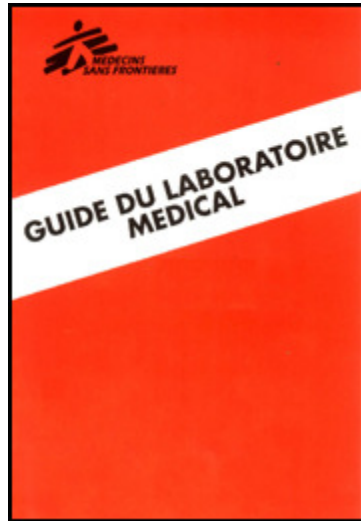







EFFACER PAGE D'ACCUEIL AIDE PRÉFÉRENCES

rechercher sujets titres a-z organisations comment



ETENDRE REDUIRE  
DÉTACHER SOMMAIRE TEXTE

 Guide du laboratoire médical (MSF, 1994, 116 p.)

-   *(introduction...)*
-  Introduction
- Organisation et planification d'un laboratoire pour un début de mission: Laboratoire type 1
- Organisation du laboratoire type 2
- Principales et résultats des examens de laboratoire les plus couramment utilisés
- Rappel essentiel des techniques
- Nettoyage et entretien du matériel - destruction des prélèvements et désinfection
-  Incidents - Accidents du laboratoire - Précautions à prendre
- Transport d'échantillons
- Méthode d'évaluation de la fiabilité interne dans un laboratoire
- Annexes
- Références

## Guide du laboratoire médical (MSF, 1994, 116 p.)

Deuxième édition - septembre 1994

Guide du laboratoire médical en situation précaire

CE GUIDE EST COORDONNÉ PAR CORINNE LACROIX DEPUIS 1987.

AVEC LA PARTICIPATION DE: (par ordre alphabétique)

MARIE-NOELLE BARTHOD, SABINE BOHINEUST, LAURENCE BONTE, MARYSE CANEL, JOELLE CHASTANG, ELISABETH DAM, ODILE GAUVIN, CHRISTINE GUIDAL, FABIENNE HEMME, NICOLE NAMIN, JACQUES PINEL, PIERRE DE RAUCOURT, JEAN RIGAL.

RELECTURE ET MISE EN PAGE:

PATRICE LAUNAY ET ANNIE ARBELOT

## Introduction

Ce guide est particulièrement destiné aux techniciens laboratoire devant installer un laboratoire ou en assurer le fonctionnement lorsqu'il existe déjà, en situation d'isolement, le plus souvent en pays tropicaux. Les remarques et orientations proposées ci-dessous ont pour base l'expérience de nombreuses personnes ayant travaillé en laboratoire en France et à l'étranger, au sein d'équipes médicales.

Bien sûr, dans ce type de laboratoires tropicaux, il faut savoir s'adapter aux moyens disponibles pour la thérapeutique: besoins prioritaires, population cible, nombre de consultations par jour, effectif des techniciens travaillant au laboratoire... Egalement tenir compte des contraintes logistiques, techniques, qui interviendront alors en temps et en qualité sur le fonctionnement propre du laboratoire, d'où la mise en place d'examens **essentiels**, volontairement limités pour les raisons évoquées ci-dessus. Il est fondamental de comprendre que, dans un tel contexte, plus un laboratoire est compliqué, moins il a de chance de survivre à celui qui l'a mis en route.

On s'aperçoit, avec l'expérience de plusieurs années en laboratoire de terrain, que les mêmes examens de base se retrouvent dans ce type de laboratoire. Il apparaît nécessaire d'en connaître les limites, mais surtout éviter leur extension en diversité et en nombre, par des demandes inappropriées et inutiles dans la démarche essentiellement clinique de médecins sur le terrain. D'où l'importance d'une discussion et d'un travail commun dans l'équipe médicale avec le (la) technicien(ne) qui a, dans ce cadre, un autre rôle que celui d'un(e) simple exécutant(e). Cela permettra de bien cerner les priorités et, éventuellement, de décider d'autres examens complémentaires et/ou spécifiques à une pathologie locale non négligeable dans le **temps**, en un **lieu** donné et touchant une proportion anormalement élevée de la population: endémie (trypano., SIDA...) ou épidémie (peste, choléra...). On peut se permettre alors, sans restriction et avec les personnes concernées, de répondre à de telles demandes.

Nous ne prétendons pas apporter une formation technique car il ne s'agit pas ici d'expliquer en détail chaque technique d'examen (à l'exception des nouvelles non encore répertoriées) mais de sélectionner certaines d'entre elles parce qu'elles se sont révélées les plus simples et/ou les plus facilement réalisables sur le terrain, tout en restant fiables. On y trouve également des indications pratiques et petits "trucs" expérimentés sur place, complémentaires des connaissances de base. Il ne s'agit pas non plus de donner des explications concernant la lecture des lames.

On trouvera en annexe différentes méthodes, feuilles de surveillance, plans, listes de matériel et réactifs minimum indispensables à emporter ou à se procurer sur place, ainsi que des fiches de commande standards correspondant au minimum cité ci-dessus.

Nous sommes parfois amenés à transporter des prélèvements lors de tournées en brousse, ou sur un centre de référence, dans le pays même, ou à l'extérieur. A la fin du propos, on trouvera quelques conseils permettant de préparer ces échantillons dans des conditions acceptables pour le transport.

Ce guide complète l'ouvrage de référence en laboratoires tropicaux qu'est le "Manuel des techniques de base pour le laboratoire médical", Organisation

Mondiale de la Santé (OMS), toujours mondialement diffusé et disponible en français, en anglais ou en espagnol et traduit localement au Laos, au Vietnam et au Cambodge.

Il existe également des cours de formation standards adaptés au même contexte.

Dans tous les cas d'ouverture de laboratoire, s'informer sur le matériel, réactifs, disponibles localement, sur la quantité disponible régulièrement ou non, le prix, la péremption, etc., afin de commander à l'extérieur uniquement le complément.

Peu à peu, nous en venons à ce type de démarche logique, évitant ainsi l'ouverture inutile de laboratoires, l'apport de réactifs/matériel mal adaptés, non utilisés, trop sophistiqués...

Tel est notre concept du laboratoire, complément direct ou indirect au diagnostic, indispensable dans certains cas, inutile dans d'autres. Il faut toujours tenir compte du contexte et le respecter, sans pour autant accéder à des demandes diffuses, pour un travail mal défini dont les résultats n'apportent pas toujours d'éléments décisifs. On retiendra finalement que le laboratoire est avant tout un moyen pour des fins **médicales réalistes**.

## **Organisation et planification d'un laboratoire pour un début de mission: Laboratoire type 1**

### **Types de missions**

Laboratoire pour un camp de personnes déplacées en train de s'établir (population plus ou moins connue, pathologie incertaine, conditions de travail mal définies), laboratoire de centre de santé périphérique ou d'un hôpital.

Ce laboratoire sera en mesure de réaliser les examens essentiels nécessaires aux activités curatives et de santé publique.

### **Principales fonctions du (de la) technicien(ne)**

- A l'arrivée, installation judicieuse du laboratoire.
- Organisation dans l'espace et le temps de l'activité avec le personnel disponible. - Exécution des analyses essentielles.
- Tenue d'un registre de consommation pour le matériel et les réactifs. - Préparation des commandes minimum destinées à reconstituer les réserves.
- Tenue à jour d'un premier cahier d'enregistrement avec tous les examens et résultats, identification la meilleure possible du malade, lieu

d'habitation, date d'arrivée au camp, date de prélèvement (afin de faciliter l'interprétation des résultats dans un but épidémiologique). Compléter par des registres spécifiques selon le type de prélèvement si l'activité est très importante.

- Rédaction d'un rapport mensuel d'activité. - Relevé statistique semestriel ou trimestriel à l'aide d'un recueil standard des données (annexe 7, page 91).

- Formation d'aides et/ou technicien(ne)s de laboratoire.

Ce laboratoire sera destiné à rester tel quel. La structure temporaire d'un camp ne permet pas d'extension comme dans un hôpital.

Au terme du premier mois, le (la) technicien(ne) et l'équipe médicale essayeront de dresser un bilan succinct de la place du laboratoire au sein de la mission en fonction du devenir de cette mission et de la pathologie rencontrée.

### Liste des examens essentiels et complémentaires

Cette liste comprend les techniques minima qu'un laboratoire peut exécuter à l'aide de matériel et réactifs très simples.

Examens essentiels	Méthode	Temps total théorique de l'analyse
<b>SELLES</b>		
protozoaires et œufs	Examen direct/Lugol	10 min
<b>URINES</b>		
Chimie	Uristix - Hémacombistix	1 min
<b>SANG</b>		
Parasites	Coloration RAL 555	20 min
(paludisme, microfilaires)	ou Field A/B	
	ou Giemsa	
<b>EXPECTORATIONS</b>		
Bacilles acido-alcoolo-résistants	Coloration de Ziehl-Neelsen ou de Kinyoun	30 min
<b>Options*</b>		
<b>SANG</b>		

Groupage sanguin (facultatif)	Sérums test Anti A, Anti B. Anti A + B	2 min
Hémoglobine	Hémoglobinomètre de Lovibond sans dilution du sang	2 min
HIV 1 et 2*	Test rapide de dépistage (HIV check ou HIV spot)	10 min
URINES (si bandelette positive)		
Examen du culot	Examen microscopique	15 min
(parasites cellules, sédiments) .	à l'état frais coloration	
LCR		
Bactériologie	Coloration au bleu de Méthylène, ou au Gram.	10 min
Slidex méningite Kit	Agglutination latex (A, B, C, pneumocoques H. influenzae)	

## Matériel et réactifs nécessaires pour le laboratoire type 1

Kit de base + kit spécifique selon la pathologie (plus les options).

### Attention:

- Les délais de transport peuvent être longs: en tenir compte lors des commandes.
- Pour permettre un démarrage immédiat, les réactifs et colorants de ce type de laboratoire sont prêts à l'emploi ou rapides à préparer (bleu de méthylène...).

## Organisation du laboratoire type 2

Ce laboratoire est dans la continuité du premier dans le cas des hôpitaux. Ses fonctions auront été définies au terme du bilan du premier laboratoire (voir rappel du bilan: densité de population, environnement, accessibilité, matériel, approvisionnement, pathologie rencontrée, liste des examens que l'on sera amené à faire). Chaque examen complémentaire nécessitant de nouvelles techniques, donc matériel/réactifs nouveaux, aura été médicalement justifié (donc après discussion avec l'équipe). On considérera surtout le fait que tout apport supplémentaire de résultats au laboratoire oriente effectivement mieux le diagnostic et la thérapeutique ou permet de donner l'étiologie directe d'une infection à caractère prioritaire.

## Types de missions

- Mission d'éducation/formation, prévention sur plusieurs mois.
- Mission avec plusieurs laboratoires: un laboratoire central polyvalent (type 2), desservant plusieurs petits laboratoires monovalents (type 1).
- Camps de réfugiés, moyen terme, à très forte pathologie. Enquêtes spécifiques ponctuelles (ex.: SIDA, malaria, fièvres inexplicées, etc.).
- Programmes spécifiques sur une maladie donnée (ex.: trypanosomiase, malaria, etc.).

### Principales fonctions du (de la) technicien(ne)

- Voir laboratoire type 1: organisation - supervision du laboratoire.
- Préparation des réactifs à partir des poudres disponibles hors kit.
- Formation de base ou complémentaire aux aides de laboratoire ou techniciens susceptibles de s'occuper du laboratoire ultérieurement. Ceci doit être fait dans l'optique de permettre un fonctionnement continu du laboratoire type 2 après notre départ.
- Enquêtes épidémiologiques

Ce type d'enquête n'est en aucun cas à l'initiative du seul laboratoire. Ces enquêtes doivent répondre à un **besoin prioritaire** dans le contexte de la mission. Un protocole (systématique) établi par l'équipe, sur conseil d'épidémiologistes, permettra de définir les objectifs, le déroulement, l'expression des résultats, l'analyse de ces résultats et les orientations ou actions à entreprendre dans le programme pré-existant, le dernier point étant toujours le but de ce type d'enquête: arriver à répondre à un problème médical important, bloquant ou ralentissant un programme, par le moyen de l'enquête, et permettant d'avancer.

### Liste des examens essentiels et complémentaires

EXAMENS ESSENTIELS	MÉTHODE	TEMPS TOTAL THÉORIQUE DE L'ANALYSE.
SANG		
Parasites (hématozoaires du paludisme Microfilaires - Trypanosome)** .	Coloration coffret RAL ou Field A/B ou Giemsa	20 min
Drépanocytes	Test d'Emmel avec métabisulfite*	60 min

Trypanosomes**	Examen microscopique direct	20 min
Chimie (Glucose)	Bandelettes	10 min
EXPECTORATIONS ET SÉCRÉTIONS NASALES		
Bacilles acido-alcool résistants .	Coloration de Ziehl Neelsen ou de kinyoun	30 min
SELLES		
Parasites (protozoaires et œufs)	Examen direct/Lugol	10 min
Recherche d'œufs d'oxyures	Scotch test anal	3 min
URINES		
Biochimie	Bandelettes réactives	1 min
Cytologie	Examen microscopique	
Parasitologie (hématobium trichomonas)	à l'état frais du culot de centrifugation	15 min
Bactériologie*	Bleu de méthylène ou Gram	
LCR		
Evaluation des protéines	Pandy Test ou autre	5 min
Numération des éléments figurés.	Hématimètre de Neubaner ou Nageote ou Malassez	10 min
Formule	Field A, Field B ou RAL	15 min
Bactériologie*	Bleu de méthylène ou Gram	10 min
SÉCRÉTIONS GÉNITO-URINAIRES		
Parasites	Préparation directe à l'état frais	5 min
Gonocoques	Bleu de méthylène ou Gram	10 min
PEAU		
Microfilaires**	Biopsie Cutanée Exsangue	15 min
Bacille de Hansen	Coloration de Ziehl Neelsen modifiée	20 min
Leishmanies	Coloration de Field	15 min
LIQUIDE D'ASCITE ET PLEURAL		
Evaluation des protéines	Rivalta	5 min

Numération	Hématimètre de Neubauer	10 min
<b>Options</b>		
Numération des globules blancs	Hématimètre de Neubauer ou Nageotte ou Malassez	10 min
Groupes sanguins***	Sérums test (Anti A, Anti B. Anti A + B)	2 min
V.S	Méthode de Westergren	60 min
Hémoglobine	Hémoglobinomère de Lovibond	2 min
HIV 1 et 2**	Test rapide de dépistage (HIV check ou HIV spot...)	10 min
Hématocrite	Centrifugeuse	5 min
Leishmaniose viscérale	Formol Gel Test	20 min
Coloration de Gram		15 min
<b>EXPECTORATIONS ET SÉCRÉTIONS NASALES</b>		
Œufs de douves de poumon	Par centrifugation + NA OH	15 min

\* Remarque importante sur coloration de Gram (voir page 49)

\*\* Voir chapitre "Rappel essentiel des techniques" - Remarque microfilaires - Trypanosomes

\*\*\* Tests à mettre en place pour toutes transfusions.

**Examens pour enquêtes** (Sh. Mansoni / Haematobium / Malaria):

Selles:

Concentration de KATO (qualitative et quantitative)  
Concentration de WILLIS (qualitative)

Urine:

Filtration millipore (qualitative et quantitative)



Sang:

Test "in vivo" sur 7 jours (OMS, voir Guide Paludisme, Médecins sans Frontières) - Résistance

*Examens spécifiques* (Trypanosomiase, Brucellose, SIDA...) à chaque mission selon le programme pour la pathologie locale.

## **Matériel et réactifs nécessaires pour le laboratoire à type 2**

Dans les guides médicaux MSF vous trouverez la liste standard de tous les réactifs/matériel nécessaire pour les techniques **essentiels** et non complémentaires. Ces feuilles vous permettront d'établir et d'envoyer votre commande **réelle, adaptée** pour votre mission.

## **Principales et résultats des examens de laboratoire les plus couramment utilisés**

Ce chapitre s'adresse aussi bien aux personnels médicaux prescripteurs qu'aux techniciens de laboratoire.

## **Étalement mince et goutte épaisse: recherche de paludisme**

(\*toujours associés si possible)

### INDICATIONS

- Pratique inutile en l'absence de fièvre, ou si la fièvre est inférieure à 38°.
- Confirmer si possible le diagnostic de paludisme par ces deux examens avant de traiter, mais traiter si la réponse du laboratoire risque d'être trop longue.
- Indiquer la température sur la feuille de demande d'examen.
- Type de fièvre:
  - fièvre intermittente ou permanente, avec céphalée et/ou frissons et/ou vomissements,
  - fièvre non due à une infection pulmonaire.
- Faire l'étalement et la goutte épaisse si possible au moment des frissons ou du pic de température.

### **Remarque**

Lorsque l'on sait que le paludisme est hyperendémique et à variation saisonnière (saisons des pluies), il n'est pas toujours indispensable ni possible (surcharge de travail du laboratoire) de confirmer un diagnostic de paludisme par une lame.

**Exemple:** contrôle de 100 lames demandées pour diagnostic de malaria par les prescripteurs, dont 70% sont positives dans la tranche d'âge des 0 à 10 ans, laboratoire surchargé: la consigne est de traiter uniquement sur la clinique pour une période donnée (saison des pluies?).

**Attention** à l'éventualité de diagnostics différentiels possibles et fréquents, tels que borréliose, typhus, arbovirose, méningites, dans certaines zones!

### RÉSULTAT

Une réponse n'a de valeur dans ce cas-là que si elle est transmise à temps:

- Si le résultat est positif: indication du traitement antipaludéen.
- Si le résultat est négatif: rechercher une autre cause de fièvre.

**Attention:** les gouttes épaisses sont parfois faussement positives: elles doivent être toujours bien examinées et contrôlées.

Dans tous les cas, l'association **étalement mince + goutte épaisse est recommandée.**

### **Goutte épaisse recherche de microfilaires ou de trypanosomes**

#### INDICATIONS

##### **- Microfilaires**

Œdème important d'un membre, du scrotum, hydrocèle, prurit et arthralgies associées.

Remarque: le prélèvement peut se faire à 12 h ou 24 h selon la périodicité de la microfilaire. Pas de recherche de microfilaire si prurit isolé. En fait, la recherche de la microfilaire n'a d'intérêt que dans le cas de l'infestation par la Loase ou la W. bancrofti.

##### **- Trypanosome**

Essentiellement en zone d'endémie et évoqué sur l'association des signes suivants, à des degrés variables, suivant la phase de la maladie:

- céphalées
- douleurs articulaires
- prurit
- asthénie
- amaigrissement
- splénomégalie
- hépatomégalie
- adénopathie
- fièvre
- troubles du sommeil
- pertes de mémoire
- réflexe palmo-plantaire
- œdème de la face
- œdème des membres

## RÉSULTAT

### - *Microfilaires*

- microfilaire indéterminée: recommencer l'examen pour le typage;
- *W. bancrofti*: en référer au médecin;
- *Loa-Loa*: en référer au médecin.

Si l'examen répété plusieurs fois reste négatif malgré de fortes présomptions cliniques (œdèmes, éléphantiasis), en référer au médecin.

La recherche de microfilaires dans le sang n'a d'intérêt que dans la Loase. Par ailleurs, le traitement par la diéthylcarbamazine comporte des effets secondaires dangereux et seul un médecin peut le prescrire, en milieu hospitalier et sous surveillance rigoureuse.

La recherche du diagnostic ainsi que le traitement ne se conçoivent donc qu'en cas de gêne fonctionnelle très invalidante.

### - *Trypanosome*

Si les résultats sont négatifs et la clinique évocatrice en zone d'endémie, il ne faut pas hésiter à répéter les gouttes épaisses et les examiner minutieusement: il faut savoir que pour la trypanosomiase à Gambiense, la parasitémie est très variable. Pour la trypanosomiase à Rhodesiense, on arrive généralement à trouver le parasite si l'on fait un examen par pur pendant 12 jours.

Il existe d'autres examens plus sensibles pour la recherche de trypanosomes, mais ils se conçoivent surtout dans le cadre d'un programme de lutte régionale, avec une stratégie de dépistage actif + passif (voir pages 30 et 31).

Si l'examen est positif, en référer au médecin.

## Numération formule sanguine

### INDICATIONS

Devant une infection cliniquement évidente, ne pas demander cet examen: par exemple, en cas de paludisme ou de méningite purulente...

La Numération Formule Sanguine (NFS) ne devrait se concevoir qu'en milieu hospitalier et être uniquement prescrite par un médecin pour des indications sélectionnées telle une maladie fébrile que l'on hésite à traiter par une antibiothérapie, ou lorsqu'une leucopénie ou une éosinophilie pourrait être un argument diagnostique.

### RÉSULTAT

#### NFS - Numération Formule Sanguine

##### *a) Numération des globules blancs*

- Chiffres normaux

- nouveau-né 10.000 à 20.000 leucocytes/mm<sup>3</sup>
- nourrisson (3 à 9 mois) 4.000 à 15.000 leucocytes/mm<sup>3</sup>
- enfant de 3 ans 4.000 à 11.000 leucocytes/mm<sup>3</sup>
- >10 ans 4.000 à 10.000 leucocytes/mm<sup>3</sup>

- Chiffres élevés

L'hyperleucocytose commence chez l'adulte au-dessus de 10.000/mm<sup>3</sup>. Elle est nettement anormale au dessus de 12.000/mm<sup>3</sup>.

- Dans diverses infections bactériennes, elle peut atteindre 15.000, 20.000, 40.000/mm<sup>3</sup>.
- Dans les leucémies, les leucoses (rares), on peut trouver 50.000, 100.000 et plus leucocytes/mm<sup>3</sup> (= un cancer du sang).

- Chiffres abaissés

La leucopénie est plus rare. Il faut d'abord songer à une erreur de comptage et refaire une numération. Elle commence au-dessous de 3.500/mm<sup>3</sup>.

Elle peut être due à:

- certains cas d'infection (paludisme, typhoïde, leishmaniose viscérale...);
- des médicaments (chloramphénicol, dapsone);
- certains cas très rares de leucémie.

**Remarque:** un résultat de numération des leucocytes comporte en moyenne une marge d'erreur de 500 en plus ou en moins lorsque la numération est effectuée par un laborantin entraîné.

### b) Formule leucocytaire

La formule est d'interprétation délicate mais d'une grande utilité.

