag HBs), hépatite C (Ac anti HCV), syphilis (sérologie par TDR avec Ag tréponémique),

3) *Le contrôle ultime de compatibilité au lit du patient à transfuser.*

A cette fin nous proposons des procédures écrites qui seront soumises à l'approbation du CNTS :

- pour l'étape 1 (groupage sanguin) la procédure (*annexe n°6.1*) inclut les 3 phases de tout examen biologique (pré-analytique, analytique, post-analytique incluant l'enregistrement du résultat dans un registre spécifique, modèle en *annexe n° 6.2*),
- l'étape du contrôle ultime de compatibilité fait l'objet des *annexes n°6.3 et 6.4*.

A la demande du docteur Luc Watine, qui rencontrera le Directeur du CNTS au début de novembre 2018 à N'Djamena, nous avons établi une liste de quelques points à aborder en cette circonstance. Cette liste – non exhaustive- fait l'objet de *l'annexe 5.2*.

## **VII. LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DE LA SYPHILIS**

Malgré la simplicité d'application de la technique du TPHA à l'aide des réactifs que le laboratoire du CH de Saint-Nazaire nous avait cédés (grand merci à sa chef de service) et malgré l'excellence des résultats obtenus nous avons convenu de proposer une méthode de TDR, qui, d'une part est mieux adaptée à l'activité du laboratoire, relativement faible à ses débuts, et qui, par ailleurs, permet de rendre le résultat aux consultants avant qu'ils ne rejoignent leur domicile.

La cinétique des anticorps décelés par ces 2 méthodes étant superposable –puisque dans les 2 produits l'antigène est d'origine tréponémique- l'interprétation des résultats est également identique. Notre proposition est donc d'utiliser le TDR en test de première intention.

En cas de positivité un test « RPR charbon » ou « VDRL charbon » sera pratiqué afin de dater le contact contaminant.

Voir le détail de la procédure dans *l'annexe n°7*, artistiquement élaborée par Félix.

S'agissant de l'attitude à adopter pour la qualification biologique des donneurs de sang le docteur Luc Watine s'en entretiendra avec le Directeur du CNTS dans le courant du mois de novembre.

Dernière précision : les TDR Syphilis disponibles chez « SLEM Medical » à N'Djamena sont de marque « ABON Biopharm » ou « ALERE » (fabrication Abbott ?) avec 2 présentations disponibles :

- *Les « bandelettes »* nécessitent un prélèvement en tube puis une centrifugation
- *Les « cassettes »* (en France on dit quelquefois « savonnettes ») sont utilisables sur sang total et donc sur sang capillaire, tout en restant utilisables avec du sérum. Son prix est plus élevé que celui des bandelettes.

## **VIII. LA COLORATION DE GRAM FIGURAIT AUSSI DANS NOS OBJECTIFS DE DEPART**

- Les produits utilisés sont fabriqués par BioMérieux, distribués par SLEM Médical, à qui nous avons acheté un kit :
  - désignation : Color Gram 2    Réf. 55542    4 flacons 250 ml avec bec verseur
- Par la suite, selon la consommation qui en sera faite, il sera possible d'acheter les différents produits en conditionnement de 1 litre, moins onéreux, que l'on transférera dans les flacons de 250 ml, d'utilisation plus aisée.
- Des frottis témoins, préalablement fixés, nous avaient été préparés par les technicien(ne)s du laboratoire de Biologie du CH de Saint-Nazaire. Nous les en remercions chaleureusement.

*Les annexes 8 et 9* décrivent les modes opératoires pour la coloration et pour la réalisation des frottis

## **IX. QUELQUES AUTRES OPERATIONS NON INITIALEMENT PROGRAMMEES ONT ETE EFFECTUEES**

### **1. Démonstration d'entretien périodique des pipettes automatiques**

- A cette fin les accessoires nécessaires ont été remis aux techniciens
- La quantité de graisse silicone en notre possession était minimale ; le laboratoire devra donc en acheter à Moundou dans un magasin qui lui a été désigné par un plombier de passage ce jour-là.
- Prévoir d'inscrire de façon indélébile un numéro spécifique sur chaque pipette puis d'ouvrir un registre d'entretien des pipettes (modèle proposé en *annexe n°10*)

NB : Faute de disposer d'une balance de précision (1/10 mg) nous n'avons pas pu contrôler les volumes délivrés par chacune des pipettes.

### **2. Nous avons apporté quelques minimales modifications à 3 textes de nos prédécesseurs**

- Goutte épaisse,
- Réalisation d'un frottis sanguin + coloration MGG,
- Numération des leucocytes du sang.

Les nouvelles versions –très joliment illustrées par Félix- se situent dans les *annexes 11, 12 et 13*  
Très discrètement modifié aussi le tableau relatif aux TROD (*annexe 14*)

### **3. Un rangement des documents écrits a été effectué**

- Les modes opératoires fréquemment utilisés sont dans un classeur,
- Les documents moins souvent consultés sont rangés dans un autre classeur,
- Après les avoir rédigés puis imprimés Félix a affiché au mur les versions résumées de quelques modes opératoires.

### **4. Un exposé oral concernant les anémies a été fait à leur demande aux 2 techniciens**

## **X. DES RECOMMANDATIONS DIVERSES ONT ETE FAITES**

### **1. Conservation des produits périssables : règles générales Annexe 15**

### **2. Surveillance des stocks : si besoin nous demander un modèle de fiche**

### **3. Elimination des déchets : dans l'annexe n°16 nous avons transcrit les procédés actuellement en vigueur**

### **4. Pots d'eau de Javel sur les paillasses : après vérification du degré chlorométrique des pastilles il conviendra peut-être de modifier le contenu de l'annexe n° 17 : au moment de la préparation de cette solution antiseptique son degré chlorométrique doit se situer au moins à 6°.**

### **5. En matière de contrôle de qualité (CQ)**

- Des *TDR* : un échantillon + devra être analysé au moins 2 fois/mois et le résultat sera consigné dans un tableau dont nous nous pourrions proposer un modèle
- Du dosage de l'hémoglobine (hémoglobinomètre « Hemocue ») nous suggérons de comparer périodiquement (1 fois/2 mois) le résultat « Hemocue » de Ku-Jéricho avec le résultat du laboratoire du CH de Moundou : 2 échantillons en tube EDTA (1 normal + 1 bas) prélevés à Ku-Jéricho. Noter les résultats dans un tableau dont nous pourrions proposer un modèle,
- De la numération des leucocytes dans le sang : même procédure
- De la température intérieure du réfrigérateur : relevé quotidien le matin –au moment de l'ouverture du laboratoire- sur une feuille identique à celle du réfrigérateur des vaccins ou bien utiliser un modèle inspiré de l'annexe 19.

NB. Dès que le laboratoire disposera d'un ordinateur équipé du logiciel « Excel » nous proposerons un tableau pour le calcul automatique des écarts-types et des coefficients de variation, tableau qui, bien sûr, servira aussi pour les CQ des paramètres de Biochimie

## 6. Une procédure écrite d'entretien des microscopes a été remise *Annexe 20*

### **XI. PERSPECTIVES D'AVENIR**

Les objectifs des interventions à venir de BSF devraient -en principe et à des dates à définir- être la mise en place des activités suivantes :

- Quelques examens de Biochimie,
- Automatisation de l'hémogramme.

ce qui nécessitera l'acquisition d'un spectrophotomètre et d'un petit automate pour NF

#### **En préalable à ces opérations il conviendra de :**

- S'assurer de la qualité du courant électrique,
- Se fournir en eau de qualité : L'eau qualifiée de « distillée » actuellement utilisée nous a paru quelque peu suspecte (présence de flocons au fond du flacon),
  - *L'utilisation de l'eau de source en bouteille encapsulée pourrait s'envisager sous réserve de résultats d'essais préalables effectués avec les réactifs de Biochimie,*
  - *Si besoin et si possible il faudrait envisager de se procurer de l'eau distillée au près du CH de Moundou.*
- Pour ce qui est de la climatisation d'une pièce notre avis sur le sujet est très imprécis

**S'agissant d'un outil informatique** : il est inutile, sans doute, de souligner l'intérêt de disposer au moins des logiciels « Excel » et « Word »

Des alternatives existent probablement au sujet desquelles BSF dispose tout aussi probablement d'informations que nous solliciterons le moment venu.

#### **En conclusion** nous formulons les 2 souhaits suivants :

- Tout d'abord que s'établissent des contacts plus ou moins réguliers par messages électroniques entre les techniciens du laboratoire et BSF,
- Mais aussi que le bilan d'activité du laboratoire soit périodiquement communiqué à BSF, qui est toujours intéressé de connaître l'évolution de l'activité des sites de ses interventions.

Fin.

Annexe n° 3

Union BSF à Ku-Jéricho  
Sept. 2018.

Centre de Santé Saint Luc  
Communauté du Chemin Neuf  
Laboratoire d'analyses médicales  
Ku-Jéricho, Tchad

Hôpital Régional de Moundou

Laboratoire d'analyses médicales  
Moundou, Tchad

### Convention de partenariat

Il est établi par le présent document une convention de partenariat entre le laboratoire d'analyses médicales de l'Hôpital Régionale de Moundou et le laboratoire d'analyses médicales du Centre de Santé Saint Luc de Ku-Jéricho.

Cette convention a pour buts :

- De favoriser des échanges constructifs dans le domaine de la biologie médicale
- De permettre une supervision de la qualité et du respect des normes en la matière au niveau du Centre de Santé Saint Luc
- De favoriser les relations avec les programmes nationaux et internationaux en matière de santé et de biologie médicale
- De permettre d'améliorer la compétence des agents techniques du Centre de santé par tous moyens jugés utiles par les deux parties, après concertation.

Le 2 septembre 2018

Le responsable du projet  
Du Centre de Santé Saint Luc  
Docteur Luc Watine

Le responsable du Laboratoire  
de l'Hôpital Régionale de Moundou  
Madame Honorine Netalar

**Liste du matériel et produits divers fournis****Divers**

- . 1 agitateur pour tests VDRL
- .3 micropipettes automatiques
- .matériel d'entretien pour pipettes automatiques
- .1 paquet d'embouts jaunes pour pipettes automatiques
- .250 pipettes pasteur en verre non stériles
- .3 poires d'aspiration en caoutchouc pour pipettes Pasteur
- .quelques pipettes graduées écoulement total en verre
- .2 éprouvettes graduées 250 ml
- .2 entonnoirs diamètre 10 cm
- .10 microplaques à 96 puits (fournies par CH Saint-Nazaire)
- .2 pissettes 250 ml
- .2 portoirs en plastique pour tubes hémolyse
- .1 bec Bünsen (gaz butane)
- .5 marqueurs noirs sur verre
- .1 graveur sur verre
- .des lames en verre pour examens microscop.
- .des lamelles pour examens microscop.
- .huile à Immersion RAL
- .2 ampoules halogène pour microscope
- .1 minuteur mécanique
- .1 pince métallique
- .2 thermomètres (réfrigérateur ou BM)
- .1 paire de lunettes de protection
- .2 boîtes de rangement des lames de microscope
- .1 classeur de documents avec transparents fixes 100 pages
- .quelques procédures écrites

**Réactifs**

- .3 coffrets TPHA (fournis par labo CH Saint-nazaire)
- .1 coffret RPR charbon (fourni par labo CH Saint-Nazaire)
- .plusieurs TDR Paludisme (fournis par Marion Dudez)
- .1 kit « Fluo RAL » acheté chez « Groupe Meridis » par BSF
- .1 kit « Color Gram » BioMérieux acheté à N'Djamena

**Livres**

- .Guide des examens de laboratoire P.Kamoun et JP Fréjaville
- .Bactériologie et Virologie pratiques J.Grosjean et all. Edit. Deboeck
- .Parasitologie et Mycologie médicales C.Buffaz et all. Edit. Deboeck

**A prévoir pour prochaine intervention :**

- 1 leucocytomètre (pour formule leucocytaire sur frottis)

## Coloration à l'auramine

---

### Principe :

Le kit Fluo-RAL permet une détection rapide par fluorescence des mycobactéries ou Bacilles Acido-Alcoolo-Résistants (BAAR) après coloration à l'auramine et décoloration par l'acide et l'alcool. Les bactéries non acido-alcoolo-résistantes et les éléments cellulaires sont contre-colorés par le rouge thiazine.

### Le produit « Kit Fluo-RAL » référence RAL 359000-0000

Distribué en France par « Groupe Meridis »

Parc Euromédecine 20, rue Robert-Koch BP 27253  
34086 Montpellier Cedx  
Tél. 04.67.10.59.00

### Etalement du prélèvement sur lame :

- Cf. procédure « Réalisation d'un frottis pour Examen Microbiologique »
- Coloration à l'Auramine à réaliser sur un frottis déjà fixé à l'alcool à 90°
- Concerne les expectorations et les aspirations gastriques

### Préparation :

Chaque série de coloration doit contenir une lame « Témoin positif », c'est-à-dire une lame contenant de façon certaine des BAAR

- Poser les lames au-dessus du bac de coloration
- 
- **Préparer la Solution (2)** - Auramine : mélange 1mL de flacon 2 et 1mL de flacon 3 dans le tube à hémolyse (2). Homogénéiser
- 
- **Préparer la Solution (4)** - Rouge Thiazine : mélange 1mL de flacon 5 et 1mL de flacon 6 dans le tube à hémolyse (4). Homogénéiser

### Coloration :

- Fixer le frottis avec le fixateur : **Flacon (1) – 5 minutes**
- Rincer avec de l'eau en bouteille – 1 minute
- Colorer avec l'auramine : **Solution (2) – 15 minutes**
- Rincer avec de l'eau en bouteille – 1 minute
- Décoloration de Dégommier : **Flacon (3) – 3 minutes**
- Rincer avec de l'eau en bouteille – 1 minute
- Contre coloration au Rouge thiazine : **Solution (4) – 5 minutes**
- Rincer avec de l'eau en bouteille – 1 minute
  
- Egoutter la lame sur du papier absorbant
- Laisser sécher à l'abri de la lumière – 15 minutes

### Lecture :

- Utilisation du microscope à fluorescence ZEISS à l'objectif X40

**Annexe n° 5.2**

**Projet de création d'une activité transfusionnelle**  
**Propositions à soumettre au Directeur du CNTS du Tchad**

1. Validation des procédures objets des textes 6.1, 6.2 et 6.3 annexés au rapport d'intervention de BSF en septembre 2018
  
2. Demander l'approbation du CNTS pour les TDR que le laboratoire du CS Saint-Luc envisage d'utiliser pour la qualification biologique des donneurs  
Apporter les références des 4 TDR utilisés : Ag HBs, Ac anti HCH, Ac anti HIV, sérologie syphilis (fabricant, désignation du produit, référence catalogue fabricant)
  
3. Solliciter la fourniture à titre gracieux des poches, des réactifs cités ci-dessus et de cartes de contrôle ultime de compatibilité par le CNTS (ainsi que anti sérums pour groupages ABO-Rh)
  
4. Conduite à tenir sur le plan transfusionnel à l'égard d'un donneur trouvé + en test TDR (Ag tréponémique) ?
  
5. Le CS de Ku-Jericho s'engage à fournir périodiquement au CNTS le bilan d'activité transfusionnelle incluant les données relatives aux receveurs + celles relatives aux donneurs
  
6. Le CS de Ku-Jericho invite le Directeur du CNTS à lui rendre visite
  
7. Il peut arriver qu'il n'y ait pas de présence médicale à Klu-Jericho, ce qui empêchera toute thérapeutique transfusionnelle.

## Groupage sanguin ABO Rh

### Recommandations importantes

#### 1. Comment prélever le sang ?

1.1. *Sang en tube à bouchon mauve (EDTA)* : quelques gouttes suffisent

Il est inutile d'être à jeun.