Son interprétation doit absolument s'effectuer d'après les chiffres absolus (c'est-à-dire avec numération)

Résultats normaux	Nouveau-né	1 à 4 jours	1 à 4 ans	10 ans	Adulte
Polynucléaire Neutrophile	55 - 65%	40 - 45%	36 - 48%	45- 55%	55- 65%
Lymphocyte	30 - 35%	40 - 48%	44 -54%	38 - 45%	25 - 35%
Monocyte	3 - 6%	5 -10%	3 - 6%	3 - 6%	3 - 6%
Polynucléaire Eosinophile	2 - 4%	2 - 5%	2 - 5%	2 - 5%	2 - 4%
Basophile	0 - 1%	0 -1%	0 à 1%	0 à 1%	0 - 1%

Calcul du nombre absolu des différents types de globules blancs:

$$\text{Nombre absolu} = \frac{\text{nombre de leucocytes /mm}^3 \times \% \text{ globules blancs spécifiques}}{100}$$

Pour les polynucléaires neutrophiles par exemple:

$$\text{Ex} = \frac{8.500 \times 55}{100} = 4.675$$

Il y a 2 types de formules normales:

1. la formule avec majorité de lymphocytes

chez:

nourrisson  
enfant de moins de 10 ans

2. la formule avec majorité de polynucléaires neutrophyles

chez:

adulte  
enfant de plus de 10 ans  
nouveau-né

N.B: toujours garder en mémoire que la formule leucocytaire normale en nombre absolu est très différente chez l'enfant et chez l'adulte.

### ***Interprétation des résultats anormaux***

#### ***a) Augmentation des polynucléaires neutrophiles - Nombre absolu***

Cela signifie presque toujours une infection bactérienne aiguë, soit localisée (donc toujours rechercher un foyer infectieux), soit généralisée.

Cette infection nécessite toujours un traitement aux antibiotiques.

#### ***b) Augmentation des lymphocytes (lymphocytose) - Nombre absolu***

Cela peut signifier soit:

- une infection virale (grippe, rougeole...). En cas d'une rougeole (exp. broncho-pneumonie), on aura une augmentation des neutrophiles;
- un paludisme (confirmation par recherche des hématozoaires sur la lame);

- une tuberculose (confirmation par recherche des BK dans les crachats);
- une typhoïde;
- une augmentation des lymphocytes est souvent associée à une infection chronique.

***c) Augmentation des monocytes (monocytose) - Nombre absolu***

En référer au médecin.

→ En cas d'augmentation des lymphocytoses et/ou des monocytoses, l'interrogatoire et l'examen clinique du malade sont très importants pour établir le diagnostic exact.

***d) Augmentation des éosinophiles - Nombre absolu***

Elle peut signifier soit:

- une parasitose: bilharziose, filaire, ankylostomes, ascaris, tænia, anguillules (confirmation par la recherche du parasite en cause);
- une allergie: asthme

**Test d'Emmel**

*(méthode au métabisulfite ou à la parafine)*

**INDICATIONS**

En cas de suspicion de drépanocytose (HbS), anémie de l'enfant avec:

- grosse rate,
- déformations et/ ou douleurs osseuses articulaires,
- gros foie, retard de croissance.

**RÉSULTAT**

- Si le résultat est négatif: éliminer la drépanocytose.
- Si le résultat est positif: en référer au médecin.

## **Evaluation du taux d'hémoglobine(Hb)**

### INDICATIONS

En cas de suspicion clinique d'une anémie importante (pâleur des conjonctivites, etc.), l'évaluation du taux d'hémoglobine permet:

- de déterminer l'importance de l'anémie,
- de voir s'il faut éventuellement transfuser,
- de pouvoir suivre évolution de l'anémie sous traitement.

### RÉSULTAT

#### *Hémoglobine*

Valeurs normales:

- homme 13 à 17 g%
- femme et enfant 12 à 15 g%
- femme enceinte 11 à 15 g%

#### *Diminution de l'hémoglobine (Hb)*

#### **Anémie**

La plupart des anémies sont liées à un manque de fer, soit dues à un apport insuffisant (carence nutritionnelle très fréquente dans le Nord), soit dues à des pertes chroniques (grossesses répétées, ankylostomes). Les anémies seront traitées par du fer et acide folique ou, très rarement, par une transfusion.

Il ne faut cependant pas négliger les autres anémies qu'on peut rencontrer:

- paludisme sévère;
- carence en acide folique (surtout chez la femme enceinte);



- drépanocytose (anémie de l'enfant associée à une hépatosplénomégalie, test d'Emmel +): ne jamais donner du fer, la drépanocytose exigeant un traitement spécifique;
- inflammations chroniques (tuberculose...);
- ankylostomiase: parasite de l'intestin.

Il existe d'autres causes rares d'anémie qui sont difficilement décelables dans ce type de laboratoire.

- Anémie chronique

**L'anémie s'est développée en plusieurs semaines, plusieurs mois ou années.**

- Hb > 10 g% : anémie modérée, le traitement n'est pas indispensable.
- Hb 5 -10 g%: anémie importante, traitement médical.
- Hb < 5 g% : anémie grave, discuter d'une éventuelle transfusion en fonction du risque vital et du risque de contamination HIV.

- Anémie aiguë

L'anémie se développe en quelques heures (hémorragie interne ou externe). Dans ce cas, l'hémoglobine n'est pas un bon reflet de l'importance de l'anémie. C'est sur la clinique (TA, pouls, pâleur) que l'on se basera pour décider du traitement et éventuellement sur l'hématocrite.

**Très important:** si l'anémie est due à une carence de fer et d'acide folique, l'hémoglobine doit, sous traitement, remonter de 4 g/mois à partir des 10 premiers jours de traitement.

## Vitesse de sédimentation

### INDICATIONS

- Très peu spécifique dans le contexte décrit.
- Permet de suivre l'évolution de maladies sous traitement comme la tuberculose.

### RÉSULTAT

Valeur normale: < 25 mm/heure

Une VS anormale indique toujours un état pathologique: inflammation, infection, anémie, cancer... Elle ne permet pas le diagnostic de la maladie. Elle peut être très élevée dans certaines maladies, et plus particulièrement dans la tuberculose ( $\pm 100$ ). Elle doit diminuer quand la tuberculose évolue favorablement.

**Important:** une VS normale exclut le diagnostic de tuberculose, une VS élevée n'affirme rien (contexte multi-infectieux).

## Examen de selles

### INDICATIONS

Seulement en cas de diarrhée sanglante.

- Définition d'une diarrhée: selle d'aspect liquide, émise plus de trois fois par jour.
- Pas d'examen de selles si il s'agit d'une diarrhée simple, constipation..
- En cas de douleur abdominale, un examen de selles est rarement utile..
- En cas de diarrhée sanglante, l'examen des selles permet de faire le diagnostic différentiel entre une dysenterie amibienne et une dysenterie bacillaire ou une schistosomiase intestinale aiguë.
- On se trouve trop souvent confronté à une surprescription d'examens de selles sans que la notion "selles muco-sanglantes" soit vérifiée.
- Toutes les formes kystiques des formes végétatives déjà connues ne sont pas à traiter.

### RÉSULTAT

La découverte d'oeufs ou de kystes dans les selles n'implique pas automatiquement que ces parasites soient responsables des symptômes pour lesquels on a demandé l'examen de selles!

Exemple:

diarrhée → examen de selles → oeufs d'ascaris

ceux-ci n'ont pas provoqué la diarrhée

Les résultats suivants doivent être considérés comme **non pathologiques** et ne justifient pas de traitement:

- Bacillose, colibacilles, nombreux bacilles
- Trichomonas: sauf s'ils sont vraiment très nombreux (+ + + +) et accompagnent une diarrhée.
- Kystes d'E. hystolitica ou forme minuta non accompagnée d'une diarrhée sanglante et/ou glaireuse. En effet, en Afrique, plus de 10% de la population est porteuse de kystes ou de forme minuta sans pour autant être malade (amibiase - infestation). Il ne faut traiter que l'amibiase maladie avec diarrhée sanglante.
- Kystes E. Coli / Giardia - Intestinalis.

Les résultats suivants doivent être comme **pathologiques**:

- Leucocytes + + +: traitement le plus souvent symptomatique; une antibiothérapie sera rarement nécessaire (Bactrim\* par exemple).
- Globules rouges macroscopiques et/ou **microscopiques**.
- E. hystolitica (forme hématophage).
- Helminthiases (vers ronds, vers plats, bilharziose).

En cas de découverte d'amibe, le (la) technicien(ne) doit toujours spécifier de quelle espèce il s'agit et, s'il s'agit d'E. hystolitica, de quelle forme (kyste ou forme hématophage).

## **Examen de crachat**

### INDICATIONS

Pour recherche de BK et plus rarement des œufs de douve du poumon (P. Westermani - Asie - Afrique).

**A faire pour toute personne toussant et crachant depuis plus d'un mois, ou crachant du sang.**

- 3 crachats au moins avant thérapie.	
- 3 crachats après 2 mois	selon les protocoles nationaux
- 3 crachats après 6 mois	

- La demande d'une coloration de Gram paraît inutile connaissant la flore saprophyte dans la gorge et sur les lames **non stériles** en milieu ou l'aseptie n'est pas respectée.

## RÉSULTAT

- Si il se révèle 3 fois négatif: ne pas traiter, éventuellement en référer au médecin si on suspecte quand même une tuberculose.

- Si il est positif au moins une fois: traiter la tuberculose.

## Ponction lombaire (examen du L.C.R.)

### INDICATIONS

- Suspicion de méningite (fièvre avec céphalée, raideur de nuque, vomissements)
- **Coma** avec fièvre élevée (40°C)

Pour faire la différence entre:

- une méningite purulente,
- un paludisme cérébral,
- une méningite tuberculeuse (fièvre moins élevée),

demander un comptage et identification de cellules + évaluation des protéines (test de Pandy ou gamme opacimétrique si le liquide n'est pas purulent).

Si le liquide est trouble, jaune ou purulent, demander une "différenciation" des microbes par un bleu de méthylène ou un Gram.

## RÉSULTAT

L.C.R normal:

- clair
- moins de 5 cellules/mm<sup>3</sup>
- Pandy négatif (recherche de protéines) ou résultat c <0,40 mg/ml.
- pas de germe
- pression: goutte à goutte

	<b>Méningite bactérienne</b>	<b>Méningite virale</b>	<b>Méningite tuberculeuse</b>	<b>Trypanosomiase</b>	<b>Cryptococcus</b>
Aspect	trouble	clair	clair ou citrin	clair	clair
Cellules	polynucléaires 200-5000/mm <sup>3</sup>	lymphocytes 100-700/mm <sup>3</sup>	lymphocytes 100-1000/mm <sup>3</sup>	lymphocytes + cel. de Mott 5-200/mm <sup>3</sup>	?
Réaction					
Pandy	+	-	+	-	?
ou autre	0,40 mg/ml	<0,40	>0,40	> 0,40 - 0,7	?
Germes	méningo ou pneumo ou H. influenzae	non trouvés	exceptionnellement trouvés	trypanosomes cellules t de Mot	cryptococcus neoformans
Pression	++++	N à+	+++	+++	++++

Les autres méningites étant très rares et leur diagnostic difficile, nous n'en parlerons pas.

**Remarque:** si il s'agit d'un paludisme cérébral, le L.C.R est entièrement normal; on observe rarement une légère lymphocytose.

## Examen de pas urétral

### INDICATIONS

Toujours faire cet examen en cas de suspicion de gonorrhée chez l'homme. Jamais chez la femme.

Si possible, jamais de traitement de gonorrhée chez l'homme sans examen clinique et laboratoire préalable.

### RÉSULTAT

Gono (+): traiter.

## **Examen d'urine**

### INDICATIONS

- Symptôme d'infection urinaire (sédiment uniquement)
- Urines troubles (sédiment uniquement)
- Urines sanglantes avec fièvre (sédiment + bandelette)
- Douleur lombaire unilatérale avec fièvre (S + B)
- Œdème:
  - généralisé (S +B)
  - des membres inférieurs
  - du visage
- Hypertension artérielle (S + B)
- Mauvais état général d'origine indéterminée (S + B)
- Maladie du foie (sédiment inutile)
- Ictère (sédiment inutile)

- Pas d'examen d'urine pour recherche de gonorrhée.

- Chez la femme enceinte, on peut faire une bandelette urinaire si elle présente des œdèmes des jambes ou de l'hypertension.

### RÉSULTATS

La connaissance clinique des différentes maladies urinaires est très importante pour en faire le diagnostic différentiel.. Le laboratoire nous apporte cependant une aide précieuse.

Les résultats suivants n'ont aucune signification précise et ne justifient pas de traitement:

- bacilles, colibacilles, nombreux bacilles,
- tous les cristaux,
- rares ou quelques leucocytes  
cellules épithéliales  
globules rouges,
- gonocoques, diplocoques: impossible à déterminer sur des urines,
- protéines aux bandelettes: traces.

S'il y a des trichomonas dans les urines, refaire un examen urétral. Si ce deuxième examen est négatif, ne pas traiter.

#### RÉSULTATS PATHOLOGIQUES: SÉDIMENT + BANDELETTE

##### ***- Urines rouges ou non macroscopiquement***

Sédiment: globules rouges ++ +/+ + +

Bandelette: GR ++ +/+ + +

Protéines +

= **hématurie**

Souvent cette hématurie est accompagnée de globules blancs.

##### • Causes d'hématurie:

###### 1. Bilharziose

2. Calcul vésical
3. Glomérulonéphrite aiguë
4. Cancer
5. Tuberculose

- Hématurie (38,5°C), démarche à suivre:

Hématurie + sans fièvre



Traiter pour bilharziose si zone d'endémie



Si pas d'amélioration après 15 jours, en référer au médecin

Hématurie avec fièvre:

Faire un examen complet d'urines:

1. Glomérulonéphrite:

sang dans urines + œdèmes + tension artérielle trop élevée.  
 + cylindres de globules rouges dans les urines  
 + protéines dans les urines + globules blancs.

2. Surinfection de lésion de tuberculose ou cancer des voies urinaires.

3. Surinfection de lésion de bilharziose.

L'hématurie avec fièvre est toujours à référer au médecin.

**- Leucocytes supérieurs à 5 par champ (objectif 40 x)**

Accompagnés souvent de

nitrite ++ /+++



protéines ++ /+++  
 cellules épithéliales ++ /+++  
 et parfois de GR

**= infection urinaire:**

basse - pas de cylindres et pas de fièvre,

haute - il existe des cylindres (épithéliaux, granuleux, leucocytaires ou hématiques) et de la fièvre.

→Traiter.

**- Protéines**

- Associée à

hématurie	
leucocytes	voir ces paragraphes
nitrites +	

- Isolée:

+ : sans signification	en référer
+++ : syndrome néphrotique problème rénal grave	

Vérifier s'il n'existe pas une HTA (hypertension artérielle).

Pendant la grossesse, l'albuminurie (++, +++) peut être le premier signe d'une prééclampsie. Il faudra donc surveiller cette grossesse de près (poids, TA, œdèmes...).

**- Glucose**

Diabète sucré.

A confirmer par recherche de la glycémie (bandelette, hémoglukotest, diastix, kéto-diastix, kéto-diabur).

### **- Corps cétoniques**

- Si les corps sont isolés → non pathologique, malade à jeun.
- Si ils sont associés au glucose → diabète.

## **Examen recherche bacille Hansen: Lèpre**

### INDICATIONS

Pour les suspicions de lèpre borderline ou lépromateuse si le type de lèpre n'est pas évident cliniquement, on fera:

- un prélèvement nasal,
- un prélèvement lobe de l'oreille: prélèvement non sanglant,
- un prélèvement dans une tache: prélèvement non sanglant.

### RÉSULTAT

- Si positif, lèpre lépromateuse ou borderline: traiter.
- Si négatif, faire revenir le patient 6 mois après pour voir s'il y a apparition de lésions typiques ou non.

## **Ponction d'ascite et ponction pleurale**

### INDICATIONS

Demander l'évaluation des protéines (réaction de Rivalta) et comptage des cellules avec formule.

Ceci pour faire la distinction entre les différentes causes d'épanchements.

### RÉSULTAT

**- Ponction d'ascite**

Origine	Apparence	Protéines	Rivalta	Densité	Cellules par mm <sup>3</sup>
<b>TRANSSUDATS</b>					
Cirrhose	jaune	moins de 25 g/l	-	inf. à 1016	polynucléaires moins de 250 mm <sup>3</sup> + cellules endothéliales
Cause cardiaque	jaune	moins de 25 g/l	-	inf. à 1016	500 à 1000/mm <sup>3</sup> pas plus de 1000 mononuclées + cellules endothéliales
Cause rénale	jaune ou blanchâtre	moins de 25 g/l	-	inf. à 1016	-**
<b>EXSUDATS</b>					
Tuberculose	claire ou trouble ou blanchâtre hémorragique	plus de 25 g/l	+	sup. à 1016	500 à 1000/mm <sup>3</sup> ou plus de 1000 plus de 70% de lymphocytes
Cancer	jaune ou blanchâtre hémorragique	plus de 25 g/l	+	sup. à 1016	500 à 1000/mm <sup>3</sup> ou plus de 1000 cellules variables

\*\* Remarque : protéine dans les urines + + + (bandelette).

**- Ponction pleurale**

Origine	Apparence	Protéines	Rivalta	Densité	Cellules par mm <sup>3</sup>
<b>EXSUDATS</b>					
Cause cardiaque ou rénale	claire	moins de 25 g/l	-	inf. à 1015	peu de cellules
<b>TRANSSUDATS</b>					
Pleurésie bactérienne	purulente	plus de 25 g/l	+	sup. à 1018	nombreux polynucléaires bactéries (+) au bleu de méthylène
Tuberculose	claire parfois jaune citrin parfois hémorragique	plus de 30 g/l	+	sup. à 1018	petits lymphocytes nombreux
Cancer	hémorragique	plus de 35 g/l	+	sup. à	

				1015	globules rouges supérieurs à 10.000/mm <sup>3</sup>
--	--	--	--	------	---

## Formol Gel test: pour suspicion de leishmaniose viscérale

*(Kala-Azar)*

### INDICATIONS

- Examen peu spécifique. En zone d'endémie de malaria, schistosomiase, syphilis, seul un résultat **négatif** permettra **d'infirmer** un diagnostic de leishmaniose.

- Une ponction sternale uniquement permettrait de donner l'étiologie directe, par observation des leishmanies. Mais le prélèvement est délicat et est à effectuer par un médecin.

voir le test d'agglutination (DAT).

### RÉSULTAT

- Confirmer par la ponction sternale.

- Référer le malade pour exploration

## Biopsie cutanée exsanguie (B.C.E.)

### INDICATIONS

Symptômes:

- peau de "lézard"
- nodules sous-cutanés
- atteinte oculaire
- prurit associé

- Deux biopsies en deux lieux différents (omoplate, crête iliaque, mollet...) au moins.

- Cet examen sera demandé seulement en zone d'endémie où un protocole de traitement de masse a été mis en place (ivermectine).

## RÉSULTAT

- Si positif, vérifier par coloration qu'il s'agit bien d'onchocerca volvulus.
- Si négatif, R.A.S. ou prélever en d'autres endroits.

## Rappel essentiel des techniques

### Examens de sang

#### *Recherche d'hématozoaires du paludisme*

- Prélèvement si possible au bout du doigt au moment de l'accès fébrile (> 38°C, l'exiger), ou pendant les frissons.
- Faire un frottis mince sur lame propre et dégraissée. Sécher à l'air, mettre à l'abri de la lumière et des mouches.

Coloration au Giemsa ou coloration rapide avec le coffret RAL ou FIELD (voir techniques de coloration).

- La goutte épaisse est une méthode de microconcentration, permettant de rechercher une parasitémie basse effectuée systématiquement avec le frottis. Le diagnostic d'espèces se fera sur le frottis. Le nombre de G.E faussement positives est fréquent. Donc, être vigilant pour la lecture. Lors de programmes de formation, les deux sont à enseigner en mettant en évidence leurs différences techniques et leur complémentarité (rarement connues et mal utilisées à Juste titre).

#### *Recherche des microfilaires sanguicoles et trypanosomes*

##### *- Les microfilaires*

- Examen d'une ou deux gouttes à l'état frais (la filarémie est plus élevée dans les premières gouttes de sang capillaire), plus frottis et goutte épaisse. Ces 3 examens doivent être faits pendant 3 purs à la même heure. Il est conseillé d'utiliser la coloration de Giemsa plutôt que le RAL, celle-ci donnant une coloration irrégulière. La méthode par centrifugation manuelle n'est pas efficace.
- Le prélèvement tiendra compte de la périodicité de certaines microfilaires diurnes et nocturnes.

##### *- La Trypanosomiase à Trypanosoma Gambiense*

- La recherche directe du trypanosome dans le sang sans méthode de concentration s'avère inutile, même en recherchant durant 7 jours à raison d'un état frais + frottis minces + gouttes épaisses chaque jour. Un jour suffit et donne les mêmes résultats.
- De même, la triple centrifugation manuelle n'est pas suffisante. Des kits spécifiques avec des techniques appropriées sont proposés dans le cadre de programmes actifs de dépistage où les tests et techniques les plus réalisables sur le terrain seront mis en œuvre = test CATT, micro-colonne, micro-capillaire.

*Remarque:* Si le malade présente des adénopathies, prélever du suc ganglionnaire, les trypanosomes y sont toujours plus concentrés que dans le sang (de 50% à 80% de positivité).

### Sensibilité relative des méthodes de dépistage du trypanosoma Gambiense par ordre de sensibilité croissante

Matériel biologique et méthodes			Limite inférieure approximative (en nombre de parasites par ml de sang)
Sang	Suc ganglionnaire	Liquide céphalo-rachidien	
Frottis mince/frottis frais	Frottis frais	Préparation à l'état frais	$10^4$
Frottis épais		Centrifugation simple	$5 \times 10^3$
Centrifugation en tube capillaire (W.O.O.)		Double centrifugation	$5 \times 10^2$
Échange d'anions sur colonne de DEAE-cellulose* (MAECT)			$10^2$
Q.B.C. (hématocrite en fluorescence)			$10^2$
Inoculation à l'animal			1

\* Diéthylaminoéthyl-cellulose

### Formule leucocytaire et numération des globules blancs

- La numération se fait à l'aide d'une pipette de Thoma et une cellule de Neubauer, ou Malassez ou autre. Le liquide de dilution utilisé sera la solution de Türk (composition en annexe) à fabriquer sur place (voir le tableau "Cellules à numération", page 44).