1.2. *Bien étiqueter le tube* :

nom, prénom, date de naissance du patient  
jour et heure du prélèvement

1.3. *Bien remplir le bon de demande d'examen*

nom, prénom, date de naissance du patient  
jour et heure du prélèvement  
nom, qualité, signature du préleveur

**Il est nécessaire d'effectuer 2 prélèvements distincts** (sauf si urgence transfusionnelle)

Chacun de ces 2 échantillons de sang doit être prélevé :

- .à 2 moments différents
- .par 2 préleveurs différents

#### 2. Comment doit-on procéder au laboratoire ?

2.1. Sur chacun des 2 prélèvements l'examen doit être réalisé par 2 personnes distinctes.

2.2. Chacune de ces 2 personnes doit utiliser un lot différent de réactifs.

2.3. La détermination ABO doit être faite par en utilisant 2 méthodes différentes :

*.l'épreuve globulaire, dite de Beth-Vincent, à l'aide des antisérums suivants :*

- anti A
- anti B
- anti A+B
- anti H si possible

*.l'épreuve sérique, dite de Simonin, s'effectue à l'aide des suspensions suivantes de globules tests : A, B, O et globules du patient (témoin auto)*

Si, en situation d'urgence, l'épreuve sérique de Simonin n'est pas réalisable, faute de disposer de globules tests la seule épreuve utilisée sera l'épreuve globulaire de Beth- Vincent

2.4. La détermination du Rhésus se fait à l'aide du sérum anti D

### **3. Le résultat**

#### **3.1. Où inscrire le résultat ?**

- .Le premier manipulateur : sur le bon de demande d'examens
- .Le second manipulateur : sur un registre

#### **3.2. Comparer les 2 résultats**

La confrontation des 2 résultats se fait par 2 personnes

##### **3.2.1. si les 2 résultats sont concordants**

- .chaque manipulateur signe son résultat
- .on rend le résultat inscrit sur le bon de demande d'examen

##### **3.2.2. si les 2 résultats sont discordants**

chacun des 2 manipulateurs recommence la détermination dans sa totalité

### **4. Un rappel important : le contrôle ultime avant de transfuser**

- Il est légalement obligatoire
- Il doit se faire au lit du malade (et non pas à distance)

#### **Ce contrôle consiste en 3 vérifications :**

- 4.1. Vérifier que le nom du patient que l'on a devant soi est le même que celui qui figure sur le document sur lequel est inscrit le résultat du groupe sanguin
- 4.2. Vérifier que le groupe sanguin inscrit sur ce document est le même que celui inscrit sur la poche que l'on s'apprête à transfuser
- 4.3. Réaliser le test de compatibilité entre les hématies du malade (sang prélevé juste avant le test) et les hématies contenues dans la poche :
  - .pour ce faire on utilise du sérum anti A et du sérum anti B
  - .le test doit être réalisé pour chacune des poches à transfuser et juste avant de la brancher sur la veine du patient

Fin.



**Transfusion d'une poche de sang**

**Test de compatibilité ultime au lit du malade**

**Avant de pratiquer le test :**

1. S'assurer que l'identité du malade correspond à celle qui figure sur la carte de groupe sanguin
2. Vérifier la date limite d'utilisation de la poche de sang
3. Comparer le groupe sanguin de la carte (ABO et Rh) et celui de l'étiquette de la poche

.L'idéal : même GS sur la carte et sur l'étiquette de la poche

.Quelques différences peuvent être admises :

- .poche Rh – peut être transfusée à un malade Rh +
- .poche O peut être transfusée à un malade A, AB ou B
- .poche A peut être transfusée à un malade AB
- .poche B peut être transfusée à un malade AB

.Aucune des différences suivantes ne peut être admise :

- .poche Rh + et malade Rh – (sauf quelques exceptions)
- .poche A et malade O ou B
- .poche B et malade O ou A
- .poche AB et malade O ou A ou B

**Mode opératoire :**

La réaction se fait **sur une carte Bristol pré-imprimée**, modèle fourni en annexe

1. Déposer une goutte de sang (poche et malade) dans les carrés
2. Déposer 1 goutte d'anti A ou d'anti B dans les cercles
3. A l'aide du fond d'un tube à hémolyse transférer une très petite quantité de sang poche dans les cercles anti A et anti B de la colonne « Poche »
- .Mélanger à l'aide du fond d'un tube à hémolyse

Attention : après chaque transfert de sang changer de tube à hémolyse ou bien l'essuyer à l'aide d'un chiffon absorbant

4. Faire de même avec le sang du malade
5. Poser la carte à plat pendant environ 30 secondes
6. Puis basculer la carte légèrement dans tous les côtés
7. Observer les agglutinations au bout de 60 à 90 secondes

**Les résultats**

**1. Si les résultats sont identiques côté gauche (poche) et côté droit (malade)**

anti A poche = anti A malade  
anti B poche = anti B malade

le groupe ABO de la poche et le groupe ABO du malade sont identiques : la transfusion est autorisée

**2. Si les résultats sont différents côté gauche (poche) et côté droit (malade)**

anti A poche ≠ anti A malade  
anti B poche ≠ anti B malade

Pour savoir si on peut transfuser cette poche il est indispensable de consulter le tableau « Contrôle ultime de compatibilité transfusionnelle. Interprétation du test »  
Annexe 3 bis

**Remplir la fiche « Contrôle de compatibilité transfusionnelle »** (Annexe 3 ter)

Cette fiche doit être conservée dans le dossier du patient

## Contrôle ultime de compatibilité transfusionnelle

### Interprétation du test

**Signe +** : présence d'héماغglutination

**Signe -** : pas d'héماغglutination

#### Il est interdit de transfuser une poche si :

.cette poche donne une réaction positive avec un anti sérum

.et si le malade donne une réaction négative avec ce même anti sérum

Cas n°	Sang de la poche	Sang du malade	Transfusion possible
1	Sang de la poche = sang du malade		oui
2	Anti A - / anti B -	Anti A + / anti B -	oui
3	Anti A - / anti B -	Anti A - / anti B +	oui
4	Anti A - / anti B -	Ati A + / anti B +	oui
5	Anti A + / anti B -	Anti A - / anti B -	<b>non</b>
6	Anti A + / anti B -	Anti A - / anti B +	<b>non</b>
7	Anti A + / anti B -	Anti A + / anti B +	oui
8	Anti A - / anti B +	Anti A - / anti B -	<b>non</b>
9	Anti A - / anti B +	Anti A + / anti B -	<b>non</b>
10	Anti A - / anti B +	Anti A + / anti B +	oui
11	Anti A + / anti B +	Anti A - / anti B -	<b>non</b>
12	Anti A + / anti B +	Anti A + / anti B -	<b>non</b>
13	Anti A + / anti B +	Anti A - / anti B +	<b>non</b>

**« Contrôle de compatibilité transfusionnelle »**

Fiche à introduire dans le dossier du malade

<b>Receveur : Nom + prénom + date de naissance</b>	<b>Poche de sang n°</b>
--	-------------------------

**Prescripteur de la transfusion** : docteur . . . . .

**N° du cas** : le noter ici : . . . . .  
voir le tableau « Contrôle ultime de compatibilité transfusionnelle. Interprétation du test »

**La transfusion est-elle possible ?** (Répondre par oui ou non) : . . . . .

**Opérateur** : Nom + prénom + service + date + signature

**« Contrôle de compatibilité transfusionnelle »**

Fiche à introduire dans le dossier du malade

<b>Receveur : Nom + prénom + date de naissance</b>	<b>Poche de sang n°</b>
--	-------------------------

**Prescripteur de la transfusion** : docteur . . . . .

**N° du cas** : le noter ici : . . . . .  
voir le tableau « Contrôle ultime de compatibilité transfusionnelle. Interprétation du test »

**La transfusion est-elle possible ?** (Répondre par oui ou non) : . . . . .

**Opérateur** : Nom + prénom + service + date + signature

**« Contrôle de compatibilité transfusionnelle »**

Fiche à introduire dans le dossier du malade

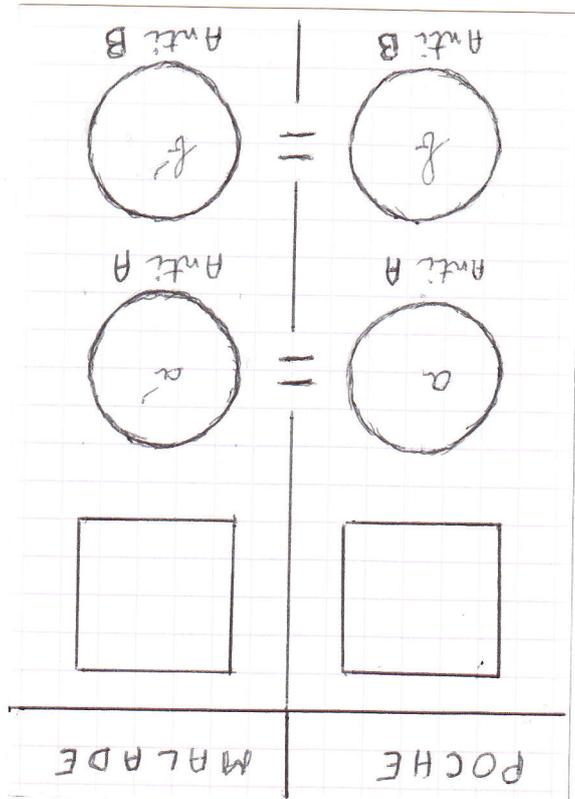
<b>Receveur : Nom + prénom + date de naissance</b>	<b>Poche de sang n°</b>
--	-------------------------

**Prescripteur de la transfusion** : docteur . . . . .

**N° du cas** : le noter ici : . . . . .  
voir le tableau « Contrôle ultime de compatibilité transfusionnelle. Interprétation du test »

**La transfusion est-elle possible ?** (Répondre par oui ou non) : . . . . .

**Opérateur** : Nom + prénom + service + date + signature



## Syphilis

**Principe :** Diagnostic sérologique de l'infection à *Treponema pallidum*, bactérie responsable de la syphilis.

.le test de première intention utilise un antigène tréponémique, dont le support est un TDR, qui fournit des résultats superposables à ceux du TPHA

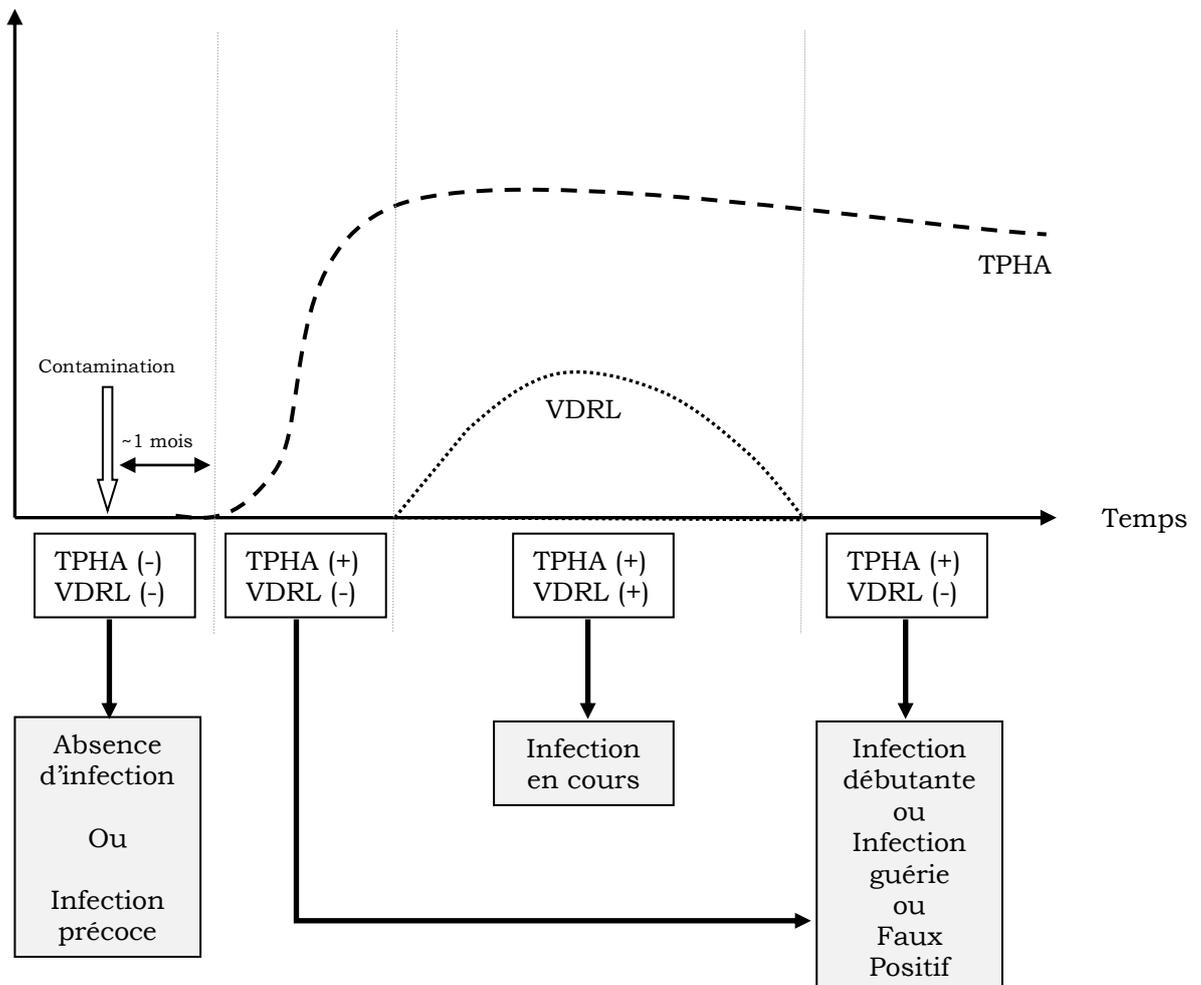
.en cas de positivité on pratique un test avec antigène cardiolipidique (VDRL ou RPR charbon) afin de préciser si le résultat du TDR est la conséquence d'une infection évolutive ou s'il s'agit de la persistance d'anticorps après guérison sans signification pathologique.

La cinétique des anticorps est représentée par les courbes ci-après, qui montre que :

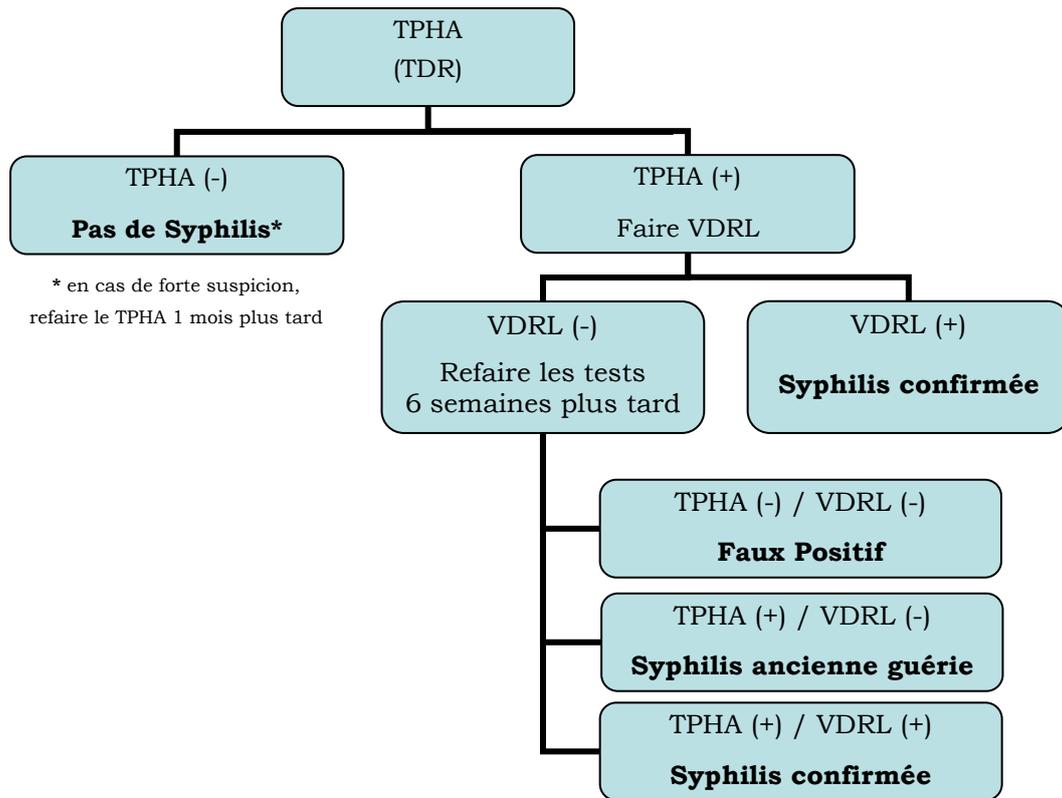
.la positivité du TDR (ou du TPHA) se manifeste précocément et de façon durable