- Pour les habitués, l'observation d'un frottis coloré renseigne sur un bon nombre d'éléments; anémie avec hypochromie ou non, diminution ou augmentation importante des globules blancs avec polynucléose ou lymphocytose, éosinophilie (intéressante en parasitologie), Drepanocytose, éventuellement thalassémie, leucémie, etc...

### ***Rappel Giemsa***

Il existe deux colorants de Giemsa: le Giemsa rapide (GIEMSA R) et le Giemsa lent (GIEMSA L).

- Le GIEMSA R est préparé de façon à permettre une action colorante en 10 minutes. Au-delà, ce sont les excédents de colorants basiques qui agissent faiblement. Il est utilisé pour les frottis secs, les gouttes épaisses. Le Giemsa R doit être dilué au 1/20 en Tampon pH 7.

- Le GIEMSA L est préparé de façon à permettre une action colorante en 20 minutes. Il est utilisé pour les frottis humides et les coupes. La dilution peut varier en fonction des applications, pour les coupes on dilue au 1/20 en Tampon pH 7.

La différence entre R et L réside dans **l'excédent de colorants basiques** qui retarde la précipitation de l'éosinate d'azur.

En raison de la complexité du mode d'action des colorants neutres, il est nécessaire d'établir des conditions standards de coloration pour assurer **une bonne qualité de coloration et une bonne reproductibilité**. Ces conditions doivent tenir compte des caractéristiques des produits utilisés, en particulier pour le Giemsa:

- concentration en matière colorante de la solution méthanolique commerciale (elle peut varier de 0,5 à 1,1%);
- action colorante métrachromatique durant la phase de diffusion dans l'eau:
  - 10 minutes pour le GIEMSA R,
  - 20 minutes pour le GIEMSA L;
- action nulle lorsque la précipitation est complète;
- précipitation accélérée en milieu acide, en présence de dépôt de colorant, de corps métallique, et par forte agitation;
- la qualité et la reproductibilité de la coloration ne sont garanties qu'en cas de dilution du colorant de Giemsa avec une solution tampon pH 7; l'emploi d'eau non tamponnée est fortement déconseillé car des variations imprévisibles et incontrôlables peuvent survenir. Les mélanges d'eau sont tout aussi aléatoires.

**COFFRET RAL 555 (MEME UTILISATION QUE FIELD A ET B)**

Pour la coloration rapide des frottis et goutte épaisse (pas fixation).

Le coffret RAL 555 permet, par une méthode rapide, la coloration différentielle des cellules, des parasites du sang, L.C.R. Non recommandé pour la différenciation des microfilaires: coloration trop rapide.

***Liquide***

Il est composé de 3 solutions:

- Solution I: 125 ml méthanol, à renouveler régulièrement dans les pays à degré hygrométrique élevé par du méthanol pur - analyse.
- Solution II: 125 ml solution aqueuse éosine RAL, **stable 1 an** à température ambiante, à filtrer régulièrement.
- Solution III 125 ml solution aqueuse, bleu de méthylène RAL, **stable 6 mois** à température ambiante en stock, 2 mois à partir de l'utilisation, à filtrer régulièrement. Attention à la péremption du bleu plus courte que l'éosine.

***Poudre***

Présentation

1 coffret code 362 280 comprenant:

- 1 dose éosine RAL 555, poudre, pour 1 litre
- 1 dose bleu de méthylène RAL 555, poudre, pour 1 litre
- 2 doses tampon RAL 555, poudre, pour 2 fois 1 litre

Stabilité: 5 ans

Usage: in vitro A

**Préparation**

- Solution d'éosine RAL 555:



- Dissoudre 1 dose tampon RAL 555 dans 1 litre d'eau distillée ou déionisée.
- Dans cette solution, dissoudre progressivement la poudre d'éosine RAL 555.
- La solution obtenue est stable 1 an à  $22^{\circ} \pm 5$ .

- Solution de bleu de méthylène RAL 555:

- Dissoudre la deuxième dose tampon RAL 555 dans 1 litre distillée ou déionisée.
- Dans cette solution, dissoudre progressivement la poudre de bleu de méthylène RAL 555.
- A partir de la mise en service, cette solution évoluera plus ou moins rapidement pour les raisons suivantes:
  - Par suite du transfert d'éosine RAL 555, il y a formation d'éosinate de bleu de méthylène qui précipite.
  - Les quantités sont faibles mais, après de nombreux passages (environ 200), il y a diminution du pouvoir colorant.
  - Le bleu de méthylène RAL 555 est à un degré d'oxydation partielle. Il tend vers une oxydation complète qui modifie ses qualités tinctoriales.
  - Il peut être nécessaire de prolonger le temps de coloration dans la solution de bleu de méthylène RAL 555 pour obtenir les mêmes résultats qu'avec la solution fraîche.

### Utilisation

- Suivre le protocole habituel, ci-joint.
- Comme fixateur, vous pouvez utiliser le fixateur RAL 555 code 362783 ou bien du méthanol pur.

**Attention:** le Field A et B utilise la solution bleu avant l'éosine, les gouttes épaisses sont donc fixées, le bleu contenant de l'alcool. **Inverser le processus.**

### *Temps de coloration*

<b>FORMULE SANGUINE (interprétation comme pour les colorations classiques)</b>
--

Plonger le frottis 5 fois 1 seconde dans la solution I. Egoutter l'excédent sur papier filtre.	Plonger le frottis 5 fois 1 seconde dans la solution II. Bien égoutter l'excédent. Ne pas laver.	Plonger le frottis 5 fois 1 seconde dans la solution III. Laver rapidement à l'eau déminéralisée.
<b>PALUDISME / PIROPLASMOSE</b>		
Plonger le frottis 1 minute dans la solution I. Rincer à l'eau ou pas. (si GE, ne pas fixer donc ne pas plonger dans la solution mais déhémoglobiner avant la solution II)	Plonger le frottis 2 fois 1 seconde dans la solution II. Rincer rapidement à l'eau.	Plonger le frottis 2 fois 1 seconde dans la solution III. Laver à l'eau courante.
<b>FILARIOSE / TRYPANOSOME</b>		
Plonger le frottis 10 fois 1 seconde dans la solution I. Egoutter l'excédent sur papier filtre.	Plonger le frottis 10 fois 1 seconde dans la solution II. Bien égoutter l'excédent. Ne pas laver.	Plonger le frottis 10 à 20 fois 1 sec. dans la solution III. Laver à l'eau courante.
<b>TRICHOMONASE</b>		
Plonger le frottis minute 15 secondes dans la solution I.	Plonger le frottis 1 minute dans la solution II. Essorer sur papier filtre.	Plonger le frottis 1 minute dans la solution III. Laver à l'eau déminéralisée

Inutile d'utiliser de l'eau de rinçage tamponnée pour le RAL, contrairement au Field A/B et au Giemsa.

### ***Mise en évidence du drépanocyte*** (Test d'Emmel)

La drépanocytose ou anémie à hématies falciformes est suffisamment grave et fréquente chez les sujets de race noire pour qu'on en fasse la recherche par un examen simple, le test d'Emmel ou test de falcification des hématies.

### *Matériel*

- Garrot
- Vaccinostyle
- Lame et lamelle
- Paraffine - vernis à ongle non conseillé

### *Technique*

- Enrouler le garrot, bien serré, à la base d'un doigt (facultatif).
- Le laisser ainsi 4 min pour priver les hématies d'oxygène.
- Piquer le bout du doigt avec le vaccinostyle.
- Recueillir une goutte de sang sur la lame.
- Ajouter une goutte de sérum physiologique.
- Poser la lamelle sur la préparation.. Ne pas piéger de bulle d'air, sinon recommencer.
- Luter à la paraffine, à l'aide d'un fil de fer chauffé dans la flamme. Les 4 bords de la lamelle doivent être parfaitement scellés. On peut remplacer la paraffine par du vernis à ongle.
- Attendre 2 heures.
- Examiner la lame avec l'objectif x 40, les hématies privées d'oxygène se déforment en faucille, et crénelées.
- Renouveler la lecture à 8 heures, 10 heures, 24 heures, car la falciformation apparaît lentement.

Technique avec métabisulfite: voir livre OMS = préférer cette technique.

### ***Groupes sanguins***

Sérum Anti A, Anti B. Anti A + B

- Maintenir les sérums tests au froid si possible, surtout l'anti-D.
- Ils se conservent 3 mois à température normale.
- Les sérums de groupe se conservent mieux à température constante (il est préférable de les conserver toujours à 30° plutôt que un pur à 4° et le lendemain à 30°).

**Remarque:** si sérums périmés, avant de les jeter, les tester sur des groupes préconnus!

### *Technique de groupage sanguin*

En milieu isolé, le groupage d'un sujet s'effectue au moyen de manipulations mais rigoureuses de sérum-test. L'idéal serait d'éliminer tout risque d'erreur transfusionnelle en déterminant le groupe A, B, AB ou O ainsi que le rhésus.

Cependant, dans la plupart des pays, outre la rareté de l'indication des transfusions, on insistera sur la rareté des groupes rhésus négatifs, assertion à moduler selon les données épidémiologiques du pays concerné.

D'autre part, le sérum-test anti D est 3 fois plus cher que les sérum-tests anti-A, anti-B et anti-AB. Il se conserve très mal et donne, à cause de cette thermolabilité, de faux résultats nombreux, même s'il est rigoureusement conservé à + 4°C (voir document MSF:).

Par contre, il est très facile de conserver les autres sérum-tests qui supportent très longtemps des variations de température, en les isolant après usage dans un trou creusé dans la terre à environ 1 mètre du sol.

Pour ces deux raisons, risque minime d'accident dû à l'isoimmunisation rhésus, et au peu de fiabilité du sérum test anti D, on se contentera la plupart du temps de la détermination du groupe.

En urgence, et en l'absence de laboratoire, on prélève 3 gouttes de sang du malade, que l'on dispose suffisamment à l'écart les unes des autres, sur une plaque de verre, ou de faïence blanche. Sur chacune des gouttes, et **dans l'ordre**, on laisse tomber une goutte de sérum anti-A pour la première, anti-B pour la seconde, anti-AB pour la dernière.

Mélanger chaque goutte avec son sérum-test soit avec un applicateur différent pour chaque goutte, soit avec un coin différent d'une lame de verre, pendant une vingtaine de secondes, en imprimant à l'applicateur un mouvement hélicoïdal.

### *Qualité du sang à transfuser*

La règle, c'est de transfuser du sang **isogroupe isorhésus**.

Mais nous avons déjà discuté de l'opportunité de la détermination du rhésus.

En cas d'extrême urgence et de pénurie, on est autorisé à transfuser du sang du groupe O à n'importe quel receveur, tout en sachant que l'on multiplie ainsi les risques d'incompatibilité.

L'épreuve d'incompatibilité entre donneur et receveur, dite "crossmatch", est inutile si elle n'est pas effectuée rigoureusement, car elle donne de faux résultats dans ces conditions. Si il n'est pas possible de la confier à un laborantin vraiment compétent, il est préférable de s'abstenir. Le mélange d'une

goutte de sang du donneur à une goutte du receveur n'est pas une épreuve biologique si les G.R ne sont pas lavés à l'eau physiologique, ou si on n'utilise pas une solution d'albumine bovine (voir livre OMS).

Bien entendu, se rajoutent à toutes ces conditions techniques de transfusion l'état de santé du donneur = hémoglobinopathies, déficience en G6PD, maladies infectieuses (filarioses, leishmanioses, SIDA...), à éviter soigneusement.

### ***Recherche de la glycémie***

A l'aide des bandelettes réactives, combur test ou autre. Présente un intérêt uniquement si les personnes peuvent ensuite être référées pour une prise en charge de cette pathologie (traitement disponible).

### ***Hémoglobine***

Seule la technique la plus fiable sera retenue: méthode du comparateur Lovibond. Voir le descriptif de la technique Lovibond en annexe n°4 (la méthode de Sahli est fortement déconseillée).

### ***Hématocrite***

- Nécessaire dans certaines missions chirurgicales (traumatologie hémorragique, utilisée par l'anesthésiste pour bilan pré-opératoire).

- Non indispensable dans un laboratoire de camp de réfugiés ou hôpital si la méthode Lovibond (hémoglobine) est déjà utilisée et si la dengue hémorragique ne sévit pas dans la zone. En cas contraire, l'hématocrite est recommandée.

### ***Formol Gel Test pour suspicion de Leishmaniose viscérale***

Prélever 5 ml de sang veineux dans un tube sec.

Prélever 1 ml de sérum (sans éléments figurés) dans un petit tube test.

Ajouter 2 gouttes de solution Formol à 40% et mélanger.

***Réaction positive:*** le sérum devient blanc (blanc d'œuf dur). Parfois seule une apparence lactée sans solidification dans les Kala-azar précoces.

***Réaction négative:*** sérum inchangé ou blanc après 1/2 heure ou sérum solidifié mais non blanc (chez patients atteints de paludisme, shistosomiasis et certaines formes de lèpre et syphilis).

La ponction sternale permet de donner l'étiologie directe, par observation des leishmanies. Mais prélèvement délicat à effectuer par des habitués.

Autre test: test agglutination rapide (DAT).

### ***Tests rapides de terrain***

L'évolution des techniques diagnostiques s'oriente maintenant vers des tests simples, rapides et surtout fiables.

Chaque test est à replacer dans le contexte épidémiologique (prévalence élevée...) où il doit être utilisé. Il fait généralement partie d'un protocole de dépistage et de traitement bien défini.

Il faut aussi savoir que tout test au latex est peu sensible.

### **Sérologie HIV 1 et HIV 2**

Dans le but d'éviter toute transmission du HIV lors des transfusions sanguines, un test rapide de dépistage des anticorps anti-HIV 1 et anti-HIV 2 indifférenciés a été choisi pour le terrain. Sa sensibilité est de 99% et sa spécificité de 99,9%.

Ce test est rapide (5'), thermostable, individuel (1 goutte de sérum = 1 test), et convient donc à de petites séries hebdomadaires, dans des centres médicaux ou des hôpitaux où le nombre de transfusions est réduit au minimum vital.

**Il est impératif de confirmer les résultats par une technique de référence plus spécifique, si le résultat est rendu au donneur ou à un éventuel suspect clinique (cela dépend des protocoles en place).**

Nom: **HIVCHECK** mis au point par Dupond-de-Nemours et vendu par Orthodiagnostique (France). On le trouve également commercialisé sous le nom de **HIVSPOT** par Diagnostique cher que le premier.

D'autres tests existent:

- Testpack: HIV 1 et 2 indifférenciés (Abbott), plus cher, thermolabile.
- Recombigen: HIV 1 et HIV 2 différenciés (Biocambridge), thermolabile.

Ils ne correspondent pas aux critères de choix de MSF à cette date.

### **Sérologie trypanosome**

Dans le cadre du programme de dépistage de masse du Trypanosoma Gambiense, le CATT (Card Agglutination Trypanosoma Test) est utilisé.. Ce test

se pratique sur sang total et/ou sérum par dilutions successives. L'agglutination directe sur carte et sa sensibilité élevée (mais qui varie selon les souches) en font un test de tout premier ordre. Il est réalisable en équipe mobile à l'aide de matériel 12 volt.

Il est nécessaire cependant de chercher le Trypanosome dans les ganglions, le sang (microcapillaire ou microcolonne ou QBC) et/ou le LCR pour objectiver systématiquement le diagnostic..

[voir fichés techniques du "Manuel pour la lutte contre la Trypanosomiase", OMS]

### **Sérologie des leishmanies (Kala-azar)**

Dans le cadre de dépistage du Kala-azar, Leishmaniose viscérale, un test direct d'agglutination est maintenant utilisable sur le terrain: le DAT (Direct Agglutination Text). Il détecte les anticorps anti-Leishmania. Le seuil de dilution est à déterminer pour chaque zone. La titration s'effectue en microplaque et la lecture de l'agglutination est visuelle.

C'est encore un test expérimental en voie d'amélioration (simplifications + + +).

Centres où se le procurer: "Royal Tropical Institut" d'Amsterdam, "IMT" d'Anvers (voir adresses à la fin du Propos).

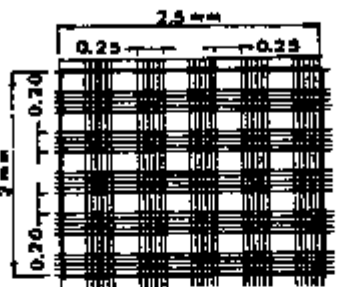

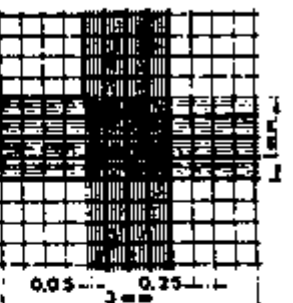
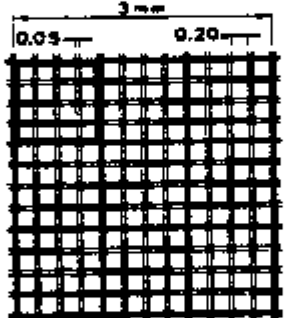
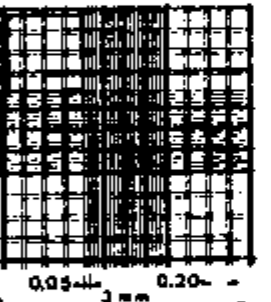
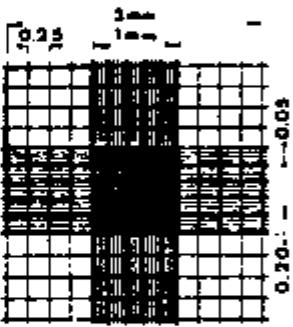
Pour chaque zone il paraît indispensable d'évaluer l'importance du problème avant d'utiliser ce test (confirmer les cas par l'observation des Leishmanies au microscope). Attention aux réactions croisées.

**CELLULES A NUMERATION "ROGO"**




REFERENCE, LAB. INSTRUMENT

- Taille optique et quadrillages de Haute Précision
- Visibilité optimale des traits.
- Tolérance de profondeur, de distance des traits, de planéité, conformes aux Spécifications Européennes pour la Classe "ETALONNABLE"



NUMERATIONS GLOBULAIRES		
<p><b>MALASSEZ</b> Prof. 0,2 mm <u>Référence</u> Quadrillage simple: CE 700 001 Quadrillage double: CE 710 001</p> <p style="text-align: center;">VOLUME = 1 mm<sup>3</sup></p> 	<p><b>THOMA</b> Prof. 0,1 mm <u>Référence</u> Quadrillage simple: CE 700 002 Quadrillage double: CE 710 002</p> <p style="text-align: center;">VOLUME = 0,1 mm<sup>3</sup></p> 	<p><b>NEUBAUER</b> Prof. 0,1 mm. <u>Référence</u> VOLUME = 0,1 mm<sup>3</sup> Quadrillage double: CE 710 003</p> 
<p><b>BURKER</b> Prof. 0,1 mm <u>Référence</u> VOLUME = 0,1 mm<sup>3</sup> Quadrillage double: CE 710 006</p> 	<p><b>TURK</b> Prof. 0,1 mm <u>Référence</u> VOLUME = 0,1 mm<sup>3</sup> Quadrillage double: CE 710 009</p> 	<p><b>NEUBAUER MODIFIEE</b> Prof. 0,1 mm <u>Référence</u> VOLUME = 0,1 mm<sup>3</sup> Quadrillage double: CE 710 004</p> 

**NUMERATIONS RACHIDIENNES et URINAIRES**

<p><b>MAGEOTTE</b></p> 	<p><b>LEMAUR</b></p> 	<p><b>FUCHS ROSENTHAL</b> Prof. 0,2 mm</p> <p style="text-align: center;">VOLUME = 0,2 mm<sup>3</sup></p> 
--	--	---



Cellules à numération

## **Examens des crachats - sécrétions nasales - tubage gastrique**

### ***Recherche du Bacille de Koch***

La fiabilité de cet examen est très importante.

- Le mode de prélèvement peut poser des problèmes, car on n'a pas toujours des récipients adéquats.

Effectuer les prélèvements dans de petites bouteilles de verre très bien nettoyées de leur contenu préalable (mais il se produit rapidement une séparation eau-parties glaireuses qui rend le prélèvement de la parcelle purulente difficile) ou encore crachats recueillis dans des boîtes en carton improvisé" sur place, prélèvement de la parcelle purulente et étalement de préférence avec une anse de platine (si on n'en possède pas, utiliser une petite tige de fer ou de bois).

**NB:** Ne jamais réutiliser un récipient ayant contenu un prélèvement positif. Toujours refuser la salive.

- Laisser sécher. Fixer de préférence à l'alcool méthylique ou flamber à la flamme.

- Coloration de Ziehl-Neelsen (voir techniques de coloration) ou de Kinyoun.

Lecture et si nécessaire évaluation quantitative des BK.

**Résultat:** Obtenir 3 négatifs ou 2 positifs par patient. Un négatif seulement ne peut être accepté comme tel.

**NB:** Rappel des colorations

- Coloration de Kinyoun (à froid):

Voir Livre OMS.

Le plus souvent, il faudra décolorer une deuxième fois pendant une minute à l'alcool acide car la première décoloration laisse parfois un dépôt sur toute la lame.

- Coloration de Ziehl-Neelsen:

Voir livre OMS.

Dans les deux cas, l'alcool acide peut être préparé avec du Méthanol au lieu de l'Ethanol.

La Fuschine et le bleu de méthylène, qu'ils soient préparés sur place ou non, doivent être filtrés.

- Lecture minimum = 100 champs ou 15' (si négatif).

### ***Recherche des oeufs de douves du poumon***

- Mettre dans un tube une quantité égale de crachats et de soude à 3%, bien mélanger. Laisser agir 15 min avant de centrifuger.

- Centrifuger. Lecture entre lame et lamelle.

### ***Recherche de Bacille de Hansen***

- Grattage et écouvillonnage nasal, bien appuyé ou (et) prélèvement de la sérosité de l'oreille après incision ou vaccinostyle (éviter le saignement qui gêne la lecture).