.le test cardiolipidique (VDRL ou RPR) se positive plus tardivement, montre une décroissance en cours de traitement pour se négativer à la guérison

Rappelons que chacune de ces méthodes risque de produire des résultats faussement positifs.



## Interprétation des Résultats :



## Coloration de Gram

---

**Réactifs :** Kit « Color Gram 2-F » (BioMerieux, ref. 55542)  
Conditionnements individuels (ref. 55545/55546/55547/55548)

**Principe :**

- La paroi des bactéries est colorée en violet par le cristal violet oxalaté (Flacon (1)).
- La solution de Lugol (Flacon (2)) fixe le cristal violet.
- La décoloration par l'alcool-acétone (Flacon (3)) élimine les complexes iode-cristal violet uniquement pour les bactéries Gram négatif
- La solution de safranine (Flacon (4)) colore la membrane externe des bactéries Gram négatif alors que les bactéries Gram positif restent colorées en violet.

**Étalement du prélèvement sur lame :**

- Cf. Mode Opérateur « Réalisation d'un frottis pour Examen Microbiologique »

**Coloration :**

- Recouvrir le frottis avec la solution de Cristal Violet : **Flacon (1) – 1 minute**
- Éliminer le surplus dans le bac de coloration, sans rincer !
- Colorer avec la solution de Lugol (Iodine) : **Flacon (2) – 1 minute**
- Décolorer avec le mélange alcool-acétone : **Flacon (3)**  
*(Attention ne pas trop décolorer, arroser le dos de la lame)*
- Rincer avec de l'eau et recouvrir d'eau la surface de la lame
- Ajouter quelques gouttes de Safranine : **Flacon (4) – 1 minute**
- Rincer avec de l'eau
- Egoutter sur papier absorbant et laisser sécher à l'air

**Lecture :**

- Utilisation du microscope avec l'objectif X100 (immersion à l'huile)

**Préparation du mélange alcool-acétone (Flacon (3))**

*Alcool 90° : 160 mL  
Acétone : 80 mL  
Introduire dans une pissette*

## Réalisation d'un frottis pour examen microbiologique

---

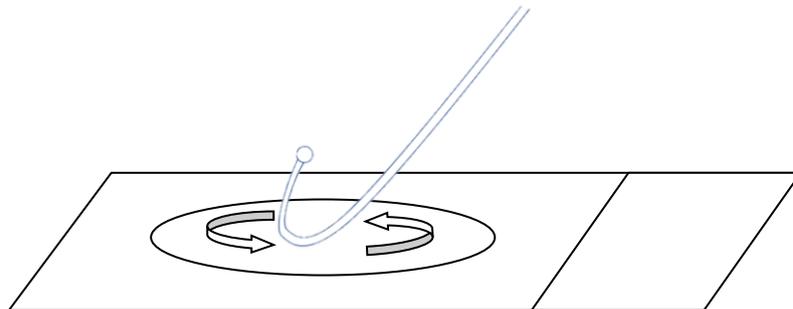
### Noter la nature et l'aspect du prélèvement :

- Urine, prélèvement génital, expectoration, selle, ...
- clair, trouble, purulent, hémorragique, ...

### Réalisation d'un frottis

(Il est conseillé de réaliser plusieurs lames pour un même prélèvement)

- Identifier la lame avec l'identité du patient et le type de prélèvement
- S'installer à la paillasse à proximité du bec Bunsen allumé
- Choisir la partie du prélèvement la plus purulente (susceptible de contenir des bactéries)
- Prélever un peu de prélèvement à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée et courbée
- Etaler sur la lame le prélèvement par rotation de façon à obtenir des zones minces et des zones plus épaisses. La surface d'étalement doit être d'environ 3 cm X 1 cm



- Laisser la lame à proximité du bec Bunsen jusqu'à ce que l'étalement soit sec

### Fixation de la lame

- Recouvrir la lame d'alcool à 90°
- Attendre l'évaporation totale de l'alcool (lame sèche) pour réaliser la coloration

### Coloration de la lame

- Cf. protocole de coloration dédié (Gram, auramine, MGG)

### Lecture au microscope

- Noter la présence de bactérie (cocci, bacilles, Gram (+) ou (-) )
- Préciser s'il s'agit d'une flore monomorphe, polymorphe ou absence de flore
- Préciser la présence de leucocytes et d'hématies



## **Goutte épaisse (coloration Giemsa)**

---

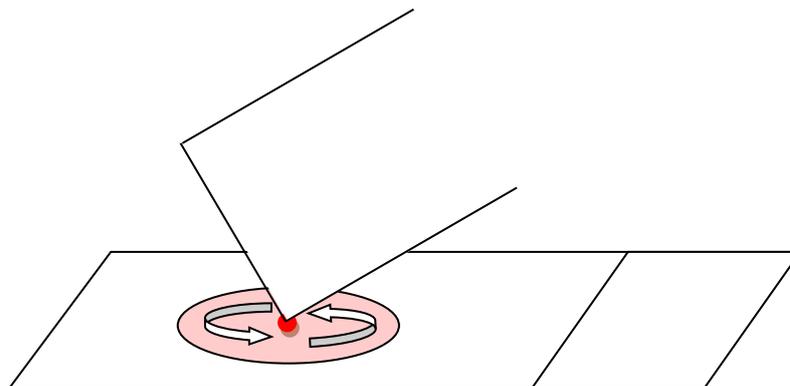
### **TOUS LES MATINS : Préparation du Giemsa pour GE et frottis**

Pour 1 lame : 4 gouttes de Giemsa dans 4 mL d'eau en bouteille  
Si plus : 1 mL de Giemsa dans 19 mL d'eau en bouteille

### **Réalisation de la Goutte Epaisse**

Peut se faire indifféremment sur sang veineux ou capillaire  
(Bien homogénéiser le tube de sang EDTA (mauve) par retournements

- Déposer 1 goutte de sang de 5  $\mu$ L sur la lame et tourner en spirale avec le coin d'une 2<sup>e</sup> lame en allant vers l'extérieur : dépôt large d'environ 1 cm



- Laisser sécher au moins 30 mn sur la paillasse

### **Coloration de Giemsa**

- 
- Déshémoglobiner la GE en agitant doucement la lame dans un b cher d'eau tiède jusqu'à décoloration de la lame.  
ATTENTION : NE PAS DECOLLER LA GOUTTE !!
- Sur le bac de décoloration, recouvrir la lame du Giemsa dilué et laisser au contact 15 minutes avec le couvercle sur la lame (boîte de Pétri)
- 
- Rejeter le colorant dans le bac et rincer à nouveau dans un b cher d'eau tiède jusqu'à décoloration.
- 
- Essuyer le dessous avec du papier absorbant et laisser sécher

### **Lecture :**

- Microscope avec objectif x100 et huile à immersion

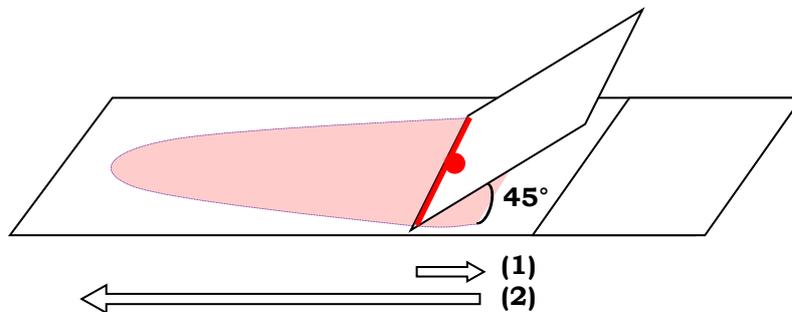
## Frottis (coloration MGG)

---

### Préparation du Giemsa : cf. GE

### Réalisation d'un frottis mince :

- 
- Bien homogénéiser le tube de sang EDTA (mauve) par retournements
- Déposer 1 goutte de sang de 5  $\mu$ L sur la lame
- Poser le rebord d'une lamelle devant la goutte et former un angle d'environ 45° avec la lame
- Faire glisser la lamelle au contact de la goutte de sang afin de répartir de façon régulière le sang le long de la lamelle **(1)**
- Faire glisser la lamelle vers l'avant jusqu'au bout dans un mouvement fluide **(2)**



- Sécher rapidement la lame (pour éviter la rétractation des leucocytes)

### Coloration :

- 
- Couvrir le frottis avec la solution de **May-Grünwald – 3 minutes**
- Ajouter 1mL d'eau en bouteille – 5 minutes
- Egoutter la lame avec une pince, sans rincer
- Couvrir la lame de **Giemsa dilué – 15 minutes** (couvrir si dessiccation)
- Rincer avec l'eau du robinet (pissette)
- Essuyer le dessous avec du papier absorbant et laisser sécher

### Lecture :

- Microscope avec objectif x100 et huile à immersion

## Numération des leucocytes du sang en cellule de Nageotte

### Préparer une solution de bleu de méthylène afin de diluer les globules blancs

2 mL d'eau en bouteille + 5 gouttes de solution concentrée de bleu de méthylène

### Diluer le sang total au 1/40<sup>e</sup>

Dans un tube à hémolyse, mettre 2 mL de solution de bleu de méthylène.

Bien homogénéiser le tube de sang EDTA (mauve) par retournements.

Ajouter 50µL de sang total dans le tube à hémolyse.

Attendre 15 minutes environ.

### Remplir la cellule de Nageotte

Laisser reposer 15 minutes en chambre humide

### Lecture et comptage en cellule de Nageotte

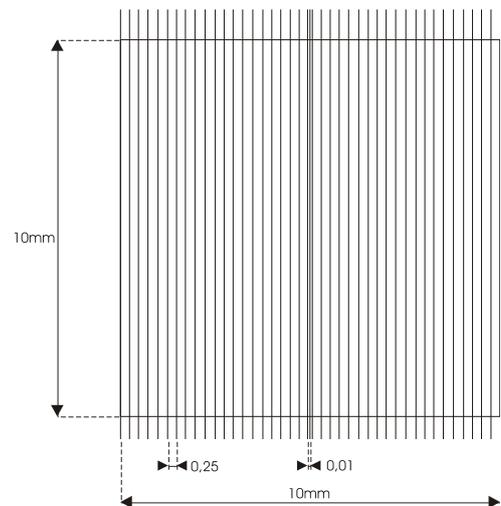
Vérifier qu'il s'agit bien d'une cellule de 0,5 mm de profondeur

Quadrillage total constitué de 40 bandes

**Chaque bande a un volume de 1,25 µl**

**Les dimensions d'une bande :**

L : 10 mm    l : 0,25 mm    H : 0,50 mm



Compter les globules blancs contenus dans 4 bandes

Faire la moyenne sur 1 bande.

### Calculer le nombre d'éléments cellulaires par microlitre

Soit **N** le nombre de leucocytes par microlitre (µL)

**n** le nombre moyen de leucocytes comptés dans une bande

**D** le facteur de dilution

**V** le volume de comptage

$$N = (n \times D) / V$$

Exemple : **n** = 100 leucocytes comptés dans 1 bande  
**D** = 40 (dilution au 1/40<sup>e</sup>)  
**V** = 1,25  $\mu$ L dans une bande

$$\mathbf{N} = (100 \times 40) / 1,25$$
$$\mathbf{N} = 3200 \text{ leucocytes}/\mu\text{L}$$

Remarque : Si le nombre moyen de leucocytes est > 200/bande, il est recommandé de réaliser une dilution  $\frac{1}{2}$  ou  $\frac{1}{4}$  sur la dilution initiale (penser à modifier le facteur de dilution dans le calcul (80 ou 160)

Fin.

**Tests rapides d'orientation diagnostique****SORTIR LES TESTS DU REFRIGERATEUR 10 MINUTES AVANT UTILISATION  
(UTILISATION A TEMPERATURE AMBIANTE)**

<b>TEST</b>	<b>TECHNIQUE</b>	<b>LECTURE</b>
<b><u>β hCG</u></b> <i>ABON™ - hCG</i> <i>Ref : FHC-111</i>	<b>Urines</b> 10-15 sec <u>Attention : limite d'immersion</u>	3 mn (<10 mn)
<b><u>Paludisme</u></b> <i>ParaHIT® - Total</i> <i>Ref : 55IC204-10</i>	<b>Sang Total</b> 8 µL (trait micropipette) dans (A) + 4 gouttes de tampon dans (B)	25 mn (<30 mn)
<b><u>Syphilis</u></b> <i>ABON™ - Bandelette Test</i> <i>Ultra Rapide Syphilis</i> <i>Ref : ISY-U401</i>	<b>Sérum ou Plasma</b> 50µL sur bandelette + 1 goutte de tampon	10 mn (<30 mn)
<b><u>Hépatite B</u></b> <i>ABON™ - HBsAg</i> <i>Ref : IHBsg-301</i>	<b>Sérum ou Plasma</b> 10-15 sec <u>Attention : limite d'immersion</u>	15 mn (<30 mn)
<b><u>VIH</u></b>		
<u>Dépistage :</u> <i>ALERE - Determine™</i> <i>Ref : 7D2343SET</i>	<b>Sérum ou Plasma</b> 50µL d'échantillon (pipette) <b><u>PAS DE TAMPON</u></b>	15 mn (<60 mn)
	<b>Sang Total (ponction veineuse)</b> 50µL d'échantillon (pipette) <u>Attendre 1 mn</u> 1 goutte de tampon	15 mn (<60 mn)
	<b>Sang Total (bout du doigt)</b> 50µL d'échantillon (capillaire) 1 goutte de tampon	15 mn (<60 mn)
<u>Confirmation :</u> <i>BIOLINE - SD</i> <i>Ref : 03FK16</i>	<b>Ponction veineuse</b> 10 µL (Sérum/Plasma) Ou 20 µL (Sang total) 4 gouttes de tampon*	10-20 mn
	<b>Bout du doigt</b> 20 µL (capillaire, trait noir) 4 gouttes de tampon*	10-20 mn

\*Tenir les flacons de tampon verticalement

## La conservation des réactifs et produits divers

---

### 1. Température de conservation

1.1. *A température ambiante* : les colorants en flacons bien bouchés

1.2. *Dans un réfrigérateur* : réactifs pour sérologie, biochimie, groupages sanguins ...  
Les réactifs doivent être gardés dans leur coffret d'origine

**2. La date de réception** d'un produit doit être inscrite sur l'emballage (de façon bien visible et avec une encre indélébile)

**3. Un coffret entamé doit d'être terminé avant d'en entamer un autre**

**4. Les notices doivent rester à l'intérieur des coffrets** jusque épuisement du coffret

**5. La date limite d'utilisation d'un coffret doit régulièrement être contrôlée**

Remarque : si au moment de la réception d'une commande l'un des produits présente une durée de validité jugée trop courte le produit sera renvoyé au distributeur

**6. Réactifs préparés par un(e) technicien(ne) au laboratoire**

6.1. *Le récipient qui les contient* (flacon, tube ...) doit comporter la désignation précise et ineffaçable du produit ainsi que la date de préparation du produit.