- Même fixation que pour la recherche de BK

- Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (voir fiche technique chap. VIII)

## **Examens de selles**

### ***Examen parasitologique des selles***

Là encore on ne saurait que recommander de se procurer des flacons à prélèvement jetables. Si ce n'est pas le cas, il est donc souvent impossible de recueillir les examens dans des récipients corrects et on a constaté que souvent les selles étaient apportées sur des morceaux de papier, carton, etc.

Comme, dans la plupart des cas, le contenant est absorbant, il faut observer les selles au microscope le plus rapidement possible.

Noter l'aspect des selles (glaires ? sang ?...), leur couleur... Pour la recherche de schistosomes, prélever sur le dessus d'une grande partie de selles.

Prélever dans les glaires et le sang si l'on veut trouver des formes végétatives d'amibes . Si le microscope ne comprend pas de micromètre, il sera difficile de faire une différenciation exacte entre toutes les formes d'amibes. Mais il est cependant possible pour quelqu'un d'expérimenté d'apprécier sans micromètre le taux approximatif de parasites par lame, et les formes essentielles pathologiques (formes végétatives de flagellés et amibes hématophages) et c'est cela qui importe, les kystes de toutes sortes étant sans signification et surtout, non traitables..

### *Examen microscopique direct*

Il suffit presque toujours en milieu tropical.

- Prélever un petit fragment de selles dilué dans une goutte de sérum physiologique: examen entre lame et lamelle.
- Eventuellement, ajouter une goutte de Lugol (colore la chromatine des noyaux et les vacuoles iodophiles).

L'examen direct permet de retrouver tous les œufs et larves des helminthes intestinaux, les formes végétatives des amibes, flagellés et ciliés. Il permet de faire le diagnostic différentiel entre une dysenterie amibienne (amibe hématophage) et une dysenterie bacillaire ou virale et amibe non pathogène.

En laboratoire de **routine**, un examen direct sans concentration suffit. L'intensité d'infestation à tous parasites intestinaux est telle que la plupart des gens fortement infestés seront dépistés. A l'exception de Sch. Mansoni où l'on conseille **2-3 examens directs** sur une grande quantité de selles, ainsi que les petites douves de chine (chlonorkis...).

Pour la recherche d'amibes hématophages: chauffer les selles ou la lame préparée juste avant l'observation microscopique (environ 37°C). La mobilité est "ré-activée".

### *Concentration des œufs de parasites intestinaux: méthode de Kato (Shistosomiasis): uniquement pour enquêtes randomisées*

- Déposer un morceau de selle de la taille d'un grain de maïs sur la lame et le recouvrir d'un morceau de cellophane (baignant dans la solution de Kato). Avec une extrémité arrondie, étaler la selle à travers la cellophane de manière à ce qu'elle occupe la surface d'une lamelle environ, et de façon homogène.
- Retourner la préparation et la presser du papier filtre pour l'homogénéiser complètement et la sécher.
- Lecture immédiate entre lame et cellophane.

La méthode de Kato n'est valable que pour les œufs et un peu moins pour les larves d'anguillule. Elle est sans valeur pour les kystes et les formes végétatives d'amibes et de flagellés.

On peut effectuer cette technique quantitativement pour établir un taux d'infestation.

*Concentration de Willis: uniquement pour enquêtes randomisées*

Méthode de concentration par flotation.

Utilisation d'une solution de NaCl 25% mélangée avec une noix de selles dans un petit flacon type "pénicilline". Bien homogénéiser et surtout remplir le flacon complètement de façon à faire adhérer le liquide sur une lamelle posée horizontalement sans bulle d'air. Laisser 15 minutes. Délicatement, saisir la lamelle en emportant les quelques gouttes du liquide sur une lame. Observation à l'objectif x 10 → Méthode utile pour la recherche d'œufs d'ankylostome d'*H.nana*, trichocéphale *ascaris*. Déconseillé pour les œufs de schistosomes.

*Recherche d'oxyures: scotch test*

Il se fait à l'aide de scotch transparent ordinaire.

### ***Examens bactériologiques***

- La mise en culture est impraticable.
- Savoir que l'on peut aussi être amené à rechercher des vibrions cholériques à l'état frais si l'examen clinique laisse supposer leur présence. Ils se distinguent par un passage très rapide dans le champ microscopique.
- L'observation au Gram de selles suspectes montre des bacilles Gram -, incurvés, en "coup d'ongle".
- Si le choléra est diagnostiqué ou même soupçonné, tous les prélèvements et toutes les préparations une fois lues ainsi que tout le matériel utilisé doivent être plongé dans un seau d'eau de Javel, afin d'y être désinfectés immédiatement.
- Méthode de transport pour identification précise de la souche dans un laboratoire de référence - choléra (Pasteur, Paris) ou de tout autre sur place.
- Voir mode d'emploi en annexe.

### **Examens d'urines**

#### ***Analyse biochimique***

Recherche de sucre, albumine, sang... dans les urines, grâce aux bandelettes réactives, hémacombistix.

### ***Examen cytologique des urines***

- Examen direct pour l'appréciation des G.R. et G.B.
- Éventuellement, après centrifugation si la chimie est positive.
- La numération des G.B. (et G.R.) en cellule ne doit être introduite qu'en ayant vérifié que cette technique est rigoureusement effectuée.

### ***Examen parasitologique***

- Recherche d'œufs de *Schistosoma haematobium* (si sang et protéine positifs). Pour le prélèvement, il est préférable de faire courir la personne, ou autres exercices physiques si possible, avant de recueillir les urines. Centrifuger. Faire un examen entre lame et lamelle du culot de centrifugation. Si il y a beaucoup d'œufs et que l'on ne possède pas de centrifugeuse, on peut cependant en trouver après avoir laissé les urines sédimenter.

**NB:** Technique de dépistage de masse ou enquête randomisée Procédé utilisant un dispositif de filtration sur membrane: swin-lock.

Ce procédé est précieux lors d'enquêtes sur la bilharziose dans les villages. Il évite le transport des échantillons d'urine. Cette technique permet également la numération des œufs et le calcul de leur concentration urinaire.

- Voir mode d'emploi en annexe.
- Recherche de trichomonas (culot de centrifugation).

### ***Examen bactériologique***

Bleu de Méthylène (ou Gram) (voir techniques de coloration) sachant qu'il faut pour ce prélèvement une asepsie rigoureuse du flacon, tube, lame.

### **Examen du L.C.R.**

#### ***Numération des éléments figurés***

Choix de la cellule:

- Nageotte a un volume total de 50 mm<sup>3</sup> - Prof = 0,5 mm ou Fusch-Rosenthal a un volume total de 3,2 mm<sup>3</sup>
- Neubauer a un volume total de 0,9 mm<sup>3</sup>

Il est plus indiqué de numérer les cellules sur le plus grand volume possible. Pour cette raison, la cellule de Nageotte est conseillée. La deuxième possibilité est envisageable si la cellule Nageotte n'est pas disponible (Neubauer).

Faire une dilution à un demi avec le liquide de Türk.

Effectuer au moins une **double** numération pour augmenter la précision surtout en cas de suspicion de trypanosome - 2<sup>e</sup> phase.

- 1 numération donne une précision à  $\pm 5$  cellules
- 2 numérations (moyenne) donnent une précision à  $\pm 2,5$  cellules.

Deux numérations systématiques à partir du même tube de LCR et de la même dilution sont fortement recommandées.

### ***Formule***

Après centrifugation et étalement, coloration de Giemsa au Field, ou au RAL.

### ***Examen bactériologique***

Examen du culot de centrifugation (3000 t/min pendant 10 min)

- Coloration au bleu de méthylène: prélèvement préalablement fixé à la chaleur.

Recouvrir la lame de bleu de méthylène: 30 s

En cas de surcoloration, rincer un peu à l'alcool.

- Ou Gram

### ***Coloration de Gram (voir OMS)***

Cette technique ne figure pas dans la liste des examens courants car elle est trop sujette aux erreurs. Un simple bleu de méthylène donnant également la

proportion, la morphologie, les groupements des agents bactériens, suffira donc.

Toutefois, dans un programme de formation, cet examen est fondamental pour aborder la bactériologie et peut donc être retenu en option, sachant bien que, dans un contexte où l'on ne pratique pas de culture, il n'a qu'un intérêt mineur/restreint.

### ***Dosage des protéines***

Soit par une méthode opacimétrique (gamme étalon à capacité proportionnelle et croissante) permettant une évaluation de la concentration en g/l, soit une simple mise en évidence d'un accroissement de la quantité de globulines (précision  $\pm 0,1$  mg/ml).

#### ***- Évaluation de la teneur en protéines totales***

- A l'aide d'une pipette, verser 3 ml d'acide sulfosalicylique à 3% dans un tube à essai de mêmes dimensions que les tubes témoins (étalons).
- Ajouter 1 ml de liquide C.R. centrifugé surnageant clair et mélanger. Attendre 5 minutes.
- Comparer le résultat obtenu aux tubes étalons.
- Noter le résultat des protéines dans le LCR g/l ou mg/ml.

#### ***- Mise en évidence d'un accroissement de la quantité de globulines***

- Réaction de Pandy (globulines)
- Mesurer dans un petit tube à essai 1 ml de réactif de Pandy.
- Placer le tube devant un morceau de carton noir.
- Ajouter lentement au compte-gouttes 3 gouttes de L.C.R.
- Examiner le contenu du tube après chaque goutte.
- Lire immédiatement les résultats.

- **Résultat positif:** un précipité blanc se forme quand les gouttes de L.C.R. entrent en contact avec le réactif.
- **Résultat négatif:** pas de précipité, le mélange reste limpide ou présente un trouble léger qui se redissout. Indiquer:

réaction de Pandy +  
ou  
réaction de Pandy -

Ces examens sont demandés en cas de suspicion de méningite et (ou) de coma avec fièvre élevée (40°C), ou en cas de suspicion de trypanosomiase.

L'évaluation des protéines est associée à une numération de G.B., identification de cellule, recherche de bactéries, parasites...

**Remarque:** dans le cas de trypanosomiase, les cellules sont perturbées en premier, d'où l'importance de la précision du résultat avec double numération sur dilution 1/2.

#### ***Typage des Méningocoques (A, B, C), Str. Pneumoniae et H. Influenzae par le Slidex Méningite Kit (Meyrieux)***

**En début d'épidémie** de méningite ce test d'agglutination au latex permet de confirmer la ou les souches en vue d'une vaccination (A et C) de masse.

Il s'effectue sur LCR pur ou chauffé et centrifugé, ce qui augmente sa sensibilité initiale qui n'est pas excellente (75%). Un quart des cas ne sont pas diagnostiqués.

Compléter un résultat positif par un Gram ou inversement.

Ce kit doit se conserver impérativement au froid. Ne se congèle pas. Si la date de péremption est dépassée, effectuer systématiquement pour chaque série un contrôle positif et négatif (complément d'information en annexe 10).

#### ***Rappel LCR perturbé***

##### PERTURBATION

- Liquide clair ou trouble (purulent, jaune)

et/ou • Cellules > 5 / mm<sup>3</sup>



et/ou • Pandy + ou protéines > 0,4 mg/ml

et/ou • Présence de bactéries ou parasites...

## DIFFÉRENCIATION POSSIBLE SUR LE TERRAIN

### - Liquide clair

Pandy - ou protéine < 0,4 mg/ml	et cellule > 100/mm <sup>3</sup>	méningite virale
Pandy - ou protéine < 0,4 mg/ml	et cellule normale	paludisme cérébral
Pandy + ou protéine > 0,4 mg/ml	et cellule > 100/mm <sup>3</sup>	tuberculose - rares bacilles
Pandy + ou protéine > 0,4 mg/ml	et cellule > 5/mm <sup>3</sup>	- trypanosomiase 2 <sup>e</sup> phase - Chercher le para site à l'état frais ou après centrifugation du LCR

### - Liquide trouble

Pandy + ou protéine c 0,4 mg/ml	et cellule > 200/mm <sup>3</sup> jusqu'à 5000/mm <sup>3</sup>	méningite bactérienne bleu ou Gram pour l'orientation de l'espèce en cause - Slidex Méningite Kit
---------------------------------	---	---

## Examens des sécrétions génito-urinaires

- Examen direct pour la mise en évidence du trichomonas vaginalis.

- Mise en évidence du gonocoque: fixation immédiate des prélèvements sur lame. Coloration au bleu de méthylène ou Gram.

- Mise en évidence du Bacille de Ducrey (*Hæmophilus Ducreyi*). Prélèvement par grattage au niveau du chancre. Coloration au bleu de méthylène coloration bipolaire bleu du bacille, légèrement à bout carré et parfois en chaîne de vélo. Le Gram est peu recommandé car il colore très peu le bacille.

## Examens de la peau

### *Recherche des microfilaries (examen réservé à certaines régions)*

Biopsie Cutanée Exangue: B C E

Prélever au niveau des crêtes iliaques, des omoplates et des mollets, de fragments cutanés. Les placer sur une lame ou dans un verre de montre contenant quelques gouttes d'eau physiologique. Observer à l'objectif x 10,10 minutes plus tard et les compter.

### ***Examen du suc dermique***

Coloration de Ziehl pour recherche du bacille de Hansen (voir OMS)

Prélèvement dans une tache; répéter en plusieurs endroits.

La lecture est délicate et demande beaucoup de temps avant de rendre un résultat négatif.

### ***Mise en évidence des leishmanies***

- Grattage au bord de l'ulcération en faisant saigner ou biopsie
- Etalement = frottis assez épais
- Coloration Giemsa au Field ou RAL - Lecture minutieuse

### **Liquide d'ascite et pleural**

- Prélèvement du liquide par ponction.
- Teneur en protéines: réaction de Rivalta.

**Rivalta positif:** image en fumée de cigarettes: exsudat: les protéines sont supérieures à 25 g/l.

**Rivalta négatif:** pas de traces, les gouttes se dissolvent: transudat: les protéines sont inférieures à 25 g/l.

Pour les résultats > 25 g/l, utiliser la même gamme opacimétrique que pour le LCR.

- Comptage des cellules (hématimètre de Neubauer) avec formule, ceci pour faire la distinction entre les différents épanchements.

### **NB:**

- **Réaction de Rivalta (méthode qualitative) ou avec bandelettes**
- Transvaser la ponction dans un tube propre

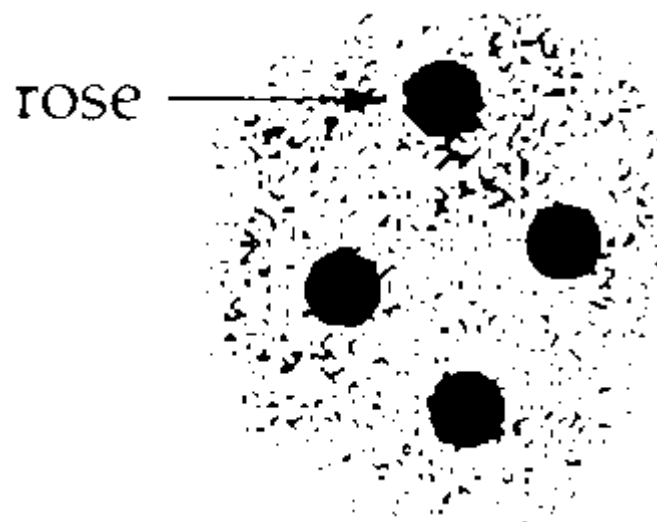
- Mettre 2 ml de Rivalta dans un tube à essai
- Prendre une petite quantité de liquide de ponction et laisser tomber goutte à goutte le liquide de ponction sur le liquide de Rivalta (Ac. Acétique)
- Lecture lorsque les gouttes touchent la surface.

***Infections opportunistes technique /observation***

**Maladie:** cryptosporidiose

**Agent infectieux:** cryptosporidium/coccidie [sporozoaire]

Forme trouvée dans les selles = OOCYSITE



Rose

**Technique:**

- Ziehl-Neelsen modifiée
- Safranine bleu de méthylène

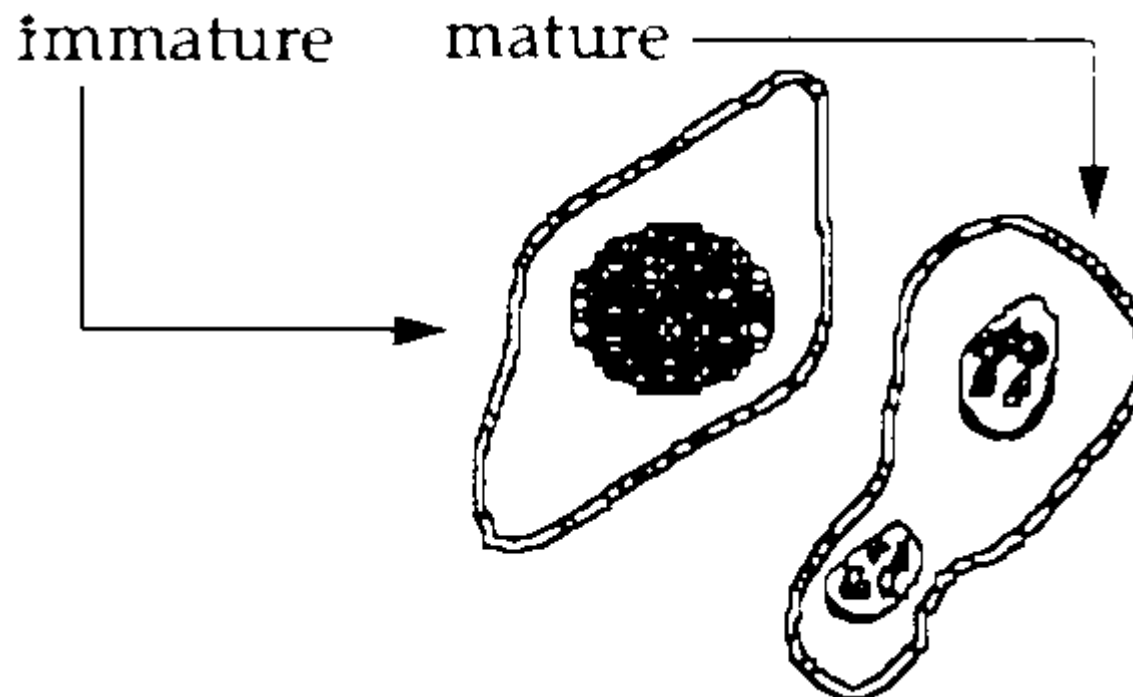
**Observation microscopique:**

objectif x 10, x 40  
10 à 15 µm de diamètre

**Maladie:** coccidiose [diarrhée]

**Agent infectieux:** Isospora Belli/coccidie [sporozoaire]

Forme trouvée dans les selles = OOCYSTE immature et mature



OOCYSTE immature et mature

**Technique:**

- Eau physiologique
- Lugol

**Observation microscopique:**

objectif x 10, x 40  
20 à 25  $\mu\text{m}$  de longueur

**Maladie:** méningite à cryptocoque

**Agent infectieux:** *Cryptococcus neoformans*/levure bourgeonnante encapsulée

Forme trouvée dans le LCR = levure encapsulée

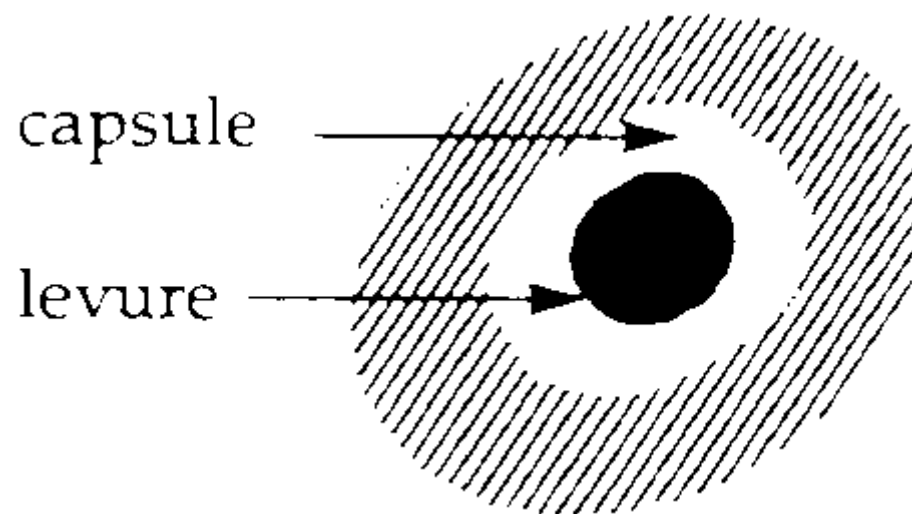


Figure 1

**Technique:**

- Encre de chine direct entre lame/lamelle
- Coloration au bleu de toluidine.
- Coloration de Gram

**Observation microscopique:**

objectif x 10, X 40  
4 à 6  $\mu\text{m}$  de diamètre

**Nettoyage et entretien du matériel - destruction des prélèvements et désinfection**

Choisir judicieusement l'emplacement du laboratoire, afin d'assurer une conservation et protection maximum de tout le matériel (voir annexe: plan type d'un laboratoire aménagé au minimum).

**Entretien normal des microscopes**

Même si l'on est mal installé, il ne faut pas oublier de nettoyer les objectifs et oculaires avec du papier optique (Joseph) ou hygiénique.

Protéger les microscopes en climat chaud et humide (risque de développement de champignons).

Si électricité: placer chaque soir le microscope dans une armoire chauffée à raide d'une ampoule de 40 Watts.

Si pas d'électricité: garder le microscope à l'air libre, à l'ombre, mais près d'un endroit ensoleillé. Sinon, stocker avec du Silicagel en boîte étanche.

En climat chaud et sec (crainte de la poussière), tenir le microscope sous enveloppe plastique hermétique et le ranger chaque soir dans sa boîte en bois.

**Utilisation du Xylène:** A n'utiliser que rarement pour nettoyer les lentilles (1 fois par mois) et dégraisser des lames. **Ne jamais l'utiliser** pour toutes les autres parties du **microscope**, surtout la platine et les matières plastiques qui se dissolvent à son contact.

**Nettoyage de la verrerie**

Faire deux rinçages à l'eau froide ou tiède. Puis trempage dans une solution détersive (lessive ou eau de Javel diluée). Brosser avec un écouvillon. Rinçage, égouttage, séchage.

## Nettoyage des pipettes

Rinçage immédiat sous l'eau froide dès que la pipette a servi, puis trempage. On peut rincer à l'acide acétique dilué, puis à l'eau distillée.

Pour les pipettes bouchées: si le sang a séché dans la pipette, nettoyer le tube capillaire avec un fil de cuivre (on peut le trouver dans certains fils électriques).