6.2. *Cas des sérums lyophilisés reconstitués*

.Si le sérum est conservé dans son flacon d'origine la date de reconstitution doit être portée sur l'étiquette du flacon.

.Si le sérum est réparti en aliquotes : sur chaque tube on doit porter le nom précis du sérum (par ex . Exatrol N » + la date de reconstitution.

*Attention* : chaque tube doit être bien bouché.

6.3. *Echantillons biologiques d'un patient (sérum, urine ...)*

Le contenant (tube, pot, flacon ...) doit comporter :

le nom, le prénom, la date de naissance du patient,

la date de prélèvement,

la nature de l'échantillon : sérum, plasma EDTA, plasma héparine ..., urine ...

Ne pas oublier de bien boucher le contenant.

## Elimination des déchets

---

### **I. Déchets assimilables à des ordures ménagères ne contenant pas d'informations confidentielles**

*(Coffrets vides de réactifs, emballages non souillés, papiers ne comportant pas d'informations confidentielles, gants non souillés, ...)*

Les jeter dans la poubelle du laboratoire puis les porter à l'incinérateur

### **II. Déchets assimilables à des ordures ménagères contenant des informations confidentielles**

Déchirer les documents en plusieurs morceaux puis les jeter dans la poubelle du laboratoire

### **III. Elimination des déchets à risque**

Déchets potentiellement contaminés par les produits prélevés aux patients :

- *Cotons souillés, papier absorbant, gants souillés, spéculum à usage unique*
- *Echantillons après analyse, (tubes de sang, flacon de recueil d'urine, écouvillons, selles, ...)*
- *Cônes, cupules*
- *Matériels piquant ou coupant (aiguilles et seringues, lames, lamelles, pipettes pasteur, ...)*
- *Déchets liquides des automates*
- *Restes de réactifs périmés*

Les introduire dans un sac poubelle en plastique contenu dans un seau muni d'un couvercle.  
Déchets incinérés périodiquement (environ 1 fois par semaine).

**NB : Les rejets de colorants** sont à verser dans un bidon bouché. Une fois plein, le bidon sera vidé dans un trou dans la terre

## **Pots d'eau de Javel sur les paillasses**

---

**L'opération doit être effectuée :**

- au moins 1 fois par semaine (lundi matin)
- ou, mieux, 2 fois par semaine (lundi et jeudi matin)

Ces pots sont destinés à recevoir les éléments contaminés par des produits biologiques (pipettes pasteurs pour frottis microbiologiques, lames pour examen parasitologique des selles, ...)

**1. Dissoudre 1 pastille de Javel dans 1 L d'eau**

Pastilles contenant environ 3 g de Troclosene sodique, 2 H<sub>2</sub>O

**2. Répartir cette solution dans 2 pots (bouteilles d'eau 1,5 L découpées)**

**3. Placer 1 pot sur la paillasse de chacune des pièces**

## **Liste des analyses du laboratoire**

---

### **Hématologie :**

- Dosage de l'hémoglobine
- Numération des leucocytes
- Formule sanguine
- Vitesse de sédimentation
- Groupage sanguin (ABO Rh)

### **Parasitologie :**

- Paludisme (frottis – goutte épaisse)
- Parasitologie des selles
- Recherche de bilharziose urinaire

### **Bactériologie :**

- Bandelette urinaire (BU)
- Examen Direct (leucocytes, hématies, cristaux)
- Coloration de Gram
- Recherche de tuberculose (coloration à l'auramine)

### **Tests de diagnostic rapide (TDR) :**

- VIH (Dépistage – Confirmation)
- Paludisme
- Hépatite B
- Syphilis (+ VDRL si besoin)
- $\beta$ -HCG (test de Grossesse)

+ glycémie (glucomètre)



**Annexe 20**

---

## **Entretien du microscope**

---

**par Laurence Bonte\***, \* Médecins Sans Frontières, Paris.

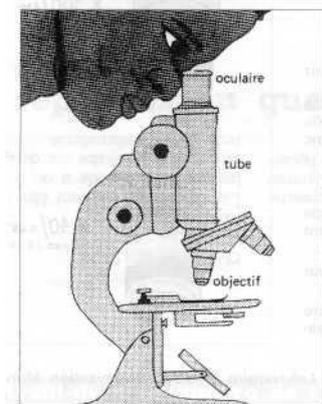
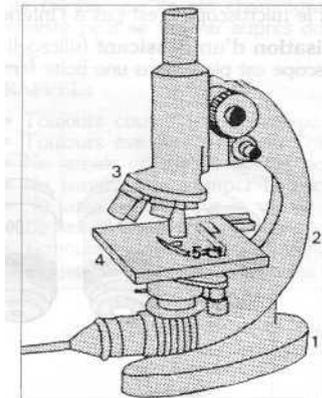
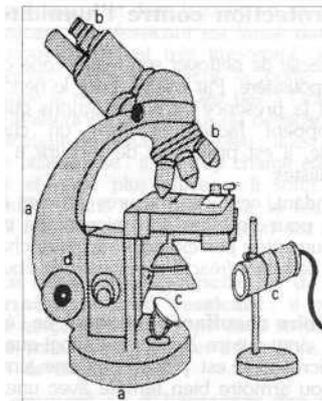
Le microscope est le principal outil de laboratoire en situation d'isolement. Il permet en effet le diagnostic de nombreuses infections bactériennes (tuberculose, méningite), parasitaires (paludisme, trypanosomiasés) et il apporte aussi une aide au diagnostic par la numération et l'identification des cellules dans les produits pathologiques (globules blancs par exemple).

Pour une lecture fiable, le microscope doit donc être en bon état. En effet, il est très difficile de lire avec des objectifs ou des oculaires sales ou rayés. On ne voit rien ou très mal. Les résultats rendus peuvent donc être incorrects à cause d'une mauvaise lecture.

La qualité des examens de laboratoire dépend donc de l'état du microscope et l'état du microscope dépend de l'entretien qu'on lui apportera.

Le microscope est également un instrument qui coûte très cher, c'est une raison supplémentaire pour en prendre grand soin.

- **Que faut-il entretenir sur le microscope ?**  
Toutes les parties du microscope sont à entretenir.
- **Contre quoi faut-il protéger son microscope ?**
  - .de la poussière,
  - .de l'humidité,
  - .des chocs.



## LE MICROSCOPE : RÉGLAGE ET ENTRETIEN

### COMPOSITION DU MICROSCOPE

Les différentes parties du microscope peuvent être classées en 4 systèmes :

- (a) système de support
- (b) système de grossissement
- (c) système d'éclairage
- (d) système de réglage.

#### A. Système de support

Il comprend :

1. le pied
2. la potence
3. le revolver porte-objectif
4. la platine
5. le chariot qui permet de déplacer lentement la lame de verre avec sa préparation.

#### B. Système de grossissement

Il est constitué par une combinaison de lentilles.

Les lentilles du microscope sont fixées en 2 assemblages, placés chacun à l'extrémité d'un long tube.

- le 1<sup>er</sup> assemblage de lentilles, situé en bas du tube, juste au-dessus de la préparation (l'objet) à examiner, est l'*objectif*.
- le 2<sup>e</sup> assemblage de lentilles est en haut du tube; on y place l'œil, c'est l'*oculaire*.