## Destruction, désinfection du matériel à prélèvement

- Il est préférable de brûler tout matériel de prélèvement immédiatement après usage. Etablir un système d'incinération proche du laboratoire et de ce fait facilement contrôlable (les enfants aiment récupérer les flacons/boîtes vides!).

Brûler tous les cartons de prélèvements à crachats. Il est donc très vivement conseillé d'avoir un bon matériel de prélèvement jetable pour une plus grande hygiène et éviter un mode de contamination supplémentaire!

- En cas d'absolue nécessité, on sera amené à désinfecter du matériel de prélèvement:

### • Désinfection des pots de selles

Remplir le pot d'une solution de Crésyl à 5% ou Phénol à 5% ou eau de Javel pure. Laisser 24 heures. Vider dans les latrines (ou dans un trou du sol). Nettoyer à la lessive, puis à l'eau.

### • Désinfection des pots d'urines

Vider les flacons, les remplir avec de l'eau javellisée à 10% ou avec une solution de Crésyl à 2%. Laisser agir pendant 12 heures.

Toute lame ayant servi au diagnostic positif d'une mycobactérie (BK et, en particulier BH), doit être définitivement jetée, car il y a impossibilité de les nettoyer complètement de façon sûre, ce qui entraîne de faux positifs en cas de réutilisation (en cas de pénurie, elles peuvent être éventuellement utilisées pour les analyses de selles et d'urines).

- Si la désinfection est confiée à du personnel local, ce travail doit être contrôlé, car il est trop souvent considéré comme accessoire.

## Incidents - Accidents du laboratoire - Précautions à prendre

### *Incidents - Accidents du laboratoire*

## **Premiers gestes**

### ***- Brûlures par les acides et les alcalins***

Dans tous les cas, laver à grande eau propre, immédiatement et abondamment, que ce soit la peau ou les yeux...

### ***- Brûlures par la chaleur***

Couvrir les brûlures d'un linge stérile ou propre. Laver au sérum physiologique et référer au médecin si possible

### ***- Blessures par le verre brisé ou matériel de prélèvement***

Faire saigner, puis désinfecter à l'eau de javel (risque Hépatite B. HIV...).

## **Précautions**

- Manipulation des acides: verser toujours l'acide sur l'eau, (goutte à goutte) et non le contraire. Effectuer éventuellement le mélange dans un verre à pied, trempé dans l'eau froide, afin d'assurer un refroidissement.

- Flacons des acides et des alcalins: les ranger en bas (mais faire attention aux enfants: mettre un cadenas), ne pas les agiter, les étiqueter: "rouge dangereux".

- Ne jamais pipetter avec la bouche. Si le pipetage est nécessaire, prendre une poire aspirette sécurité ou boucher l'extrémité des pipettes avec du coton cardé.

- Chauffage: ne jamais chauffer le fond d'un tube à essai.  
Le verre pyrex se chauffe. Le verre ordinaire se brise.

- Porter des vêtements en pur coton, réservés à l'exercice professionnel et laissé au laboratoire.

- Pour la technique de Ziehl-Neelsen: les hottes-aspirantes n'étant pas envisageables sur le terrain, on prendra la précaution de manipuler sur une paillasse à part du lieu commun d'analyse et de se préserver des "gouttelettes infectantes" par un masque de gaze ou autre.

- Par précaution, l'éther ne s'utilise jamais dans les conditions de travail décrites.



- Pour tout prélèvement sanguin, se munir de gant pour prévenir toute transmission virale (Hépatite B. HIV...) et utiliser du matériel stérile à usage unique.

**Éviter** les éclaboussures, les fuites et les bris de verre lors des manipulations de produits potentiellement infectieux, surtout pendant les centrifugations, les agitations, les homogénéisations.

## Transport d'échantillons

Pour conserver intégralement tout produit ou matière biologique inerte ou vivante, de façon à pouvoir les utiliser sans altération des résultats, certains impératifs (fixation, température...) sont à respecter même sur le terrain. Avec des moyens même **simples**, on arrive toujours à respecter l'essentiel de ces impératifs, ce qui permettra d'utiliser des échantillons de tout ordre, surtout de sang, de selles et d'urine.

Une présentation simple des différentes possibilités, en fonction du prélèvement, du moyen de conservation et de la nature de l'objet à analyser permettra dans un premier temps de répondre aux questions que l'on ne se pose pas toujours et qui sont essentielles pour conserver ces échantillons.

Le système de numérotation des différentes possibilités de conservation en fonction du support et du prélèvement vous permet de savoir rapidement, pour un objet à conserver, ce qui est possible de faire.

Ces informations ne sont pas exhaustives.

## Prélèvement de sang

NATURE DE L'OBJET à conserver avec la numérotation des conservations possibles à côté	PRÉLÈVEMENT	SUPPORT	CONSERVATION	N°
ANTICORPS: [2] [3] [5]	Total	Lames - Frottis ou goutte épaisse	Température ambiante au sec - Boîte range-lame ou autre	[1]
ANTIGENES: - PARASITE [1] [3] [5] - BACTÉRIE [3] [5] - VIRUS [3] [4] [5]	Total	Papier absorbant* type filtre ou buvard	Température ambiante Hermétiquement fermé (plastique, sachets ORS + dessiccateur)	[2] ****
CELLULES: [1] [3]	Total	Tube sec ou avec anticoagulant** bouché -	+ 4°C /+ 8°C	[3] *****

		stérile		
OLIGO-ÉLÉMENTS: [5]	Total Sérum*** Plasma	Tube sec ou avec anticoagulant** bouché - stérile	- 70°C - Conditionnement très particulier. Azote liquide	[4]
AUTRE DOSAGE: [3]	Sérum Plasma	Milieu transport sélectif stérile	Varie d'un agent infectieux à l'autre. Se documenter soi-même	[5]

\* Préciser, lors de l'envoi, si la quantité de sang absorbée sur le papier est précise pour tous les échantillons envoyés. Par exemple, la capacité d'un microtube capillaire de 200 microlitres ou bien 1 goutte... (voir méthode /recommandations en Annexe 5).

\*\* Voir tableau anticoagulants en fonction du dosage.

\*\*\* Éviter les congélations décongélations successives.

\*\*\*\* Les spirochaetales [Borrelia, Leptospire, Spirochète, Tréponème] et les rickettsioses [Typhus...] nécessitent le 3.

\*\*\*\*\* Pour recherche d'anticorps d'infections bactériennes, effectuer 2 prélèvements à 15 jours d'intervalle, y compris pour les spirochaetales et les rickettsioses.

### Prélèvement de selles

NATURE DE L'OBJET à conserver avec la numérotation des conservations possibles à côté	PRÉLÈVEMENT	SUPPORT	CONSERVATION	N°
PARASITE:  VERS:  - ŒUFS [1] [2] [5] [6] - LARVE [1] [2] [5] - ADULTE [3]	Sans préparation	Flacon* ou tube* <b>bouché</b>	+ 4°C /+ 8°C quelques jours	[1]
PROTOZOAIRE:			Température ambiante quelques heures	[2]

- VÉGÉTATIF [2] - KYSTE [1] [2] [5]				
BACTÉRIES - V. CHOLERAE [4] [7]  et autres bactéries fécales, sauf shigella (voir [7]) - AUTRE [7]			Alcool à 70° indéfiniment	[3]
VIRUS: [1] [7]		Papier buvard hermétiquement fermé dans plastique ou autre + eau physiologique	Température ambiante 15 jours	[4]
	1 volume de selles pour 4 volumes de Formol 10 %	Flacon* ou tube* <b>bouché</b>	Formol 10 % Température ambiante, se désèche après quelques semaines	[5]
	Lutage** au vernis à ongles sur lame	Lame + lamelle	Température ambiante	[6]
	Sans préparation	Milieu transport sélectif***	Varie d'un agent infectieux à l'autre. Se documenter soi-même. Délais de transport court	B

\* Flacon et tube remplis à moitié **seulement**. Les couvercles et bouchons ne doivent pas être en liège ni en caoutchouc lorsque les selles contiennent du formol, des bouchons en plastique ou en verre résisteront.

\*\* Les selles doivent être suffisamment humides sans être trop liquides non plus. Le lutage permet de **fermer** complètement la lamelle contre la lame. Pour une fermeture **complète**, doubler l'épaisseur de vernis en laissant sécher entre les deux couches. Le vernis doit toucher des surfaces **non mouillées**.

\*\*\* Entre autres:

milieu d'enrichissement pour **vibrio cholerae** (diagnostic Pasteur).

milieu TGV AER (aérobie) pour les shigella, avec un délais de transport < 48 heures, c'est-à-dire du terrain au terrain.

## Prélèvement d'urines

NATURE DE L'OBJET à conserver avec la numérotation des conservations possibles à côté	PRÉLÈVEMENT	SUPPORT	CONSERVATION	N°
PARASITE: SCH. HAEMATOBIMUM: [1] [2] AUTRE [1] [3]	urines émises dans la demi-heure précédente	Flacon ou tube <b>bouché</b>	+ 4°C /+ 8°C	B**
		Disque* papier filtre + système filtration millipore = seringue	Température ambiante. Au sec. En sachet plastique ou autre mais hermétiquement <b>fermé</b>	a
		Milieu transport sélectif	Varie d'un agent infectieux à	[3]

### Prélèvement de crachats

BACTÉRIE: BACILLE KOCH: BACILLE HANSEN: PNEUMOCOQUE	[1] [3]	Sans préparation	Lame propre dégraissée, non rayée avec prélèvement fixé à la chaleur	Température ambiante. Au sec. Boîte range-lame	[1]
		Sans préparation	Flacon bouché	Température ambiante (30 jours)***	[3]
PARASITE: PARAGONIMUS WESTERMANI - ŒUF:	[1] [2]	1 volume Soude 3 % ou Formol 10 % et 1 volume de crachat. Mélangé/ centrifugé, utiliser le <b>culot de la centrifugation</b>	Flacon bouché ou lame lutté. Formol 10 % ou Soude 3%	Température ambiante	[2]

\* Avant le séchage du filtre après filtration, rajouter 3 gouttes à Lugol ordinaire (coloration des œufs). Ce système de filtration est utilisé uniquement dans le cadre d'enquête épidémiologique ou de dépistage de masse.

\*\* Pour les œufs de Sh. Haematobium rajouter quelques millilitres de NaCl 9 %c.

\*\*\* Un crachat peut rester 30 jours à température ambiante avec des BK à condition d'être à l'abri de la lumière.

### Prélèvement de ponctions et sécrétions

NATURE DE L'OBJET à conserver avec la numérotation des conservations possibles à côté	PRÉLÈVEMENT	SUPPORT	CONSERVATION	N°
BACTÉRIE: [1] PARASITE: [2] CELLULES: 2	Sécrétions uréto-vaginales	Lame propre, dégraissée avec prélèvement fixé à la chaleur	Température ambiante. Au sec. Boîte range-lame	[1]
	Ponction de moelle Ponction autre	Fixé au Méthanol	Température ambiante. Au sec. Boîte range-lame	[2]

### Prélèvement de L.C.R.

BACTÉRIE: [1] [2] [3] PARASITE: [2] VIRUS: [3] CELLULES: [2]	centrifugé	Lame propre, dégraissée avec prélèvement fixé à la chaleur	Température ambiante. Au sec. Boîte range-lame	[1]
		Fixé au Méthanol	Température ambiante. Au sec. Boîte range-lame	[2]
				[ ]

### Prélèvement de peau

BACTÉRIE: [1] [2]	Superficielle squame	Lame prélèv <sup>t</sup> fixé chaleur	Température ambiante. Au sec. Boite range-lame	a
PARASITE: [1] CELLULES: [2]		Lame prélèv <sup>t</sup> fixé Méthanol		
	Excroissante, tumeur Biopsie (0,2-0,5 mm)	Liquide fixation Bouin ou Formol 10 %	Température ambiante ou + 4°C /+ 8°C	a

\* Milieux TGV AER (Meyrieux-Pasteur) ou Trans-isolate (d'Oslo, cf. Pasteur) pour les méningocoques A<B ou C.

### Anticoagulants

--	--	--	--	--

ANTICOAGULANT		COULEUR	PRINCIPAUX DOSAGES	PRÉSENTATION
<b>Wintrobe</b>	Oxalate de Potassium + Oxalate d'Ammonium	Etiquette jaune + bouchon jaune NF - VS	Test à l'Héparine Taux Prothrombine - Fibrine Groupe - Rhésus	Solution évaporée ou lyophilisée
<b>E.D.T.A diK</b>	E.D.T.A. Sel dipotassique	Etiquette bleue + Bouchon bleu Cholestérol	NF - VS Groupe - Rhésus Fibrine <b>Malaria</b>	Poudre ou solution lyophilisée
<b>Fluorure + Oxalate</b>	Fluorure de Sodium + Oxalate de Potassium	Etiquette rose + Bouchon rose	Urée - Glycémie par dosage chimique - Alcool - Co	Poudre ou solution lyophilisée
<b>Héparine</b>	Héparinate de Lithium	Etiquette blanche + Bouchon noir	Ionogramme Groupe Réserve Alcaline	Solution évaporée ou lyophilisée
<b>Héparine + Iodoacétate</b>	Héparinate de Lithium + Iodoacétate de Lithium	Etiquette mauve + Bouchon mauve	Urée - Glycémie par dosage enzymatique	Solution évaporée ou lyophilisée
<b>Héparine + Fluorure</b>	Héparinate de Lithium + Fluorure de Sodium	Etiquette orange + Bouchon orange	Urée - Glycémie par dosage chimique <b>Trypanosomes</b> (rajouter du glucose)	Solution évaporée ou lyophilisée
<b>Citrate</b> Solution stérile de Citrate Trisodique à 3,8% dans l'eau déminéralisée	1 vol. sol. pour 9 de sang	Etiquette verte + Bouchon vert	Tests de coagulation - Taux Prothrombine TCK - HOWELL OWREN <b>Microfilaires</b>	En solution dans le tube en polypropylène ou en ampoule dans le tube en polystyrène sauf pour TL 55 et FP 5 disponibles uniquement avec la solution de
	1 vol. sol. pour 4 de sang	Etiquette blanche + Bouchon blanc	Vitesse de sédimentation	

### Autres prélèvements par exemple

- Formol 10% pour fixer le tout.
- Glycérine si l'on veut garder des micro-organismes vivants (virus de la rage).

On constate que la conservation à + 4°C / + 8°C est la plus commune à tous les prélèvements non fixés par le formol ou fixés sur lame, surtout pour le sang, les selles, les urines.

Ces tableaux ne se veulent pas détaillés. Pour cette raison, dans les cas les plus rares de transport d'échantillons en milieux sélectifs, on vous demande de vous documenter vous-même.

Ces différentes possibilités ne sont pas exhaustives mais les multiples solutions existantes nous obligent à sélectionner celles qui sont les plus utilisées et réalisables SUT le terrain.

Bien entendu, l'étiquetage, l'identification, le conditionnement des échantillons sont laissés au bon sens de chacun. Il faut simplement retenir qu'un envoi d'échantillons n'est pas anodin.

Lorsque l'on décide de le faire, on doit s'évertuer à réunir les meilleures conditions de préparation, de conservation, de transport et d'identification disponibles sur place pour qu'ils arrivent à bon port. Le support et la conservation sont les deux éléments clés à respecter.

**Attention:** pour l'envoi d'échantillons potentiellement très infectieux, pour toute suspicion de fièvres hémorragiques par exemple, ou d'infections à transmission mal connue, s'informer avant tout envoi auprès des centres de références (Institut Pasteur, CDC Atlanta, OMS) pour le prélèvement et les conditions de transport.

### **Conservation de lames: enquête - collection - transport**

#### PROBLÈMES CONSTATÉS

- 1 **Rayures:** Frottis rayés par un nettoyage trop fréquent avec le papier filtre d'où les rayures et la disparition des parasites, bactéries avec le temps.
- 2 **Contaminations:** bactéries, champignons en milieu humide et chaud.
- 3 **Exposition à la lumière:** contraste et colorations atténués.
- 4 **Identification:** identification insuffisante des lames, oubli des lieux, temps, conditions de prélèvements (origine des parasites ? autres...), initiales.
- 5 **Chaleur:** cf. contamination. Altération des colorations, le contraste diminue.

#### CONSEILS

- 1 Nettoyez les lames en les trempant dans du xylène (action dégraissante) Ne pas les essuyer directement avec du papier, laissez sécher
- 2 Les conserver si possible au froid (frigo, transport glacière, sinon à l'abri de la chaleur et de la lumière
- 3 Identification précise des dates et lieux. Résultats disponibles et joints aux lames correspondantes
- 4 Pour les préparations au Giemsa surcolorées ou décolorées, effectuer un trempage des lames en acide borique 1% pendant quelques heures, ou même quelques jours, puis recolorer.

L'idéal est de conserver les préparations à l'aide de résines synthétiques comme l'Eukit.

### **Méthode d'évaluation de la fiabilité interne dans un laboratoire**

Méthodes d'évaluations et de supervision internes et externes au laboratoire.

Pourquoi et quand les utiliser ?

Outils actuellement utilisés dans les missions laboratoire MSF.

### **Pourquoi?**

Les termes d'évaluation et de supervision s'emploient de plus en plus sur le terrain, indice certain de la volonté croissante d'obtenir de la qualité, primordial au laboratoire, éthique avant tout dans un contexte médical.

La raison majeure d'utiliser de tels outils est qu'on peut à un moment donné ou sur une période de temps régulière mesurer la qualité du travail technique au laboratoire et intervenir pour résoudre judicieusement les problèmes, **sans se disperser**, ou, mieux encore, prévenir leur survenue.

On mesure la qualité du fonctionnement global ou des résultats de technique indépendamment, et on cible précisément l'intervention à effectuer.

Ici sont décrits 4 outils différents pour évaluer, pour superviser et pour établir un contrôle de qualité, externe et interne.

Cette liste n'est pas exhaustive; elle est adaptée à MSF.

### **Quand?**



Ces méthodes ont été mises au point pour se compléter et s'utilisent de diverses manières et à des temps différents (voir schéma).

### **Méthode d'évaluation**

- Qualitative et quantitative, cette méthode permet de connaître précisément à un moment donné la fiabilité globale technique des principales analyses effectuées au laboratoire.

Les résultats de la méthode s'expriment en pourcentage de sensibilité, unité choisie pour représenter la moyenne de la fiabilité technique des techniciens travaillant régulièrement au laboratoire (méthode inspirée de l'IMT d'Anvers et des centres de contrôle en parasitologie).

- Cette méthode s'utilise **avant** le démarrage d'un programme laboratoire pour situer le niveau de fiabilité, orienter et cibler le contenu d'un recyclage ou d'une formation pratique.

On peut l'utiliser également à la **fin** d'un recyclage ou d'une formation afin de connaître l'impact de l'intervention. Elle sert dans ce cas d'outil décisionnel pour la suite d'un programme.

- La durée moyenne d'une évaluation est au minimum d'une semaine et maximum de 15 jours pour un laboratoire. C'est à moduler en fonction de l'importance du laboratoire.

Il est très clair que les missions d'évaluation-suivi de 15 jours aller-retour n'ont pas le même but et ne peuvent donc pas utiliser cette méthode.

- Cette méthode n'a aucun intérêt en cours de recyclage ou de formation.

- Enfin, il est conseillé de ne l'utiliser que par des MSF, qui s'y seront préparés. Dans le cas contraire, des dérives sont à redouter (mauvaise utilisation, non compréhension du but, non analyse des résultats....).

### **Méthode des**

- Elles ont été mises au point à l'école de laboratoire de Site 2 (Thaïlande).

- Elles s'utilisent ponctuellement pour connaître le degré d'acquisition des connaissances pratiques par les techniciens, lors d'un recyclage ou dans un centre de formation, souvent pour valider un certificat ou un diplôme.

Les différentes étapes d'une technique sont représentées par une note qui varie selon l'importance de chaque étape.

Le résultat s'exprime sous forme de note globale ou de pourcentage.

Cela implique que l'observateur suit le technicien étape par étape pour une technique donnée et lui donne une note à un moment précis (méthode identique pour les examens des écoles de laboratoire).

- Cette méthode n'est représentative qu'au moment où le technicien est suivi (une check-list = une note) par l'observateur et ne représente certainement pas son travail global sur une période plus longue au sein d'une équipe de techniciens. Ce n'est pas le but de la méthode.

Cela signifie qu'il ne faut pas utiliser cette méthode pour une évaluation globale car elle ne serait pas représentative sauf si la même check-list (pour le frottis /Giemsa par exemple) est répétée plusieurs fois **sur plusieurs jours** pour le même technicien et surtout dans ses conditions habituelles de travail.

Se reporter alors à la méthode d'évaluation ci-dessus.

### **Méthode de supervision**

C'est une grille de supervision qui prend en compte le fonctionnement général du laboratoire, depuis l'enregistrement du patient jusqu'à la notification des résultats (ce qui n'est pas le cas des méthodes précédentes).

Elle est rapide et sert pour une supervision régulière chaque mois, ou tous les deux mois ou plus, ou pour une évaluation rapide et globale si l'on dispose de peu de temps.

Cet outil est introduit en routine après un recyclage ou une formation pour permettre au responsable du laboratoire local de suivre globalement le fonctionnement dont la fiabilité technique est déjà bonne. Ce qui complète les méthodes précédentes.

### **Contrôle de qualité (C.Q.) des lames de Plasmodium et de bacilles de Koch**

Le contrôle de qualité est très souvent confondu avec l'évaluation (1 - Méthode...) . Il s'adapte très bien aux programmes verticaux de lutte.

Le CQ se base uniquement sur le résultat de lecture des lames lues par les techniciens et vérifiées par le superviseur du laboratoire (CQ interne) ou du centre spécialisé extérieur (CQ externe).

L'aspect technique de l'analyse n'est pas pris en compte contrairement à la méthode d'évaluation ci-dessus.

Cette méthode fait donc appel à la fiabilité de lecture des techniciens (sensibilité et spécificité): interprétation microscopique.

Régulièrement (chaque mois, 2 mois, etc.) des lames en nombre représentatif, déjà lues par les techniciens, sont observées par le superviseur ou le centre extérieur. La représentativité est assurée si:

- 10 à 20% du nombre des lames positives est relu.
- 10 à 20% du nombre des lames négatives est relu.

Le pourcentage de sensibilité est calculé comme suit:

$$\frac{\text{nb. de lames lues + par le technicien et le superviseur (ou centre)}}{\text{nombre total de lames lues positives par le superviseur}} \times 100 = \%$$

Si la spécificité est recherchée de même mais pour les négatives:

$$\frac{\text{nombre de lames lues - par le tech. et le superviseur (ou centre)}}{\text{nombre total de lames lues négatives par le superviseur (ou centre)}} \times 100 = \%$$

**Attention:** un pourcentage ne peut se calculer qu'à partir d'un total minimum de 10. Par souci d'objectivité et de représentativité, le nombre de lames relues doit être tiré au hasard

Le CQ se fait **régulièrement** pour éviter une perte de qualité, notamment pour les analyses intégrées aux programmes de lutte contre la malaria et la tuberculose. L est préférable en général de laisser derrière soi en fin de programme un CQ externe, si celui ci- a été (re)lançé.

D'une façon générale, pour un contrôle de lecture de lames la méthode "en double aveugle\*" peut s'utiliser aussi bien qu'un pool de lames de référence.

\* Lames effectuées au laboratoires et lues indépendamment par le superviseur et /ou le centre de référence qui doit alors être précisé (qui constitue la référence).

### Utilisation des méthodes dans le temps

Début      Programme      Fin  
----->

Méthodes\*

1	-----	
2		-----
3		_____
4		_____

\* Méthodes disponibles au secteur ou sur le guide laboratoires MSF.

## Annexes

### Préparation de certains réactifs

Voir Livre OMS

#### KATO

Eau distillée	100 ml
Glycérine	100 ml
Vert de Malachite 3%	1 ml

Les rectangles de cellophane sont laissés à tremper dans cette solution

#### LIQUIDE POUR RIVALTA

Acide Acétique glacial, ordinaire, analyse	3 ml
Eau QSP	100 ml

#### EAU DE LABORATOIRE

Il n'est pas nécessaire d'utiliser de l'eau distillée dans le laboratoire, car les examens n'y sont pas trop sophistiqués (pas de chimie sanguine).

Un simple filtre type Biron peut suffire pour garder de l'eau propre.

Il est fortement conseillé de filtrer les colorants que l'on prépare.

Noter que l'on peut, si nécessaire, utiliser de l'eau vendue pour les batteries de voitures en vérifiant qu'elle ne contienne pas d'acide.

Pour l'eau neutre, utiliser les solutions tampons en poudre (RAL).

L'idéal pour la préparation de réactif est l'eau distillée.

### ALCOOL ÉTHYLIQUE

L'alcool méthylique, ou autre alcool local (spirit), peut être utilisé à la place de l'alcool éthylique dans le cas suivant: alcool - acide (Ziehl - Neelsen), ce qui permet de le supprimer de la liste des réactifs essentiels (RI) et de diminuer ainsi les gros problèmes logistiques lors du transport (conditionnements spéciaux, approvisionnement limité, autorisations annuelles nécessaires, pays musulmans, etc.).

Donc, pour une commande: justification absolument nécessaire comme pour tous les produits hors-listes.

L'alcool éthylique sera uniquement utilisé pour préparer les réactifs (Fuschine...). Il sera conservé sous clé afin d'en éviter l'usage intempestif en dehors des préparations.

### ALCOOL MÉTHYLIQUE

Pour la fixation des lames, ne pas utiliser du méthanol dénaturé, mais du méthanol pur pour analyse.

### FUSCHINE ET BLEU DE MÉTHYLÈNE MODIFIÉS (B.H.)

#### ***- Fuschine Phéniquée modifiée***

Solution A:	Fuschine basique	10 g
	Alcool à 95°	100 ml
Solution B:	Phénol	10 g
	Eau distillée	q.s.p. 200 ml
Ensuite :	Solution A	10 ml
	Solution B	90 l

**- Bleu de méthylène modifié**

Bleu de méthylène	0,3 g
Eau distillée	70 ml
Alcool 95°	30 ml

## ALCOOL-ACIDE 1% (B.H.)

Acide chlorhydrique concentré	1 ml
Alcool à 95°	66 ml
Eau distillée	70 ml

## PANDY

Phénol	30 g
Eau distillée	500 ml

Agiter énergiquement. Laisser reposer une journée. Vérifier qu'il reste bien du phénol non dissout. Si oui, filtrer. Si non, rajouter 10 g. attendre encore une journée avant de filtrer.

C'est une solution saturée de phénol.

## ACIDE TRICHLOROACÉTIQUE 30%

Acide poudre	30 g
Eau distillée	100 ml

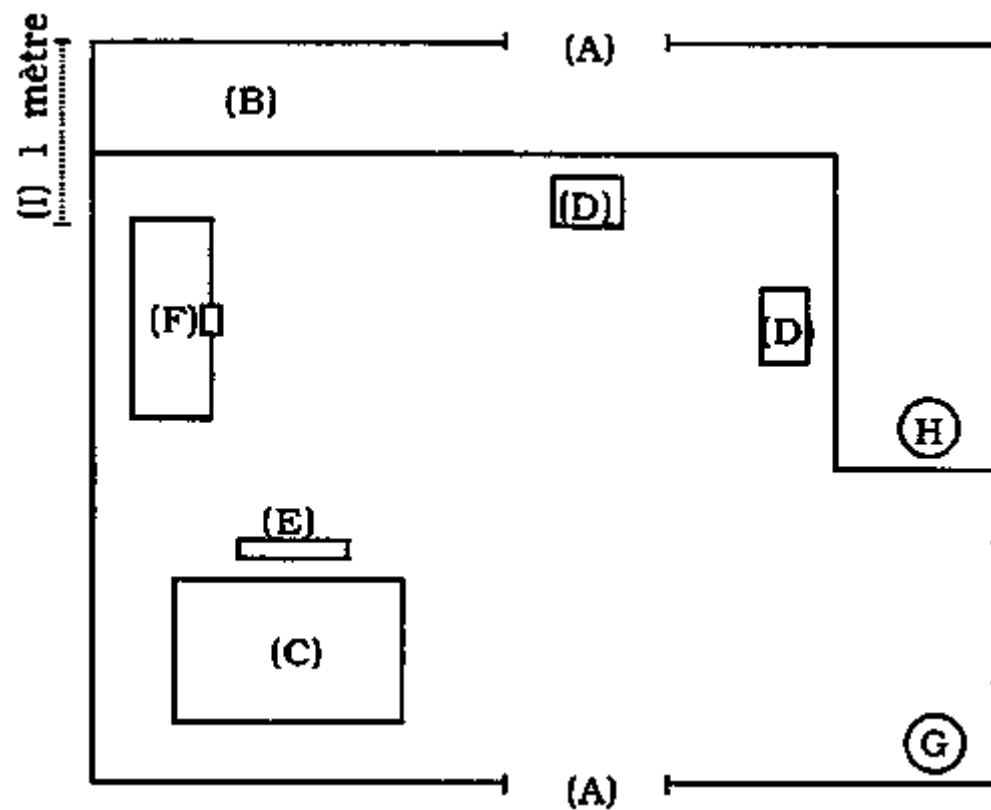
Agiter doucement jusqu'à dissolution **complète**.

## LIQUIDE DE TURCK

--	--

Acide acétique glacial	4 ml
Eau distillée	qsp 500 ml
Bleu de méthylène 0,3%	10 gouttes

### Plans types de laboratoire



Aménagement minimum à respecter pour un dispensaire

MATÉRIEL		INTÉRÊT
<b>A</b>	Fenêtre ...2	Luminosité suffisante pour analyses

<b>B</b>	Paillasse plane...1 d'au moins 2 m	Examen/Analyse/Observation regroupés
<b>C</b>	Table 1	Enregistrement
<b>D</b>	Tabouret 2	
<b>E</b>	Chaise 1	
<b>F</b>	Armoire + clef 1 + 1	Protection Environnement en tout genre
<b>G</b>	Filtre eau 1	Pour préparation de réactif + rinçage des lames
<b>H</b>	Évier	Désinfection matériel
<b>I</b>	<b>Dimension:</b> Pièce d'au moins 15 m <sup>2</sup>	
	<b>Situation:</b> à part de toute salle de soins ou de passage	

### Aménagement minimum à respecter pour un hôpital

Se reporter à la publication "Manuel des techniques de base pour le laboratoire médical", OMS, Genève, pages 102-103.

### Détermination du taux d'hémoglobine par la méthode de Lovibond comparateur sans dilution

(méthode de Harrison)

#### *Principe*

Une petite quantité de sang total est directement introduite par capillarité dans une cellule spéciale calibrée, sans aucun pipetage ou dilution préliminaire. La couleur de l'hémoglobine, répartie ainsi d'une façon homogène, est comparée à une série de verres de couleurs d'hémoglobine croissante à l'aide d'un comparateur Lovibond. Le résultat lu sur le disque est converti soit en grammes pour cent millilitres, soit en pourcentage à l'aide d'une table de conversion.

#### *Matériel*

- Comparateur Lovibond 2000
- Disque A
- Hémoglobine basse
- Disque B
- Hémoglobine haute



- Cellule capillaire spéciale (2 lames de taille différente)

### ***Aspect spécifique du matériel***

Cela concerne surtout les disques et la cellule capillaire.

#### DISQUES

Ils portent des valeurs notées de 20 à 58 pour le disque A, et de 64 à 130 pour le disque B.

Pour établir la conversion, multiplier la valeur trouvée sur le disque par 1,14 ou utiliser la table de correspondance jointe. La différence entre deux valeurs s'échelonne de 0,5 à 1,7 grammes pour cent millilitres, c'est-à-dire une moyenne de 1.

Pour décider des valeurs colorées de ces hémoglobines standards, elles ont été comparées, puis calculées d'après leur pouvoir de combinaison avec l'oxygène selon la technique de Van Slyke.

Les disques sont calibrés pour la cellule capillaire.

#### CELLULE CAPILLAIRE

Elle se compose de deux lames, une longue, une courte, en verre d'épaisseur différente. La petite se superpose à la grande selon les schémas A et B. Grâce aux trois excroissances disposées sous la petite lame, un espace calibré de 4 microlitres permet le passage de l'infime quantité de sang. Le crochet de métal utile pour la cellule vide, devient inutile pour la cellule pleine.

### ***Technique***

La cellule prête à l'utilisation selon le schéma B est entièrement remplie par un des côtés comme sur le schéma C, avec du sang capillaire (sang veineux oxalaté ou autre non conseillé).

Placer alors la cellule précautionneusement dans la partie droite du comparateur de façon à la tenir parfaitement verticale avec le doigt, immobile et bien en face de la partie droite de l'orifice.

L'un des deux disques, placé dans le comparateur par la droite, permet la lecture des chiffres qui apparaissent alors dans le cercle en bas à droite.

Porter alors le comparateur à environ 45 cm environ (bout de bras), vers une source de lumière blanche, ou côté nord (jamais face au soleil) et faire

tourner le disque jusqu'à obtenir la même couleur à gauche et à droite dans l'orifice. Avec un peu d'habitude, une interpolation est possible. La lecture doit être rapide et le nettoyage immédiat pour éviter la coagulation et le séchage du sang dans la cellule.

### CHOIX DE CETTE TECHNIQUE

Cette méthode a été choisie selon deux critères: simplicité et fiabilité. Effectivement, elle ne nécessite ni pipette, ni liquide de dilution: le risque d'erreur est ainsi minimisé. La précision est d'environ  $\pm 1$  g/%. Les techniques automatiques ont une précision environ dix fois supérieure. Les autres techniques de comparaison utilisent des liquides de dilution, pipette, le risque d'erreur est donc plus grand (lire enquête OMS).

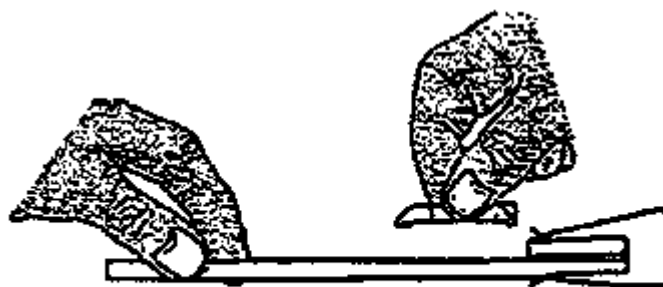
### ERREURS FRÉQUENTES

Les seules erreurs possibles concernent la position de la petite lame sur la grande, la position verticale dans le comparateur, l'orientation vers une source de lumière correcte. Le nettoyage est indispensable. La présence de bulle d'air par dégraissage incomplet rend la lecture ininterprétable.

### INCONVÉNIENTS/AVANTAGES

Le coût de l'appareil complet peut être un frein à la mise en route de cette technique. On se rend tout de même compte qu'à long terme ce matériel est viable, fiable et suffisamment précis. Les deux lames doivent être protégées des rayures et, bien sûr, des chutes intempestives. Aucun réactif n'est nécessaire et les disques de verre, solides, peuvent durer des années.

### *Schémas*



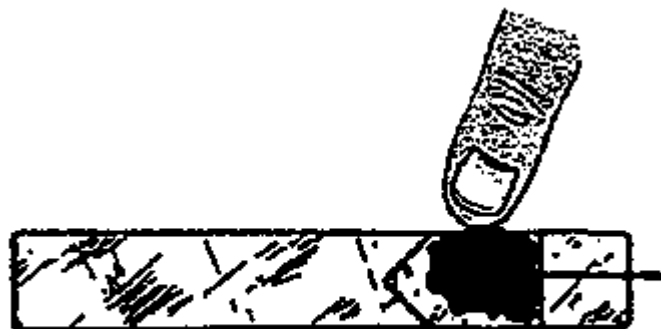
**A. Préparation de la cellule**

Préparation de la cellule



**B. Cellule prête à l'utilisation**

Cellule prête à l'utilisation



**C. Remplissage de la cellule**

Remplissage de la cellule

**Table de conversion**

Lecture disque	%	gr/%	Lecture disque	%	gr/%
20	22,8	3,3	64	73,0	10,7
24	27,5	4,0	70	80,0	11,7
28	32,0	4,7	76	86,6	12,7
32	36,5	5,3	84	95,8	14,0
36	41,0	6,0	92	105,0	15,3

40	45,5	6,7	100	114,0	16,7
46	52,5	7,5	110	125,5	18
52	59,3	8,7	120	137,0	20,0
58	66,0	9,7	130	148,0	21,7

### Prélèvement de sang sur papier filtre pour suspicion d'infection virale\*

\* Cette technique ne peut s'utiliser pour les infections bactériennes. Envoyer des sérums à 4°C (voir chapitre Prélèvements).

(fièvre hémorragique, dengue, hépatite), Rickettsiose (typhus...)

**Remarque préalable:** ce diagnostic sérologique ne sera valable que si le prélèvement a été effectué au moins huit jours après le début de l'infection (temps "minimum de fabrication des anticorps).

1 - Par piqûre au bout du doigt, **imbiber sur au moins trois centimètres** de diamètre un papier filtre propre (type n°4, whatman).

Seule l'imprégnation complète du papier avec le diamètre minimum est importante.

2 - **Laisser sécher complètement.**

3 - **Numéroter** ou **codifier** chaque échantillon, préciser également la date, le lieu de prélèvement (voir feuille ci-jointe).

4 - Joindre les **informations cliniques minimum** ainsi que l'âge, le sexe, le poids et la taille du patient (voir feuille ci-jointe).

**Éviter d'utiliser les mêmes code ou numéro pour plusieurs patients.**

5- Glisser dans le sachet plastique quelques grains (bleus) de silicagel directement sur le papier filtre imprégné. Ils permettront de conserver l'échantillon au sec.

6 - Transporter le tout hermétiquement fermé. Protéger de la chaleur, de l'humidité.

7 - **Faire parvenir le tout par un moyen sur au service médical\*.**

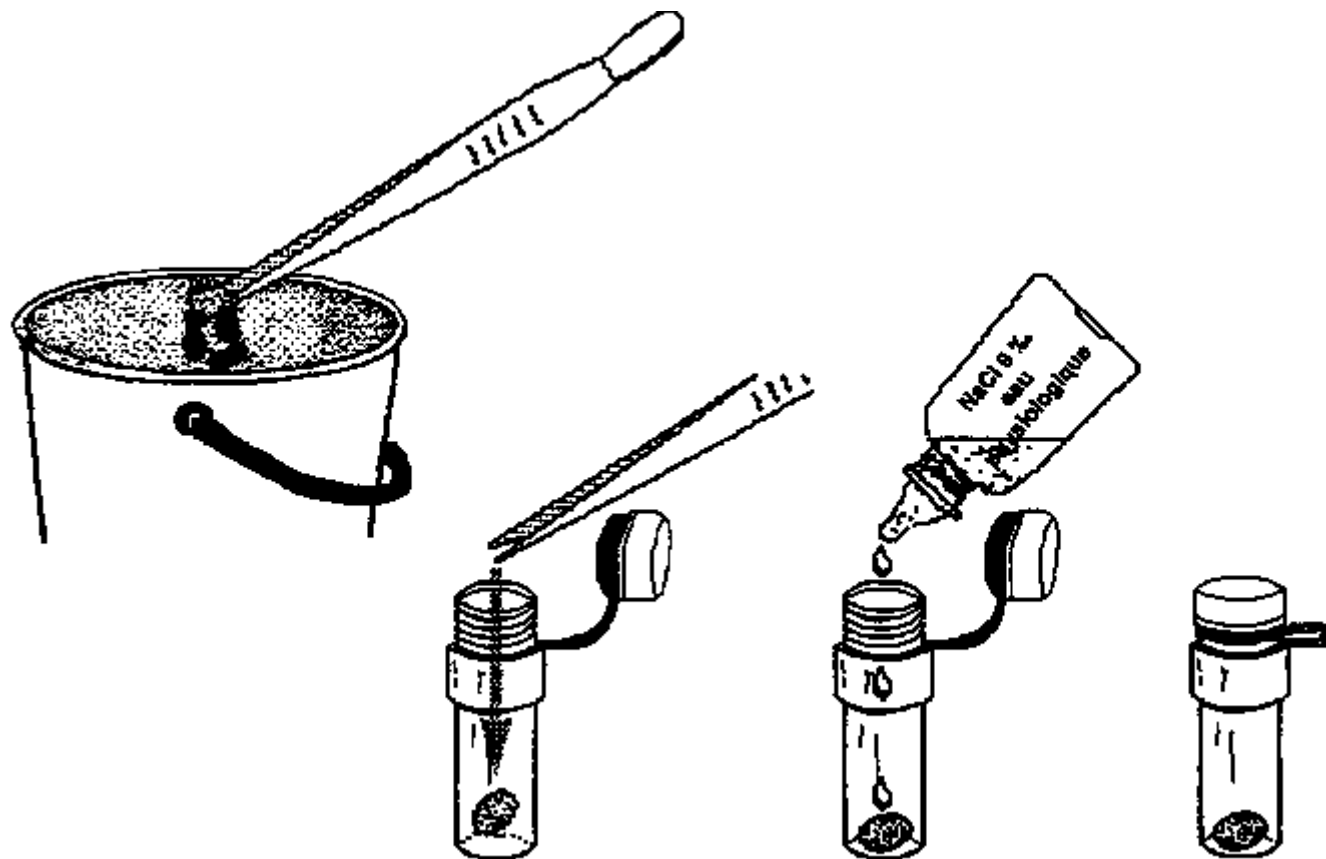
\*\* Ou au laboratoire de référence.

Institut Pasteur  
[Service concerné]  
28, rue du Dr. Roux  
75015 Paris-France

## **Méthode de prélèvement de selles cholériformes ou de vomissement**

**(selon l'institut Pasteur et le secteur laboratoire MSF-France)**

- 1 - Ouvrir le tube contenant **déjà** une pastille.
- 2 - Prendre la pastille de papier directement avec une pince propre (la flamber entre deux prélèvements).
- 3 - La tremper directement dans la selle suspecte (ou dans le vomissement) et la réinsérer dans le tube initial. Vérifier auparavant que la selle n'avait pas été chlorée.
- 4 - Rajouter quelques gouttes d'eau physiologique (NaCl 9%).
- 5 - **Refermer hermétiquement** à l'aide du bouchon à vis initial.
- 6 - **Numéroter** ou **codifier** chaque échantillon, préciser également la date, le lieu de prélèvement.
- 7 - Joindre les **informations cliniques minimum** ainsi que l'âge, le sexe, le poids et la taille du patient.
- 8 - **Faire parvenir le tout, à température ambiante, par des moyens sûrs au service médical.**



**Hermétiquement fermé**, le prélèvement peut se conserver deux semaines.

### **Technique de filtration des urines**

"Swin-look" pour œufs de bilharziose

*Matériel labo pour dépistage de bilharziose*

#### *Filtres*

Papier Whatman no 1 en 25mm

(labo Prolabo; par boîte de 400, soit 400 examens)

ou

Filtre en acétate-nitrate de cellulose Réf. :3cwp 02500 /8µm, 25mm, blanc

(labo Millipore; par boîte de 100, soit 100 examens)

### ***Joints***

Swinnex Réf.: SX 0002501

(labo Millipore; par sachet de 100; réutilisable 2 ou 3 fois)

### ***Support filtres:***

Swinnex Réf: SW 0002500

(labo Millipore; par boîte de 12; lavable)

### ***Colorants***

Sérum physiologique, 9 %

Lugol 1% (2 gouttes /filtre/lame)

### ***Lamelles***

Grande taille: 2,2 cm carré

### ***Seringues***

20 cc (pour plus de pression) réutilisable.