## **I. Les oculaires**

- **A. Protection de la poussière :** après utilisation, mettre une housse sur le microscope.
- **B. Nettoyage des oculaires :** la lentille externe (où on met l'oeil) se nettoie avec un chiffon sec ou un papier qui ne raye pas (papier spécial pour les lentilles, kleenex, sopalín, papier toilette). Ne jamais utiliser de xylène.

Si la lentille est sale (empreintes de doigts, taches de gras), on peut imbiber le chiffon ou le papier avec de l'alcool (éthanol, méthanol).

Les lentilles internes des oculaires se nettoient uniquement avec un pinceau fin, jamais autre chose et jamais d'alcool ou de xylène, cela les endommagerait (elles sont imprégnées d'un produit antireflet qui partirait).

Toujours éviter de dévisser les lentilles des oculaires (le faire uniquement lorsqu'il y a de la poussière à l'intérieur de l'oculaire).

## **II. Les objectifs**

- **A. L'objectif x100 à immersion :** essuyer l'huile après chaque utilisation avec un papier qui ne raye pas (papier lentille, kleenex, papier toilette).

Lorsque l'huile a séché, utiliser un papier imbibé légèrement avec du xylène ou du toluène. Ne jamais tremper l'objectif dans le xylène, cela décollerait les lentilles de l'objectif et rendrait le microscope inutilisable.

- **B. Les autres objectifs x 40, x 10 :** on peut les nettoyer avec un chiffon imbibé avec de l'alcool ou un mélange alcool-éther. Faire attention à ne pas utiliser de l'huile à immersion avec ces objectifs.

## **III. Le condenseur**

- **A. Poussière :** essuyer la lentille du condenseur avec un chiffon ou un papier qui ne raye pas.
- **B. Diaphragme :** pour enlever la poussière, utiliser un pinceau fin ou souffler de l'air avec une poire (poire optique pour appareil photo).

## **IV. Le miroir**

.Essuyer le miroir avec un chiffon ou un papier qui ne raye pas.  
.On peut imbiber légèrement le papier avec de l'alcool, jamais de xylène.

## **V. Le système électrique**

**Lampes, fusibles:** pas de réparation possible. Ce sont des pièces du microscope qui se changent, toujours en avoir en stock en faisant attention à avoir les bonnes références (il faut connaître les références de son microscope). Éviter de mettre les doigts sur la lampe en la changeant.

## VI. Autres entretiens

- **Graissage des crémaillères** (en général, elles sont protégées par une partie métallique): on peut les frotter avec de la cire, du savon si on n'a pas d'huile spéciale (ne jamais utiliser de l'huile de cuisine ou de l'huile à immersion).

Ne jamais essayer de démonter le microscope soi-même pour nettoyer le prisme, l'intérieur des objectifs ou toute autre partie du microscope non apparente.

- **Entretien des parties peintes:** il s'agit du pied du microscope et de la platine. Elles se nettoient avec un chiffon sec ou un chiffon avec de l'alcool. Ne jamais utiliser d'acétone, ni de xylène.

## VII. Protection contre l'humidité

Il est facile de nettoyer son microscope contre la poussière. Par contre, pour le nettoyer contre la présence de champignons qui se développent facilement dans un climat humide, il est préférable de recourir à des spécialistes.

Cependant, certaines mesures peuvent être prises pour protéger son microscope contre l'humidité: par exemple, armoire chauffante, dessicant (réactif protégeant de l'humidité).

- **Armoire chauffante:** nécessité de l'électricité vingt-quatre heures sur vingt-quatre. Le microscope est placé dans une simple boîte ou armoire bien fermée avec une ou deux lampes de 40 watts. Les lampes doivent rester constamment allumées, même quand le microscope n'est pas à l'intérieur.

**Utilisation d'un dessicant** (silicagel): le microscope est placé dans une boîte fermée hermétiquement dans laquelle on placera du dessicant. Le dessicant est laissé dans une soucoupe et il est très important de bien refermer hermétiquement la boîte même lorsque le microscope n'est pas à l'intérieur. On utilisera de préférence du dessicant avec indicateur de saturation; bleu: il est bon à être utilisé, rose: il est trop chargé en humidité et n'est plus efficace. Il suffit de le chauffer (dans une poêle sur le feu) pour qu'il retrouve sa couleur bleue et soit à nouveau efficace.

- **En absence d'électricité ou de boîte hermétique avec dessicant:** il ne faut pas ranger le microscope dans sa boîte en bois, mieux vaut le laisser à l'air libre recouvert de sa housse.
- **Comment se débarrasser des champignons:** seul un spécialiste peut débarrasser le microscope de ses champignons. Le spécialiste peut se trouver auprès du fabricant du microscope). L'idéal serait de faire nettoyer son microscope par un spécialiste au moins une fois par an.

•

**OBJECTIFS**

(a) *Grossissement*  
il est indiqué, pour chaque objectif, par un chiffre gravé sur la monture :  
- l'objectif 10× grossit 10 fois  
- l'objectif 40× grossit 40 fois  
- l'objectif 100× grossit 100 fois

(L'objectif 100 est en général marqué par un cercle rouge, il s'utilise à l'immersion dans l'huile.)

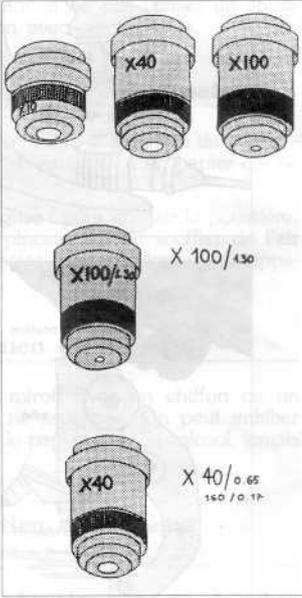
(b) *N° d'ouverture numérique*  
C'est un autre chiffre gravé à côté du grossissement, par exemple :  
- 0,30 pour un objectif 10×  
- 0,65 pour un objectif 40×  
- 1,30 pour un objectif 100×

Plus ce chiffre est grand, plus grand est le pouvoir séparateur (qui permet de distinguer 2 points très rapprochés).  
(Par ailleurs, plus ce chiffre est grand, plus petite est la lentille frontale montée à la base de l'objectif ; celle de l'objectif 100× à immersion à la grosseur d'une tête d'épingle : il faudra donc la traiter avec précaution.)

(c) *D'autres chiffres peuvent être gravés sur la monture :*  
*longueur en mm recommandée pour le tube du microscope* (distance entre l'objectif et l'oculaire) — le plus souvent 160 mm  
*épaisseur en mm recommandée pour la lamelle à placer sur la lame porte-objet* — par exemple 0,17.

Le pas de vis de tous les objectifs est standard, c'est-à-dire que les objectifs du revolver porte-objectif sont interchangeables.

(Schémas : d'après *Manuel des Techniques de Base pour le Laboratoire Médical*, Organisation Mondiale de la Santé.)



### VIII. Protection contre les chocs

Au laboratoire, le microscope doit être posé sur un endroit bien stable, évitez de le déplacer trop souvent. Il faut toujours porter le microscope avec ses deux mains.

- **Comment protéger son microscope pour un transport en brousse :** il doit être calé dans une boîte rembourrée de mousse ou à défaut de papier. Pendant le voyage, une personne tiendra le microscope pour qu'il ne saute pas dans la voiture. Son transport ne se fera qu'en cas de nécessité (il faut éviter les transports au maximum). Il existe des boîtes spéciales permettant de fixer le microscope à la boîte (vis ou cale-pied).

#### **RAPPEL:**

- Toujours couvrir le microscope de sa housse après utilisation.
- Toujours essuyer l'huile sur l'objectif à immersion après utilisation.
- Ne jamais utiliser de xylène pour autre chose que l'objectif à immersion.
- Ne jamais faire tremper l'objectif dans le xylène.
- Ne jamais forcer sur la vis de mise au point.
- Ne jamais laisser le microscope en plein soleil.
- Toujours mettre le microscope sur un plan stable, le manipuler avec précaution.
- Ne jamais démonter soi-même le microscope.

*Développement et Santé, n° 113, octobre 1994*