PROLABO (Rhône-Poulenc/Merck) MILLIPORE

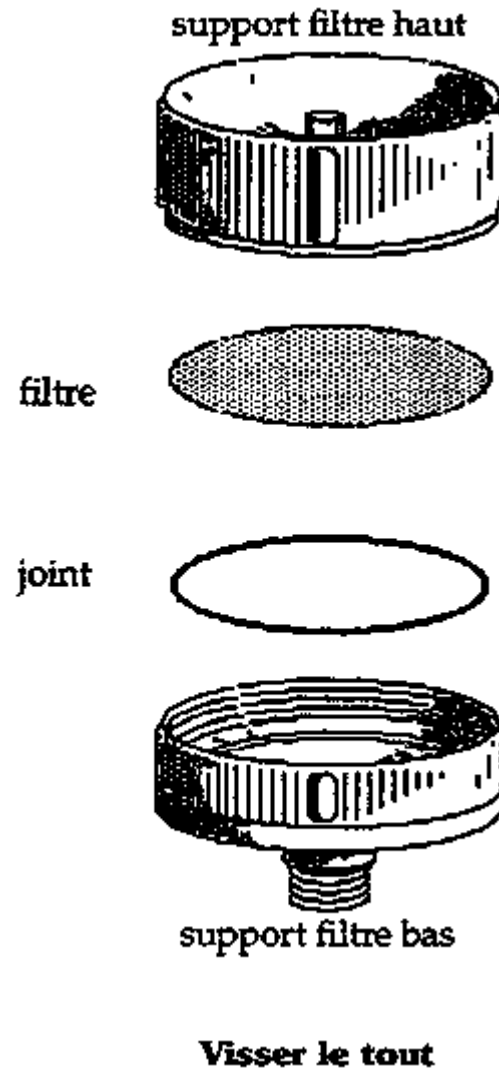
12, rue Pelée

rue Jacques Monod

65, Bd. R. Lenoir

75011 PARIS

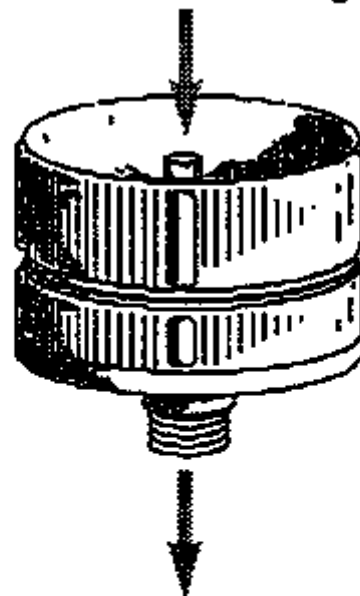
78280 GUYANCOURT



1 - Préparation



10 cc d'urine à la seringue

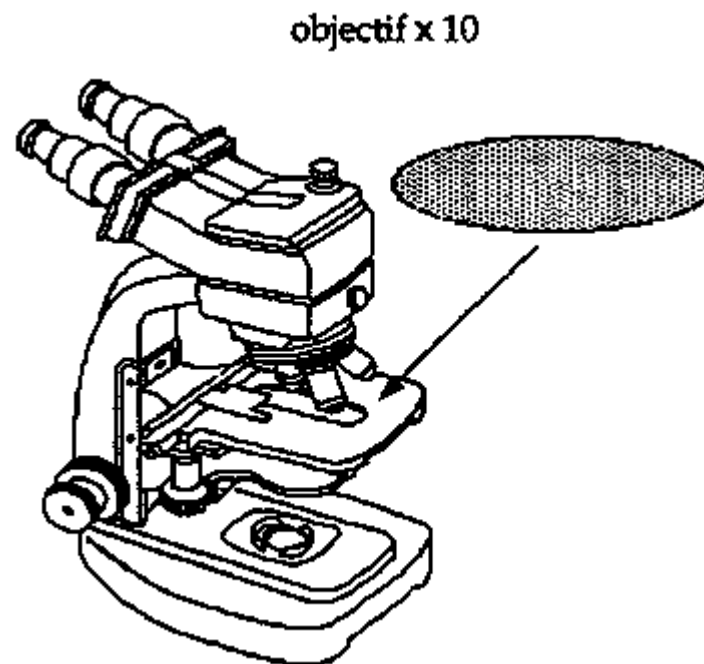


jeter l'urine filtrée

**Dévisser et récupérer le filtre**

ajouter 2 gouttes de Lugol 1 %

2 - Filtration



3 - Observation des œufs de Sch. Haematobium

### Surveillance du fonctionnement et de l'activité du laboratoire

#### *Fonctionnement*

Pays:	Mois /Année:
Population:	Hôpital et/ou dispensaire:

Nombre total d'examens:

Nombre moyen de techniciens ou aides travaillant pendant ce mois-ci:

Nombre de microscopes fonctionnant pendant ce mois +:

**Proportion de chaque tranche d'âge en fonction du type d'examen (en chiffres brut):**

	<b>Parasites Selles</b>	<b>+</b>	<b>Malaria</b>	<b>+</b>	<b>Crachat (BK)</b>	<b>+</b>	<b>Autres (LCR, MST...)</b>	<b>+</b>
< 5 ans								
5 - 14 ans								
>15 ans								



Activité

**Exemple de fiche individuelle d'enregistrement**

**Recto**

**Demande d'analyse / Lab request**

Nom du patient Patient's name	}	Sexe : Lab. n° :	Âge :
Service demandeur Department	}	Date de la demande Request date	}
Numéro du patient Patient's number	}		
Analyse demandée Test required	}		
Renseignements cliniques / diagnostic Clinical notes / diagnosis	}		

**Verso**

**Résultats / Results**

Malaria :

BK / TB / Ziehl :

Gram :

HGB / HCT :

GB / WBC :

GR / RBC :

Ex. de selles }  
Stool test }

Exemple de fiche individuelle d'enregistrement

## **Utilisation de la trousse HIVSPOT 1+2**

**(ex-Dupont /HIVCHECK 1 + 2)**

### **Trousse pour 100 tests**

Les deux dénominations correspondent au même test chez des distributeurs différents. Le HIVSPOT est le moins cher.

Ce test nécessite du sérum ou plasma (lire à la fin ce texte).

### ***Prix 1994***

1 kit de 100 tests HIVSPOT: 2100 francs ht. soit 21 F /test

1 kit de 100 tests HIVCHECK: 3200 francs ht. soit 32 F /test

Le prix est dégressif en fonction du nombre commandé.

### **Principe du test et contenu du kit**

#### ***Principe***

Le principe combine une réaction immunoenzymatique et une méthode de filtration sur membrane (ELIFA: Enzym Linked Immuno filtration Assay).

Ce test est individuel, rapide (10 min) et simple.

Il dépiste les anticorps des virus HIV1 et HIV2 du RIDA, c'est-à-dire qu'il détecte les anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2 et ne les différencie pas (test indifférencié).

#### ***Contenu***

Tous les constituants sont identifiés par l'étiquette, collée sur chaque flacon ou sachets, et traduite en 4 langues:

- 5 sachets protecteurs de *20 tests unitaires (savonnettes)*, à usage, unique
- 1 sachet protecteur de 12 petits tubes à bouchon bleu de *conjugué (protéine A)* et *chromogène* (réactif)
- 1 flacon *lyophilisé* pour le contrôle *négatif* (réactif)
- 1 flacon *lyophilisé* pour le contrôle *faiblement positif* (réactif)
- 1 flacon *lyophilisé* pour le contrôle *fortement positif* (réactif)
- 5 flacons de *tampon lyophilisé* (solution tamponnée)
- 5 ampoules plastique prédosées de 10 ml de *diluant pour tampon*
- 1 flacon de 50 ml de *solution de lavage*
- sachets de 100 *petites pipettes* (compte-gouttes à usage unique)
- sachets de 60 *grandes pipettes* (compte-gouttes)
- 2 *pipettes de 1 ml* pour reconstitutions (calibrée)

### **But des contrôles dans un kit biologique**

#### ***Viabilité en continu***

Les contrôles ont pour but de vérifier la viabilité des réactifs biologiques à tous moments, pendant toute l'utilisation du kit.

Il faut effectuer au moins un contrôle positif et un contrôle négatif chaque semaine .

#### ***Vérification en cas de problèmes***

Si des problèmes de conservation, des doutes sur les résultats ou des dates de péremptions dépassées adviennent, effectuer au moins un contrôle fortement ou faiblement positif et un négatif pour chaque test ou série effectuée.



*Sinon, jeter le kit.*

### **Conservation - Péréemption**

Les pipettes, compte-gouttes et diluant pour tampon restent hors chaîne de froid.

Les réactifs lyophilisés (poudre) ne sont pas fragiles et ont des impératifs de conservation moins stricts que les réactifs reconstitués (liquide).

### ***Péréemption***

Indiquée sur chaque flacon elle concerne chaque réactifs de sa fabrication jusqu'à son utilisation complète. Elle indique la marge dans laquelle les réactifs, conservés dans les conditions optimales, restent viables (réagissent).

La plus grande marge est d'un an. Mais, si le kit est acheté 6 mois après sa fabrication, il ne reste que six mois (voir détails plus bas).

### ***Réactifs non reconstitués (lyophilisés)***

Les différents réactifs lyophilisés ont des **dates de péréemption différentes** indiquées sur chaque flacon, la péréemption sur le flacon concerne le réactif **non reconstitué**.

Pour les réactifs reconstitués voir en page 82. Ils se conservent au froid de + 4°C à + 8°C.

Ils ne sont pas utilisables au-delà de leur date de péréemption sauf si un contrôle positif (faible ou fort) et un négatif sont effectués pour chaque série ou test.

Les périodes passées à une température supérieure à + 8°C doivent être considérées comme accidentelles même si les réactifs sont stables **au moins 6 mois à + 25°C**. Au-delà de cette température, la trousse n'a pas été testée.

Surtout, la trousse ne conserve pas la mémoire des éventuelles péripéties qu'elle aurait subies jusqu'à sa destination finale!

Ne pas congeler la trousse.

### ***Réactifs reconstitués***

**...dans les marges respectives non périmé**

Les tampons, contrôles, solution de lavage sont stables au moins **6 mois à + 4°C à + 8°C** et **3 mois à 25°C**

Le conjugué chromogène est stable **2 mois à + 4°C à + 8°C** et seulement **5 jours à 25°C**

Le fractionnement du réactif conjugué lyophilisé en 12 petits tubes, permet donc une reconstitution progressive. En cas de problème sur un tube reconstitué, l'incinérer et reconstituer un autre tube

### ***Préparation des réactifs (reconstitution)***

1 - Noter toujours la date des reconstitutions dans un registre prévu à cet effet.

2 - Prendre connaissance du contenu de la trousse . Repérer en alignant dans l'ordre les différents flacons, les 3 types de pipettes, les réactifs à reconstituer (flacons lyophilisés, diluants et solution de lavage).

3 - Les réactifs à reconstituer au départ sont:

- les 3 contrôles: 3 flacons
- le tampon :1 flacon
- le conjugué chromogène :1 tube

### **Suivre le schéma préparation des réactifs pour la reconstitution**

#### ***Mode d'emploi***

(voir les dessins ci-après et/ou le feuillet explicatif en texte du fournisseur dans chaque kit)

Remarques:

La manipulation nécessite une bonne exposition à la lumière. On doit voir le liquide en train d'être absorbé.

Respecter bien les grands compte-gouttes pour les réactifs et les petits pour le sérum et/ou les contrôles.

Utiliser la pipette et le compte-gouttes en position verticale

Si dans la première étape du protocole, la savonnette met plus de 90 secondes à s'imprégner, le test unitaire est probablement défectueux ou

l'échantillon mal décongelé. Répéter le test avec une autre savonnette.

### ***Résultats Spot ou pas Spot***

Un résultat fortement positif est indiqué par un **spot nettement rouge**.

Un résultat faiblement positif est indiqué par un **spot rose**.

Un résultat négatif par une **absence de spot** (la membrane reste blanche).

Tout sérum positif (fort ou faible) doit être répété (avec un autre test unitaire) et un contrôle positif et négatif effectués.

### ***Confirmation des résultats***

Pour le dépistage du virus HIV dans un programme de transfusion, quelque soit la prévalence, l'OMS ne recommande qu'un seul test de dépistage.

La confirmation n'est pas demandée puisque le résultat n'est pas donné (dépistage).

Si le but est de porter un diagnostic (différent du dépistage), alors un résultat positif avec ce test doit être confirmé par un ELISA classique et/ou un test plus spécifique. (voir les programmes respectifs nationaux).

### **Prévention des risques de contamination**

- prélever d'une façon aseptique avec du matériel stérile et usage unique
- porter des gants.
- se munir de désinfectant pour nettoyer les surfaces utilisées
- avoir une poubelle dont le contenu ira directement à l'incinérateur (veiller à l'incinération des déchets)
- éviter les projections.
- centrifuger pour séparation sang-sérum avec les tubes fermés (bouchon) et centrifugeuse protégée de couvercle.

## Prélèvements et conservation des échantillons

### *Prélèvement*

- Si le prélèvement sert uniquement pour le test HIVSPOT une ou deux gouttes de sérum seront suffisantes préparer comme suit:

- Prélever un minimum de 2 ml de sang total dans un tube sec.

Pour recueillir le sérum:

- soit, laisser décanter le sérum et en introduisant une pipette dans le tube détacher le caillot du sérum (peut prendre du temps en urgence)

- soit centrifuger le tube de sang.(cela demande au moins une centrifugeuse manuelle)

- Si le prélèvement sert également pour le groupage différé et d'autres examens 5 ml de sang total sur anticoagulant (EDTA ou Héparine ou Citrate) sera nécessaire:

- laisser ensuite décanter le plasma (30 min) ou centrifuger comme ci-dessus pour le test HIV.

### *Conservation*

Le sérum ou plasma doit être conservé plus de un jour le prélèvement s'effectuera obligatoirement sur **tubes stériles**.

Dans le cas contraire les tubes doivent être très propres et sans poussières.

Les sérums/plasma peuvent être conservés:

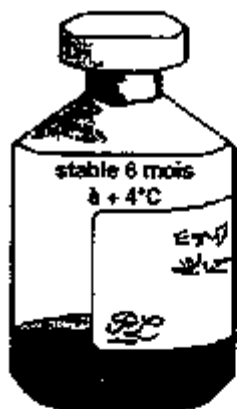
- maximum un mois entre + 4°C et + 8°C (température stricte),
- ou des mois au congélateur à < - 20°C (température stricte).

*Éviter les congélations et décongélations répétées.*

Si les sérums/plasma ont été réfrigérés, les sortir à température ambiante 10 min avant le test

Tout échantillon mal décongelé ne sera pas absorbé par la membrane.

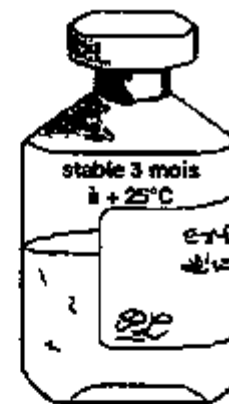
**Les trois contrôles**



Contrôles :

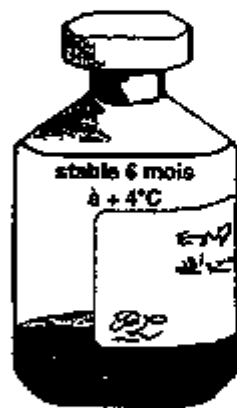
- positif faible
- positif fort
- négatif

+ 1 ml de solution de lavage =



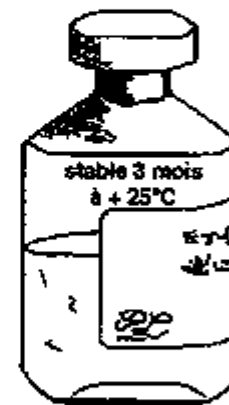
Contrôles reconstitués\*

**Le tampon**



Tampon lyophilisé

+ diluant =



Tampon reconstitué\*

**Conjugué colloïdal**








stable 6 mois



stable 2 mois

Préparation des réactifs Hivcheck ou Hivspot 1 + 2

1 <sup>e</sup> étape	3 gouttes	Tampon reconstitué	grand compte-gouttes
		Absorption ↓	
2 <sup>e</sup> étape	1 goutte	Échantillon ou contrôle	petit compte-gouttes
		Absorption ↓	
3 <sup>e</sup> étape	2 gouttes	Tampon reconstitué	grand compte-gouttes
		Absorption ↓	
4 <sup>e</sup> étape	2 gouttes	Solution de lavage	grand compte-gouttes
		Absorption ↓	
5 <sup>e</sup> étape	2 gouttes	Conjugué (or colloïdal)	grand compte-gouttes
		Absorption ↓	
6 <sup>e</sup> étape	3 gouttes	Solution de lavage	grand compte-gouttes
			△

Mode d'emploi - Hivcheck 1 + 2, Hivspot 1 + 2

## **Slidex méningite kit**

### ***Rappel du principe***

Le principe se base sur une réaction d'agglutination à l'aide de particules de latex sensibilisées avec des anti-sérums spécifiques. Ces sérums tests permettent donc la mise en évidence (ou pas) des antigènes solubles que certaines bactéries libèrent dans le LCR.

### ***Recommandations sur son utilisation***

#### **Conservation-péremption**

Les réactifs au latex sont très fragiles et doivent **toujours** se conserver au frigo entre + 2°C et + 8°C.

Toute période passée à température > + 8°C diminue d'autant la date de péremption qui garantie la "fiabilité" et la "viabilité" du test.

Il faut alors impérativement effectuer un **contrôle** positif et négatif (voir ci-dessous)

"fiabilité": sensibilité et spécificité.  
"viabilités" péremption des réactifs.

#### **Chauffage-centrifugation (facultatif)**

##### ***Intérêt du chauffage (flamme):***

À 100°C environ les bactéries sont "décapées" et libèrent complètement leurs antigènes de paroi (polyosidiques/solubles) qui réagiront avec l'un des sérums-tests correspondants.

Le chauffage permettra de détecter plus d'antigène soluble qu'à froid.

**La sensibilité sera meilleure.**

##### ***Intérêt de la centrifugation (manuelle ou autre), indissociable du chauffage:***



Toutes les particules (bactéries) susceptibles d'interférer dans la réaction (antigène + latex + anticorps) seront centrifugées et donc dissociées du reste.

### **La spécificité s'avère meilleure.**

Il faut donc savoir qu'en l'absence de chauffage et de centrifugation la sensibilité et la spécificité diminuent.

Faire son possible pour **avoir** à sa disposition une **source de chaleur** suffisante (flamme) et une centrifugeuse effectuant au minimum 2000 tours/min.

### **Contrôles positif et négatif**

Le kit est pourvu d'un contrôle positif

Le chlorure de sodium pour le contrôle négatif est indépendant Se le procurer.

Ils permettent de tester la "viabilité" du test avant la fin de péremption si:

- Une exposition à température  $> + 8^{\circ}\text{C}$  n'a pu être évitée.
- Une agglutination pas franche se présente.

Ils permettent de tester le kit après l'expiration de la date de péremption si:

- Une agglutination pas franche se présente, cela vous permet de vérifier que le test n'est effectivement plus bon, ou au contraire qu'il peut encore s'utiliser.

On comprend qu'après l'expiration de la date, le contrôle sera effectué systématiquement pour chaque série de tests. (Une série correspondra au nombre de tests que vous effectuerez dans un court laps de temps, une heure, 1/2 journée.)

Si vous ne connaissez pas les conditions dans lesquelles le kit a été transporté, effectuez un contrôle au début de la première série, pas avant.

### **Interprétation de l'agglutination**

RÉSULTAT POSITIF SANS AUCUN DOUTE

- L'agglutination est nette, franche et rapide pour une seule espèce.

## RÉSULTAT INDÉTERMINÉ

- L'agglutination est au contraire pas nette, fine et/ou pour plusieurs espèces.

Si vous n'avez ni chauffé ni centrifugé, il faut le faire.

Sinon, recommencer en respectant les quantités indiquées par le protocole technique du fabricant. Vos gouttes de réactifs ou de LCR sont trop petites ou trop grandes.

Cela peut arriver si le LCR est prélevé très précocement, dans ce cas il sera clair ou légèrement trouble au lieu de purulent.

### **Dans tous les cas, essayez de confirmer votre résultat avec un Gram**

COCCI GRAM + diplocoque PNEUMOCOQUE (*Streptococcus Pneumoniae*)

COCCI GRAM - diplocoque MENINGOCOQUE (*Neisseria Méningitidis* A, B, C)

BACILES GRAM - HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Assurez-vous que le laboratoire qui les effectue est fiable, une mauvaise coloration du Gram infirmerait votre test Slidex.

Un simple bleu de méthylène peut vous renseigner sur la morphologie des bactéries.

Pour les détails techniques, reportez-vous au mode d'emploi inclus dans le kit.

### **Transport du LCR**

Plusieurs théories s'affrontent. En pratique:

- le LCR se transporte à température ambiante proche de 20 à 30°C, avec le prélèvement en tube **stérile** pour de courtes périodes (heures).

- l'idéal est de le transporter à - 20°C mais ces conditions sont rarement réunies sur le terrain.

Avec le Slidex méningite Kit, on peut effectuer un diagnostic rétrospectif même si les bactéries ne sont plus viables puisque les réactifs permettent la mise en évidence des exoantigènes encore présent dans le LCR.

Dans tous les cas de transport long, hors des frontières s'informer précisément des conditions à remplir. Le risque infectieux reste très important et des

milieux spécifiques doivent être utilisés.

Compléter ces informations par le guide "Conduite à tenir en cas d'épidémie de méningite"

### **Méthode d'évaluation**

Deux aspects doivent être dissociés lors de l'évaluation.

1 La série de manipulations successives qui constituent la première partie d'une analyse purement technique, prélèvement compris.

2 La lecture quelle qu'elle soit, au microscope, sur une échelle graduée...

### ***But***

Dans une situation donnée, le but sera d'évaluer précisément la fiabilité globale des résultats sortant du laboratoire, sur les techniques principalement effectuées.

La fiabilité est représentée par la sensibilité diagnostique de l'ensemble des techniciens travaillant au laboratoire.

### ***Méthode***

Pour cela définir:

- La liste des techniques principales à évaluer.
- Le nombre de techniciens concernés par l'évaluation, c'est-à-dire qui effectuent au moins une des techniques évaluées.
- Le nombre de lames de référence nécessaire qui seront lues par les techniciens. Un total de 50 à 60 est le minimum. Ces lames se répartissent en deux catégories. Les positives ou/et anormales, et les négatives ou/et normales. Donner la définition de la positivité, de la normalité, de la négativité, de l'anormalité.
- Le nombre de fois qu'une même technique devra être répétée pour être évaluée.

Par exemple, si trois techniciens la connaissent et la pratiquent, chacun l'effectueront 4 à 5 fois. Définir également dans quel cas la technique sera considérée "satisfaisante" ou "non satisfaisante" (semi-qualitatif)\*.

\* Cette méthode peut être remplacée par une mesure plus quantitative comme les check-lists utilisées pour l'évaluation en formation. Un minimum de 5 notes (%) par technicien et par technique est requis (voir fin du chapitre).

- Approximativement, le temps nécessaire pour l'évaluation. La répartir sur plusieurs jours, afin d'avoir le nombre minimum voulu de lames lues et de techniques effectuées.

Essayer de se placer le plus possible dans la situation habituelle, tel que le laboratoire fonctionne quotidiennement. Le temps de lecture des lames par exemple ne doit pas être rallongé ou raccourci pour l'évaluation.

### ***Problèmes pratiques qui peuvent se poser***

- L'évaluation a été demandée par quelqu'un d'extérieur au laboratoire ou même extérieur à la structure locale, il se peut qu'elle ne soit pas acceptée. Une présentation de son but et des conséquences que cela implique doit être discutée et présentée auparavant avec les responsables.

- Si les lames de référence ne sont pas disponibles, les lames des techniciens effectuées chaque jour peuvent servir, mais les lire complètement par la suite. Dans ce cas là, on peut s'attendre à avoir des lames ininterprétables. En tenir compte dans la définition des + ou-...

La qualité du matériel et des réactifs n'est pas à négliger. En tenir compte. Par exemple, un microscope trouble à l'objectif à immersion constituera un biais important dans les résultats de tuberculose et de paludisme...

### ***Expression du résultat/Exemple***

#### **DONNÉES INITIALES**

- Technique de Ziehl et frottis /goutte épaisse = 3 techniques.

- Nombre de techniciens effectuant au moins une de ces techniques = 4.

- Lames + = présence de BK ou Plasmodium (tout stade) avec nom d'espèce et/ou cellules anormales. Nombre = 30.

- Lames - = absence de BK ou Plasmodium et/ou cellules normales. Nombre = 30.

- Total lames lues = 60

- Technicien no 1 a lu 20 lames

- Technicien no 2 a lu 25 lames différentes du premier
  - Technicien no 3 a lu 13 lames différentes des deux premiers
  - Technicien no 4 a lu 2 lames différentes des trois premiers
- Résultats individuels enregistrés.

Total techniques évaluées = 36

Chaque technicien a effectué trois fois la technique de Ziehl et trois fois le frottis et goutte épaisse.

Résultats individuels enregistrés.

### RÉSULTAT FINAL DES LAMES RÉFÉRENCÉES

	Lames référence	
Techniciens	Lames +	Lames -
Lecture +	(a) 25	(b) 15
Lecture -	(c) 5	(d) 15
Total	(a + c) 30	(b + d) 30

$$a = c \geq 10$$

$$\text{Sensibilité} : \frac{a}{a + c} = \text{pourcentage}$$

$$b = d \geq 10$$

$$\text{Spécificité} : \frac{d}{b + d} = \text{pourcentage}$$

$$\text{- Sensibilité} = 25 : 30 = 83,33\%$$

Elle montre la proportion des lames de référence positives et les lames réellement lues positives par les techniciens.

- Spécificité =  $15:30 = 50\%$

Elle montre la proportion des lames de référence négatives et les lames réellement lues négatives par les techniciens.

### RÉSULTAT FINAL DES TECHNIQUES

	Satisfaisant	Non satisfaisant
4 techniciens	25	11

Fiabilité =  $25:36 = 70\%$

Pour finir, on évalue la fiabilité globale en effectuant la moyenne de la sensibilité de la lecture des lames et la fiabilité des techniques:  $(83 + 70):2 = 71,5\%$

Auparavant, on peut déterminer comme objectif d'atteindre au moins les 80% de fiabilité globale et décider ainsi la fin d'un programme de formation précis

### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS - ANALYSE

<80%	Fiabilité <b>globale</b> insuffisante Les résultats détaillés permettent de cibler la formation ou le recyclage à entreprendre <b>En lecture</b> : faux négatifs, faux positifs <b>En technique</b> : techniques insatisfaisantes ou notées moyennement (50%)
=80%	Fiabilité globale minimum suffisante, mais un suivi quotidien reste nécessaire pour améliorer les derniers points faibles (en général ce sont les résultats faussement négatifs) Par expérience on constate que 80% de fiabilité ne permet pas à un laboratoire de garder l'acquis durablement (moins de 6 mois)
>80%	Fiabilité globale suffisante Laboratoire à suivre sur des périodes échelonnées (tous les 6 mois). Cibler les évaluations uniquement sur les éventuels faux négatifs

100% Fiabilité idéale, mais rare Très souvent constatée programme dits "verticaux" comme la malaria ou la trypanosomiase, où peu de techniques différentes s'effectuent La sensibilité de lecture est très élevée et le réflexe technique est acquis durablement.

Si une évaluation de ce type s'effectue dans un laboratoire qui tourne tout seul depuis plusieurs mois, voire années, il est intéressant de repérer les thèmes à aborder lors d'une formation ultérieure. L'évaluation permet ainsi de cibler les besoins pour une formation complémentaire adéquate.

### ÉVALUATIONS EFFECTUÉES EN MISSIONS MSF

Guinée Conakry - Mozambique - Soudan - Ouganda - Laos - Cambodge - Thaïlande.

#### *Check-list*

<b>Frottis sanguin - Goutte épaisse</b>		
Préparation d'une lame propre, dégraissée	0	1
Prélèvement aseptique de sang capillaire	pe*	2
Étalement correct du sang en frottis	pe	2
Étalement correct du sang en goutte épaisse	pe	2
Temps de séchage des 2 prélèvements suffisant	0	2
Fixation du frottis par méthanol	pe	2
Dilution extemporanée du Giemsa	0	2 facultatif
Pas de fixation de la goutte épaisse	0	2
Utilisation réactif(s) en bon ordre (RAL)	pe	2 facultatif
Respect du temps	pe	2
Temps lecture suffisant	pe	2
Résultat, report précis sur papier	pe	2
Signature ou cachet du labo et date	0	2
<b>Résultat</b>		<b>/22</b>
	<b>ou</b>	<b>%</b>

\* pe = point éliminatoire, étape essentielle

**Fiche de supervision**

Laboratoire:

Mois:

Année:

Éléments à superviser		Critères de supervision	Bien	Assez bien	Insuffisant
Enregistrement	Registre et/ou Cahier de paillasse	Recueil des données du patient			
		Inscription de la date du jour			
		Transcription exacte des résultats sur le carnet ou la feuille du patient			
		Report des patients: registre central s'il existe			
		Recueil des données du malade			
		Inscription des résultats d'analyse			
Fiabilité de résultats	Prélèvement	Qualité de l'asepsie			
		Quantités respectées			
		Numérotations des examens			
		Qualité du prélèvement			
		Qualité d'une lame/lamelle d'un étalement (GE, frottis...) d'une coloration			
		Lecture	Bonne utilisation du microscope		
	Technique de lecture				
	Interprétation de la coloration				
	Résultat	Précision dans l'inscription			
		Justesse dans la transcription			



		Délai respecté surtout les urgences prises en compte			
Fonction <sup>t</sup>	Consommation Matériel/ Réactifs	Tenue du cahier de préparation / consommation ou des fiches de stock			
		Corrélation Consommation /Activité			
	Stockage	Paramètres de stockage			
		Gestion des dates de péremption			
Entretien	Matériel	Protection (acide, sang...)			
		Nettoyage de la verrerie			
		Nettoyage du microscope			
	Laboratoire	Propreté des paillasses			
		Propreté du sol			
		Destruction produits pathologiques			
	Protection	Port de gants (manipulation sang, acide)			
		Lavage des mains (manip. sang, acide)			
		Pipetage (manipulation sang, acide)			
Statistique	Fiabilité	Enregistrement correct des données			
	Ponctualité	Réalisation avant... ... le 3 <sup>e</sup> jour du mois suivant			

Commentaires:

Date:	Signature: du responsable du laboratoire	Signature du supervisor

## Références

## Bibliographie

### 1. AGRÉGÉS DU PHARO

Techniques élémentaires pour médecins isolés  
Edition Maloine

2. BOURDÉRIOUX C.

Guide pratique du laboratoire de médecine tropicale  
Edition Doin

3. CHEESBROUGH

Medical laboratory manual for tropical country (vol. 1 & 2)  
Edition EL/BC

4. GENTILINI M., DUFEB B.

Médecine tropicale  
Edition Flammarion, médecine science

5. GOLVAN Y.J.

Nouvelles techniques en parasitologie  
Edition Flammarion

6. KING M.

A medical laboratory for developing countries  
Oxford Medical Publications

7. Misereor

Guide de la tuberculose pour les pays à haute prévalence  
UIC. 1986

8. OMS

Techniques de base pour le laboratoire médical  
OMS, Genève

9. OMS

Planches diagnostic pour le paludisme (français - anglais - espagnol)  
OMS, Genève

10. OMS 1983

Manuel pour la lutte contre la trypanosomiase

11. OMS 1986

La Trypanosomiase africaine: épidémiologie et lutte.

12. OMS 1991

Basic Laboratory Methods in Medical Parasitology

13. OMS 1992

Guide de sécurité biologique pour les laboratoires d'analyse et de recherche VIH

14. RETROVIL TESTING 1992

Essentials for Quality Control and Laboratory Diagnosis  
Niel T. - Constantine /C.R.C.

15. TOMAN K. - Tuberculosis

Case Finding and Chemotherapy  
WMO - UICT 1979

16. SIBOULET A.

Maladies sexuellement transmissibles  
Edition Masson

17. UICT 1978

Bulletin de l'Union internationale contre la tuberculose

**Coordonnées fournisseurs**

1. BIOBLOCK PARIS

BP 27 F-92173 Vanves Cédex - France  
Téléphone: 46.44.46.46 / 88.67.14.14. - Télécopie: 46.38.33.74 - Télex: 890 436

2. BIOLYON

6, route de Poissy - BP 13 F-69570 Dardilly - France  
Téléphone: 78.35.17.31 - Télex: 370 741

3. BIOSERVICE

51, rue Tremière - BP 83 F-59652 Villeneuve-d'Ascq - France  
Téléphone: 48.65.64.03 - Télécopie: 48.65.07.57 Télex: 133 452

4. COMPUR ÉLECTR W.E.P.P.

Avenue Pacifique - Zone Courtabœuf F-91952 Les Ulis Cédex - France  
Téléphone: 69.82.94.94 - Télex: 681 088

5. FLOW LABORATOIRE

6, route de Poissy - BP 13 F-69570 Dardilly - France  
Téléphone: 78.35.17.31 - Télex: 370 741

6. F.M.M.

7. GILSON LABORATOIRE

72, rue Gambetta - BP 43 F-95400 Villiers le Bel - France  
Téléphone: 39.90.54.41 - Télex: 39.94.51.83

8. IDA

B.P. 3098 NL-1003 AB Amsterdam - Pays-Bas

9. INSTITUT DE MÉDECINE TROPICALE (IMT)

Laboratory of Serology - Nationalstraat 155 B-2000 Anvers - Belgique

10. LABINSTRUMENT

1, rue des coutures - Marne-la-Vallée F-77200 Torcy - France  
Téléphone: 60.17.7766 - Télex: 692 678 F

11. LABSYSTEME

Avenue Québec - BP 137 F-91944 Ulis - France  
Téléphone: 69.0797.50 - Télécopie: 69.07.38.78 - Télex: 690 012 F

12. MEYRIEUX (BIO)

Maray l'Etoile F-69752 Charbonnières-les-Bains - France  
Téléphone: 78.87.81.10 / 78.57.20.04 - Télex: 330 967

13. MERCK - CLEVENOT

Département diagnostic - 10 bis, rue du Docteur Gabriel Ledernau  
F-92310 Sèvres - France  
Téléphone: 45.07.10.30 - Télécopie: 45.07.00.72 - Télex: 631 700

14. OSI

141, rue de Javel - 75739 Paris Cédex 15 - France  
Tél.: 45.54.97.31

15. PASTEUR DIAGNOSTIC - SANOFI

1, boulevard Raymond-Poincaré - BP 10 F-92430 Marne-la-Coquette France  
Tél.: 0.41.79.33 - Télex :206 464

16. POLYLABO

39, Avenue d'Iéna F- 75783 Paris Cédex 16 - France  
Téléphone: 47.20.36.36

17. PROCHILAB

18. PROLABO65, bld. Richard Lenoir F-75011 Paris - France Tél.: 43.55.4488

19. RAL / RHONE-POULENC SANTÉ

BP 29 F-60870 Rieux - France  
Téléphone: 44.71.15.57 - Télécopie: 44.74.05.97 - Télex: 155 051

20. REMI

108, boulevard Stalingrad - BP 7 F-94400 Vitry - France  
Téléphone: 46.71.44.85

21. ROYAL TROPICAL INSTITUT - AMSTERDAM

University of Amsterdam - Hollande

22. SARSTEDT

8, rue Ampère - Z.I. Dultelekein - BP 19 - 67120 Molsheim - France  
Téléphone: 88.38.74.00 / 46.70.74.20 - Télex: 206 576

**Coordonnées MSF**

<b>Sections</b>		
<b>BELGIQUE BUREAU INTERNATIONAL</b>	<b>Médecins Sans Frontières</b> 209, Boulevard Léopold II 1080 Bruxelles	tél: (32) 2-426 55 52 [abr 7948] fax: (32) 2-426 75 35 [abr. 7970]
<b>BELGIQUE</b>	Médecins Sans Frontières 24, rue Deschampheler 1080 Bruxelles	tél.: (32) 2-414 03 00 [abr. 7840] Ur.: (32) 2-41418 97 [abr. 7841] fax: (32) 2-41182 60 [abr. 7950]
<b>ESPAGNE</b>	Médcicos Sin Fronteras Avenida Portal del Angel, nº 1, 1 08002 Barcelona	tél.: (34) 3-412 52 52 [abr. 7843] Ur.: (34) 3-9081185 fax: (34) 3-302 28 89 [abr. 7952]
	Médcicos Sin Fronteras (Opérations) Via Laytana 30, Principal 08003 Barcelona	tél: (34) 3-268 33 22 [abr. 7870] fax: (34) 3-268 44 25 [abr. 7876]
<b>FRANCE</b>	Médecins Sans Frontières 8, rue Saint-Sabin 75554 Paris Cedex 11	tél.: (33)1-40 2129 29 Ur.: (33)1-48 06 26 87 fax: (33)1-48 06 68 68
<b>GRECE</b>	Giatri Horis Synora 11 A, rue Paioniou 104 40 Athènes	tél.: (30)1-883 53 34 [abr. 7844] fax: (30)1-882 99 88 [abr. 7953]
<b>HOLLANDE</b>	Artsen Zonder Grenzen Max Euweplein 40 - P.O. Box 10014 1001 EA Amsterdam	tél.: (31) 20-520 87 00 [abr. 7845] Ur.: (31) 20-620 5172 [abr. 7846] fax: (31) 20-620 5170 [abr. 7954]
<b>LUXEMBOURG</b>	Médecins Sans Frontières 70, route de Luxembourg L-7240 Bereldage Boîte postale 30 - L-7201 Walferdange	tél.: (35) 2-33 2515 [abr. 7847] fax: (35) 2-33 51 33 [abr. 7956]
<b>SUISSE</b>	Médecins Sans Frontières 1, clos de la Fonderie 1227 Carouage /Genève	tél.: (41) 22-300 44 45 [abr 7848] Ur.: (41) 22-300 4413 [abr. 7877] fax: (41) 22-300 4414 [abr. 7957]
<b>Bases logistiques</b>		

<b>BELGIQUE</b>	Transfer 28, rue Deschampeleer 1080 Bruxelles	Tél.: (32) 2-414 09 00 [abr. 7821] Ur.: (32) 2-425 0317 fax: (32) 2-414 07 07 [abr 7951]
<b>FRANCE</b>	Médecins Sans Frontières 14, avenue de l'Argonne 33700 Bordeaux /Mérignac	tél.: (33) 5613 73 73 [abr. 7373] Ur.: (33) 56 47 91 00 [abr 7999] fax: (33) 5613 73 74 [abr. 7374]
<b>ALLEMAGNE</b>	Artze Ohne grenzen Adenauerhallee 50 D-53113 Bonn	tél: (49) 228 91 46 70 [abr. 7898] fax: (49) 228 9146 711 [abr. 7899]
<b>AUSTRALIE</b>	Médecins Sans Frontières 31 Renny Street Paddington Sydney, NSW 2021	tél: (61) 2-360 26 26 [abr 7812] fax: (61) 2-33152 03 [abr 7873]
	Courrier: 24 Angus Avenue Epping, NSW 2121	
<b>CANADA</b>	Médecins Sans Frontières 51 Front St. East, 2nd floor Toronto, Ontario M5E 1B3	tél.: (1) 416 366 67 02 [abr 7842] fax: (1) 416 366 94 25 [abr 7871]
	Médecins Sans Frontières P.O. Box 55106 - 240 SParks St. Ottawa, Ontario K1P 1A1	tél.: (1) 819 827 02 69 [abr 7834] fax: (1) 819 827 48 28 [abr. 7836]
<b>DANEMARK</b>	Médecins Sans Frontières Stanvejen 1712900 Hellerup	tél.: (45) 3162 63 01 [abr. 7837] fax: (45) 39 4014 92 [abr 7838]
<b>HONG-KONG</b>	Médecins Sans Frontières Caldecott Road, 45 B/10 Kow Loon, Hong Kong	tél.: (852) 708 9129 fax: (852) 708 39 60
<b>JAPON</b>	Médecins Sans Frontières Takadanobaba 3-8-27 Shinjuku-ku, Tokyo 169	tél (813) 33 66 85 71 [abr 7875] Ur: (813) 33 66 8610 fax: (813) 33 66 85 73 [abr 7874]
<b>ITALIE</b>	Médecins Sans Frontières	tél.: (39) 6 57 300 901 [abr. 7835]



	Via Ostiense 6/E 00154 Roma	fax (39) 6 57 300 902 [abr. 7830]
<b>ROYAUME UNI</b>	Médecins Sans Frontières 3/4 Street Andrews Hill EC4V 5BY London	tél.: (4) 71329 69 39 fax: (44) 71329 69 36 [abr. 7872]
<b>SUEDE</b>	Médecins Sans Frontières Vulxanusgatan 8 S-113 21 Stockholm	tél. (46) 8-310217 [abr. 7996] fax: (46) 8-3142 90 [abr. 7997]
<b>SUISSE</b> Bureau de liaison	Robert Muller 14b, rue des Cordiers 1207 Genève	tél: (41) 22 786 4719 [abr. 7878] fax: (41) 22 786 47 05 [abr. 7889]
<b>USA</b>	Médecins Sans Frontières 30 Rockefeller Plaza, Suite 5425 New York, NY 10112	tél.: (1) 212 786 59 61 [abr. 7849] fax: (1) 212 246 85 77 [abr. 7958]
	Médecins Sans Frontières 1800 Century PARK East -13th floor Los Angeles, CA 90067	tél.: (1) 310 772 00 50 fax: (1) 310 772 00 51
<b>Antennes</b>	<b>régionales</b>	
<b>ALSACE-LORRAINE</b> responsable: M Wydra	10, place du Temple Neuf 67000 Strasbourg	tél: (33) 88 75 76 96 [abr. 7866] fax: (33) 88 75 77 21 [abr. 7801]
<b>AQUITAINE</b> responsable: G. Gross	73, avenue d'Arès 33000 Bordeaux	tél: (33) 56 98 30 83 [abr. 7864] fax: (33) 56 24 65 63 [abr. 7965]
<b>AUVERGNE</b> responsable: G. Gross	30, rue Gabriel-Péri (centre Champgil) 63000 Clermont-Ferrand	tél.: (33) 73 3747 78 [abr 7855] fax: (33) 73 36 34 23 [abr. 7822]
<b>BRETAGNE</b> responsable: J-Y. Guillo	5, Rue du Pré Perché 35000 Rennes	tél: (33) 99 30 28 28 [abr. 7860] fax (33) 99 65 51 81 [abr. 7962]
<b>CENTRE-POITOU CHARENTE</b> responsable: P. Mercat	10, avenue du Général De Gaulle 37550 Saint-Avertin	tél: (33) 47 27 20 27 [abr. 7863] fax: (33) 47 27 85 04 [abr. 7964]
<b>CHAMPAGNE</b> responsable: M. C. Noblet Lier	2, boulevard Vasco De Gama 51100 Reims	tél.: (33) 26 05 80 05 [abr. 7859] fax: (33) 26 49 82 36 [abr. 7976]
<b>CORSE</b>	2, rue de la Barrière	tél.: (33) 95 5122 61 [abr. 7814]

responsable: S. Stefanaggi	20000 Ajaccio	
<b>LANGUEDOC-ROUSSILLON</b> responsable: P. Cabanel	12, rue Charles Amans 34000 Montpellier	tél.: (33) 67 58 61 56 [abr. 7803] fax: (33) 67 44 13 85 [abr. 7804]
<b>MÉDITERRANÉE</b> responsable: J-P. Belmondo	3, traverse du Portugal 13010 Marseille	tél: (33) 91 80 00 70 [abr. 7858] fax: (33) 91 79 45 99 [abr. 7961]
<b>MIDI-PYRÉNÉES</b> responsable: G. Fanjaud	Péniche Clémence Isaure Port Saint-Sauveur 31500 Toulouse	tél.: (33) 61 80 64 70 [abr. 7862] fax: (33) 6154 19 51 [abr. 7963]
<b>PAS DE CALAIS-PICARDIE</b> responsable: G. Poulain	3 bis, résidence Sylvère Verhulst Place Léonard de Vinci 59000 Lille	tél.: (33) 20 60 00 50 [abr. 7856] fax (33) 20 96 34 60 [abr. 7963]
<b>RHONE ALPES</b> responsable: N Dugoud	5, rue des Remparts d'Ainay 69002 Lyon	tél.: (33) 78 42 86 50 [abr. 7857] fax: (33) 72 419146 [abr. 7960]

Ce guide s'adresse aux techniciens de laboratoire chargés de l'installation d'un laboratoire ou du fonctionnement d'un laboratoire existant, en situation d'isolement et souvent en pays tropicaux.

Il ne s'agit pas d'un guide technique mais d'une sélection de techniques expérimentées sur le terrain et qui se sont révélées être parmi le plus simples et le mieux réalisables.

Il va de soi que dans ce type de laboratoires tropicaux, il faut savoir s'adapter aux moyens disponibles pour la thérapeutique, ainsi qu'aux contraintes logistiques et techniques, d'où l'importance de mettre en place des examens essentiels.

Il faut savoir enfin que moins un laboratoire est compliqué, plus il a de chances de survivre à celui qui l'a mis en route.

[\*Version texte\*](#)